



UNIVERSIDAD DE BURGOS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

FACULTAD DE CIENCIAS

**Perilenodiimidias extendidas: Síntesis,
aplicaciones en bioimagen y preparación de
sensores supramoleculares**

TESIS DOCTORAL

Daisy Carolina Romero Velásquez

2018



UNIVERSIDAD DE BURGOS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FACULTAD DE CIENCIAS

D. Tomás Torroba Pérez, Catedrático del Área de Química Orgánica del Departamento de Química de la Universidad de Burgos,

Certifica:

Que el trabajo de investigación aquí presentado: **“Perilenodiimidias extendidas: Síntesis, aplicaciones en bioimagen y preparación de sensores supramoleculares”** por la licenciada D^{ña} Daisy Carolina Romero Velásquez para aspirar al título de Doctor en Química por la Universidad de Burgos, ha sido realizado bajo su dirección y autoriza la presentación como Tesis Doctoral.

Burgos a 9 de Abril de 2018.

Fdo: Tomás Torroba Pérez

*“A la estrella que ilumina mi vida con solo una sonrisa,
Margareth”*

AGRADECIMIENTOS

A Jehová Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de esta etapa, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi director de tesis, Tomás Torroba, por haberme dado la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación durante estos años. Quisiera darle las gracias por su esfuerzo, dedicación, paciencia y total disponibilidad para ayudarme en cualquier momento. Gran parte de lo aprendido durante estos años se lo debo a él, por contagiarme su gran pasión por la Química Supramolecular.

A el programa Erasmus Mundus, SUD-UE lot 14, por haberme permitido tener el financiamiento para vivir esta experiencia en otro continente y enamorarme de su cultura.

A todos mis compañeros de trabajo, con los que he compartido esta experiencia maravillosa, gracias por estar siempre dispuestos a echarme una mano siempre que lo he necesitado. A Patricia Calvo y José García, por ayudarme a dar mis primeros pasos en la química supramolecular, gracias por todos sus consejos, paciencia, enseñanzas, y por intentar resolver todas mis dudas siempre con buen ánimo. Al resto de mis compañeros de laboratorio: Víctor, Clara, Nerea, Miriam, Marcos, Münü, Sergio, Andrea, Elsa, Pablo, Israel, Sandra, Marcin por las jornadas de trabajo compartidas y por hacerlas más llevaderas. Además, he de dar las gracias en especial a Alberto Diez por su dedicación en los últimos meses a la espectrometría de masas y AFM de mi tesis.

Al equipo de I+D+i de la Universidad de Burgos: Jacinto, Pilar y Marta, por su gran efectividad y profesionalidad en el trabajo. Gracias por su ayuda, colaboración y buena disposición siempre que la he necesitado, también, al equipo de I+D+i de la Universidad de Valladolid.

A mi esposo y amigo, Ernesto, su apoyo ha sido fundamental en aquellos momentos en el que el estudio y el trabajo ocuparon mi tiempo y esfuerzo. Gracias por tu ayuda, buena disposición y ánimo. Tú y mi niña son lo más importante en mi vida y con tu apoyo he podido conseguir las metas que me he ido proponiendo.

A mis padres, hermanos, cuñados y suegros que desde la distancia siempre han tenido una palabra de aliento y apoyo incondicional en las decisiones que he tomado.

A todas aquellas personas que aunque no las mencione por nombre han contribuido de alguna manera al desarrollo de la presente tesis.

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Absorbancia
Å	Angstrom, 10^{-10} m
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CDI	Coroneno diimida
d	Doblete
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano
dd	Doble Doblete
1,2-DCE	1,2-dicloroetano
DCM	Diclorometano
DCTB	<i>trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> -Butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitrile
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DIT	Ditranol o antralina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMPA	2,2-Dimetoxo-2-fenilacetofenona
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometría de Masas
Eq	Equivalente
EtOH	Etanol
Et ₂ O	Éter Dietílico
FRET	Transferencia De Energía De Resonancia De Förster
GAC	Grupo atractor de electrones
HCCA	<i>alpha</i> -Cyano-4-hydroxycinnamic acid
HOMO	Orbital Molecular Ocupado De Mayor Energía
Hz	Hercios
I	Intensidad de Fluorescencia

IR	Infrarrojo
ISC	Intersystem crossing
J	Constante De Acoplamiento
LED	Diodo Emisor De Luz
LUMO	Orbital Molecular Desocupado De Menor Energía
m	Multiplete
MCPB	Acido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
MeCN	Acetonitrilo
MCH	Metilciclohexano
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
NEt ₃	Trietilamina
NMP	<i>N</i> -Metilpirrolidona
OFET	Transistores orgánicos de efecto campo
OPV	Células fotovoltaicas orgánicas
PDA	Perileno dianhídrido
PDI	Perilenodiimida
PET	Transferencia Electrónica Fotoinducida
PhCl	Chlorobenzeno
PyBOP	Benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino fosforico hexafluorofosfato
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
TFA	Trifluoracético
s	Singlete
t	Triplete
UV	Ultravioleta

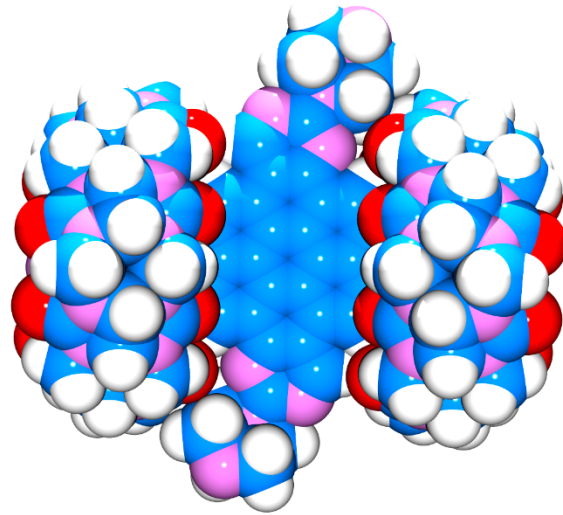
Vis	Visible
ϵ	Coeficiente de Extinción Molar
ϕ	Rendimiento Cuántico
τ	Tiempo de vida media
λ	Longitud de onda
	Técnicas
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
FT-IR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
NOESY	Nuclear Overhauser Spectroscopy
^1H RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
^{13}C RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono
^{19}F RMN	Resonancia magnética nuclear de flúor
TOF	Time-of-Flight

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
ABSORCIÓN DE LA LUZ.....	3
NATURALEZA DE LOS ESTADOS EXCITADOS	5
Relajación Vibracional	8
Conversión Interna: No Radiativa (Radiationless).....	8
Fluorescencia	8
Cruzamiento Intersistemas (Intersystem Crossing).....	8
Transferencia de la Energía de Excitación sin Radiación	9
Apagamiento Colisional (Collisional Quenching).....	9
Transferencia No Colisional.....	9
CARACTERÍSTICAS Y PARÁMETROS DE LA FLUORESCENCIA	10
Espectro de Fluorescencia	10
Rendimiento Cuántico (Quantum Yield)	10
Tiempo de Vida de Radiación (Lifetime).....	11
FLUORÓFOROS.....	11
Perilenodiimida	12
ANTECEDENTES DEL GRUPO EN EL CAMPO DE LOS SENSORES QUÍMICOS ³⁷	
La investigación actual en el entorno del proyecto SNIFFER FP7-SEC-2012-312411:.....	40
La investigación actual del grupo en el entorno de proyectos nacionales:.....	45
OBJETIVOS.....	48
1.- Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidias sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el marcado de células.	48
2.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de su asociación.	48
3.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.	48
CAPÍTULO 1.....	51
DESARROLLO DE NUEVOS MÉTODOS DE SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS SUSTITUIDAS EN POSICIONES BAHÍA ALTAMENTE FLUORESCENTES PARA EL MARCADO DE CÉLULAS.	51
INTRODUCCIÓN	53
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	60
Diseño y síntesis de derivados de PDI simétricas	60
Optimización de las condiciones de reacción.....	61
Caracterización de los compuestos.....	63

Diseño y síntesis de PDI simétricas orientadas al estudio de células.	69
Caracterización de los compuestos DR19 y DR22.....	70
Propiedades ópticas de las PDIs simétricas.....	71
Diseño y síntesis de PDI disimétricas.....	76
Caracterización de las PDI disimétricas	78
Propiedades ópticas de las PDI disimétricas.....	80
Pruebas en células	89
CONCLUSIONES.....	91
CAPÍTULO 2.....	93
DISEÑO Y SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS EXPANDIDAS EN EL SISTEMA CONJUGADO π DE LA POSICIÓN BAHÍA Y ESTUDIO DE ASOCIACIÓN.....	93
INTRODUCCIÓN	95
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	99
Diseño y síntesis del sistema expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.....	99
Caracterización de los compuestos con sistema expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.	101
Propiedades ópticas de la PDI disustituidas con sistema expandido π en posición bahía.....	104
Estudios de asociación	110
Diseño y síntesis de PDIs con sistema expandido π partiendo de un derivado monosustituido en posición bahía de la PDI.....	112
Caracterización de los compuestos monosustituidos con sistema expandido π en posición bahía del PDI.....	113
Propiedades ópticas de las PDI monosustituidas con sistema expandido π	114
Estudios de asociación	117
CONCLUSIONES.....	119
CAPÍTULO 3.....	121
DISEÑO Y SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS EXPANDIDAS EN EL SISTEMA CONJUGADO π DE LA POSICIÓN BAHÍA SOLUBLES EN AGUA.....	121
INTRODUCCIÓN	123
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	127
Diseño y síntesis de un sistema expandido π en posición bahía de derivados de PDI solubles en agua.....	127
Caracterización de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.	130
Propiedades ópticas de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.	134
Estudios de asociación	147

Ensamblaje supramolecular con CB[07].....	151
Detección de explosivos (TNB y TNT).....	162
Pruebas en células	164
Estudios frente a ADN quadruplex	166
CONCLUSIONES.....	168
CONCLUSIONES	171
1.- Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidias sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el marcado de células.	173
2.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de su asociación.	173
3.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.	175
SUPPLEMENTARY INFORMATION.	177
CHAPTER I.	183
SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES.....	183
Chapter I: “ <i>Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidias sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el marcado de células</i> ”.	185
CHAPTER II.	269
SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES.....	269
Chapter II: “ <i>Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de asociación.</i> ”	271
CHAPTER III.	317
SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES.....	317
Chapter III: “ <i>Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.</i> ”	319



INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La luz es una forma de radiación electromagnética, usualmente, una mezcla de ondas con diferentes longitudes. La longitud de onda (λ) es la distancia entre dos crestas de una onda. Las unidades utilizadas son nanómetros. Dependiendo de la longitud de onda nuestros ojos perciben un color diferente, si es que ésta se encuentra en el rango visible, este incluye aproximadamente las longitudes de onda que van de 400 nm hasta 750 nm¹ (Figura 1).

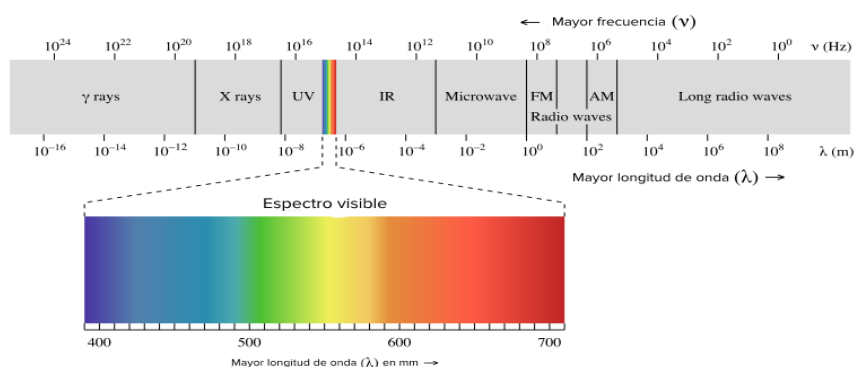


Figura 1. Región visible del espectro electromagnético.

ABSORCIÓN DE LA LUZ

La luz de ciertas longitudes de onda puede ser selectivamente absorbida por una sustancia de acuerdo a su estructura molecular. La absorción de la energía de la luz ocurre cuando un fotón incidente promueve la transición de un electrón de un estado de menor a mayor energía. Los electrones excitados, eventualmente, pierden esta energía ganada y por un proceso de radiación regresan a su estado inicial.

La radiación emitida por una molécula, o un átomo, después de que ha absorbido energía para colocarse en un estado excitado, es convenientemente definida como luminiscencia. Ésta se divide formalmente en dos categorías, fluorescencia y fosforescencia, dependiendo de la naturaleza del estado excitado (Figura 2).

¹ Wald, G. *Science* **1945**, 101 (2635), 653–658.

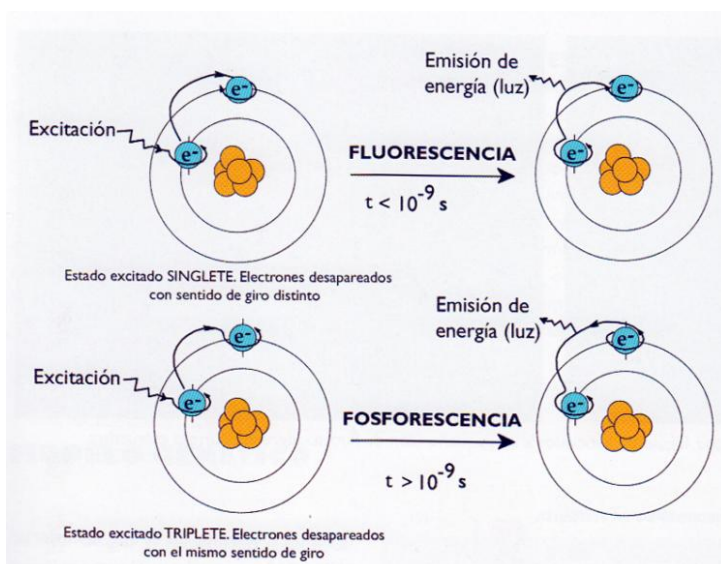


Figura 2. Modelo de emisión de la fluorescencia y fosforescencia en la fluorita.

La absorbancia se suele representar frente a la longitud de onda utilizada para obtener el espectro correspondiente que indica cuáles son las probabilidades de que un fotón de cierta longitud de onda sea absorbido. La siguiente ecuación muestra la fórmula que se usa para la representación de los espectros de absorbancia conocida como ley de Lambert-Beer.

$$A = \epsilon l C$$

Ecuación 1. Ley de Lambert-Beer. A es la absorbancia, ϵ es el coeficiente de extinción molar que depende de la longitud de onda utilizada, l es la longitud del camino óptico de la cubeta y C es la concentración.

En la ecuación anterior se puede comprobar que hay una relación lineal entre la absorbancia A y el coeficiente de extinción molar ϵ , la concentración C del compuesto y la longitud de la cubeta llamado camino óptico. La absorbancia también se puede definir como el logaritmo negativo de la transmitancia T, la cual es el cociente entre la intensidad final I y la inicial I_0 antes de atravesar la muestra, como se muestra en la ecuación 2 y la figura 3.

$$A = -\log(T) = -\log \frac{I}{I_0}$$

Ecuación 2. Definición de la absorbancia.

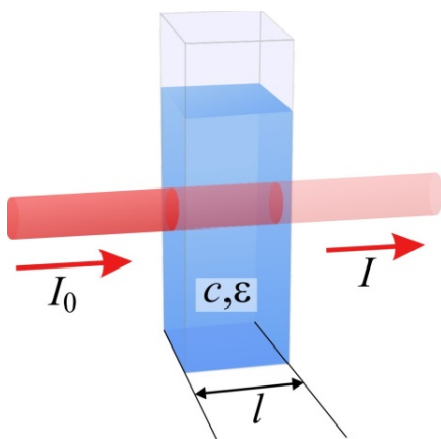


Figura 3. Absorción de un rayo de luz incidente a través de una cubeta por parte de la muestra.

La ley de Lambert-Beer sólo se cumple cuando se usa una única longitud de onda ya que ϵ depende de ésta, debiendo elegir la longitud de onda del máximo de absorbancia para cometer el menor error y para concentraciones bajas, ya que a medida que aumenta la concentración se dan fenómenos de agregación de moléculas, dispersión de la luz y otros efectos.²

NATURALEZA DE LOS ESTADOS EXCITADOS

La forma en que una molécula absorbe radiación electromagnética es por medio de un proceso mecánico-cuántico, donde una molécula pasa de un estado basal a un estado excitado. La energía del fotón de luz absorbido corresponde a la diferencia de energía entre los dos estados. En la luz del ultravioleta y el espectro visible (200-800 nm) corresponden energías de 143 a 35.8 kcal \times mol⁻¹. En los átomos la absorción involucra la promoción de un electrón de una capa orbital externa hacia un orbital vacío de mayor energía. En moléculas, un electrón es promovido del mayor orbital molecular ocupado (HOMO, *highest occupied molecular orbital*), al menor orbital molecular desocupado (LUMO, *lowest unoccupied molecular orbital*). Cuando un electrón en una molécula es movido de un orbital a otro cambia el estado de la molécula y entonces es importante considerar los estados de la molécula involucrados en lugar de considerar solamente los orbitales involucrados en la promoción del electrón.

² (a) Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. *Analytical Chemistry: An Introduction*, 7th Ed. **1999**, Brooks Cole. (b) Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th Ed. **2003**, Brooks Cole.

Una molécula en un estado excitado está mejor descrita como una nueva entidad, solo remotamente relacionada a la misma molécula en estado basal. Un estado excitado tendrá una distribución electrónica completamente diferente del estado basal, una nueva geometría, y más que eso, podrá reaccionar químicamente de forma diferente del estado basal.

Existe sólo un estado basal para una molécula dada. Sin embargo, hay diversos estados excitados posibles aún para moléculas muy simples, y la naturaleza exacta de los cuales depende de los tipos de orbitales involucrados. Los estados electrónicos de las moléculas electrónicas se pueden agrupar en dos grandes categorías: estado singlete y estado triplete.

En los estados excitados singlete, un electrón en un orbital excitado está apareado (spin opuesto) a un segundo electrón en un orbital en el estado basal, dicho de otra forma, todos los electrones en la molécula tienen sus spins apareados. En consecuencia, el regreso al estado basal es “permitido” por el spin y ocurre rápidamente por emisión de un fotón. Este es el caso de la fluorescencia, y las velocidades de emisión de ésta son típicamente de 10^8 s^{-1} , por lo que la vida media de la fluorescencia es cercana a 10 ns.

Los estados excitados triplete son aquellos en los cuales un par de electrones tienen sus spins desapareados, esto es, el electrón en el orbital excitado tiene la misma orientación que un electrón en el estado basal. La fosforescencia es la emisión de luz del estado excitado triplete. La transición al estado basal es impedido y las velocidades de emisión son lentas ($10^3 - 10^0 \text{ s}^{-1}$), tal que la vida media de la fosforescencia es típicamente de milisegundos a segundos. Para su mayor comprensión es utilizado el diagrama de Jablonski. (Figura 4)

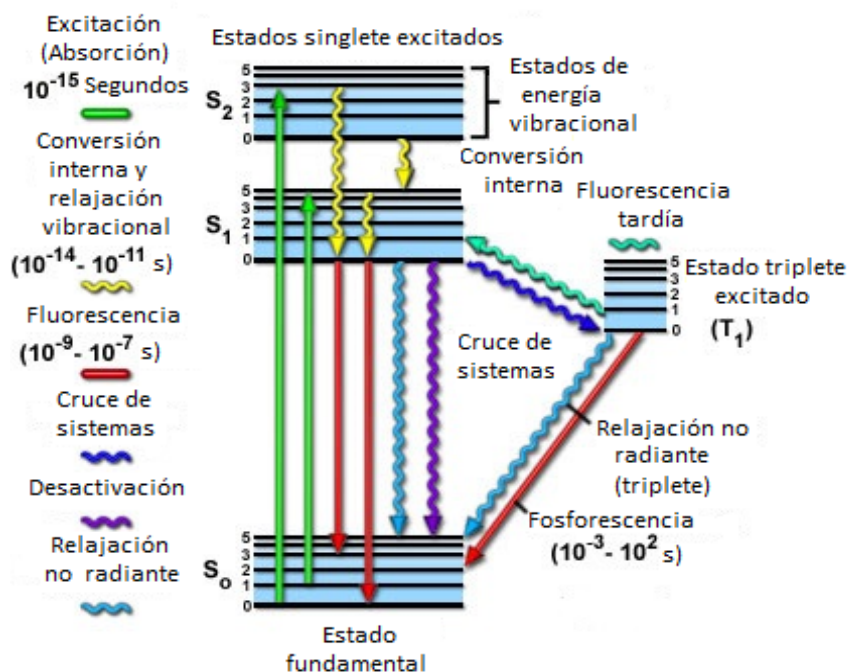


Figura 4. Diagrama de Jablonski.

Los estados S son los estados singletes la multiplicidad de espín es 1. Mientras que los estados T son aquellos que se llaman estados triplete la multiplicidad de espín es 3. Las transiciones no radiantes, que no producen luminiscencia, se indican mediante flechas onduladas, y las radiantes son las que se indican con flechas rectas. Los estados vibracionales se indican con los distintos números del 0 al 5.

Cuando se produce el fenómeno de absorción, el electrón pasa del estado fundamental S_0 a uno de mayor energía S_1, S_2, \dots . Al retorno del electrón excitado al estado fundamental mediante una transición radiante entre estados electrónicos de la misma multiplicidad se le denomina fluorescencia. La fluorescencia ocurre desde el estado excitado de menor energía (regla de Kasha).³ A continuación se describen los diferentes procesos de desactivación del estado excitado:

³ McNaught, A. D. , Wilkinson, A. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, 2nd Ed. (the "Gold Book"), 1997. Blackwell Scientific Publications

Relajación Vibracional

En solución, la relajación termal de una molécula excitada vibracionalmente es muy rápida a través de la transferencia del exceso de energía vibracional de la molécula soluto al solvente. Este proceso es tan eficiente que, no solo uno o dos cuantos de energía vibracional se pierden, sino todo el exceso de energía vibracional del estado excitado, en 10^{-13} a 10^{-11} s. Esto significa que antes de que una molécula excitada en solución pueda emitir un fotón, sufrirá una relajación vibracional y por lo tanto la emisión del fotón ocurrirá siempre a partir del nivel vibracional más bajo de un estado excitado.

Conversión Interna: No Radiativa (Radiationless)

Se pueden encontrar procesos no radiativos por los cuales las moléculas en un estado excitado singlete pueden regresar al estado basal sin la emisión de un fotón, convirtiendo toda la energía de excitación en calor. A éstos se llama conversión interna.

De forma general, la energía de separación entre estados excitados singlete en moléculas aromáticas es más pequeña que la separación entre el estado S_1 , y el estado basal, S_0 . Esto significa que el nivel vibracional 0 de S_2 , por ejemplo, se solapara con los niveles vibracionales más altos de S_1 . Esta situación da lugar a un alto grado de acoplamiento entre los niveles vibracionales, de tal manera que la molécula sufre una conversión interna del estado S_2 al nivel vibracional más bajo del estado S_1 .

Fluorescencia

Una vez que una molécula llega al nivel vibracional más bajo de un estado excitado singlete $S_1(0)$ puede sufrir un proceso que es motivo de interés, es decir que regrese a uno de varios niveles de energía vibracionales/rotacionales del estado S_0 por la emisión de un fotón de luz que corresponde a la diferencia de energía entre el estado excitado S_1 , nivel vibracional 0, y un nivel vibracional particular de S_0 .

Cruzamiento Intersistemas (Intersystem Crossing)

Existe un proceso muy eficiente para poblar estados triplete partiendo del estado excitado singlete en muchas moléculas. Este proceso es referido como cruzamiento intersistemas, y es un proceso de conversión interna

dependiente de spin. Ocurre cuando uno de los electrones sufre una inversión de su spin de + a – o viceversa. Esto resulta en un estado electrónico de menor energía (los electrones solos en diferentes orbitales prefieren tener spines paralelos) con una multiplicidad $M = 3$, con la que se designa al estado triplete, T1.

Transferencia de la Energía de Excitación sin Radiación

El estado excitado inicial puede ser un estado excitado singlete mayor o un nivel vibracional del estado excitado singlete más bajo. Ya que la conversión interna ocurre hacia el nivel vibracional más bajo del estado S_1 en aproximadamente 10^{-13} a 10^{-11} s. En el nivel vibracional más bajo del estado excitado singlete una molécula tiene un tiempo de vida aproximado de 10^{-8} s, por lo que la transferencia de energía puede ocurrir por mecanismos “colisionales” o no.

Apagamiento Colisional (Collisional Quenching).

El apagamiento colisional es un proceso bimolecular dependiente del “contacto” entre la molécula excitada y el apagador (*quencher*). Es un proceso de difusión controlada que requiere que el tiempo de vida del estado excitado sea mayor de 10^{-9} s. Básicamente hay dos mecanismos por los cuales la pérdida “colisional” de la energía de excitación puede ocurrir: intensificación del cruzamiento intersistemas por el apagador, o transferencia de electrones. Una gran variedad de moléculas pueden actuar como apagadores colisionales, que incluyen oxígeno, halógenos, aminas y moléculas deficientes de electrones como acrilamida. El mecanismo de apagamiento varía con el par fluoróforo-apagador.

Transferencia No Colisional.

Otro proceso importante que ocurre en el estado excitado es la transferencia de energía por resonancia (RET). La transferencia de energía que ocurre a través de distancias más grandes que la distancia de colisión molecular es llamada transferencia de energía no colisional. El proceso ocurre cuando el espectro de emisión de un fluoróforo se solapa con el espectro de absorción de un aceptor (Figura 5). El aceptor no necesariamente es fluorescente. RET no involucra la emisión de luz por el donador, esto es, no es el resultado de la emisión del donador siendo absorbida por el aceptor. No hay un fotón intermediario en RET. El donador y el aceptor están acoplados por una

interacción dipolo-dipolo. Por esta razón el término RET es preferido al término de transferencia de energía por resonancia fluorescente (FRET), que también es muy común.

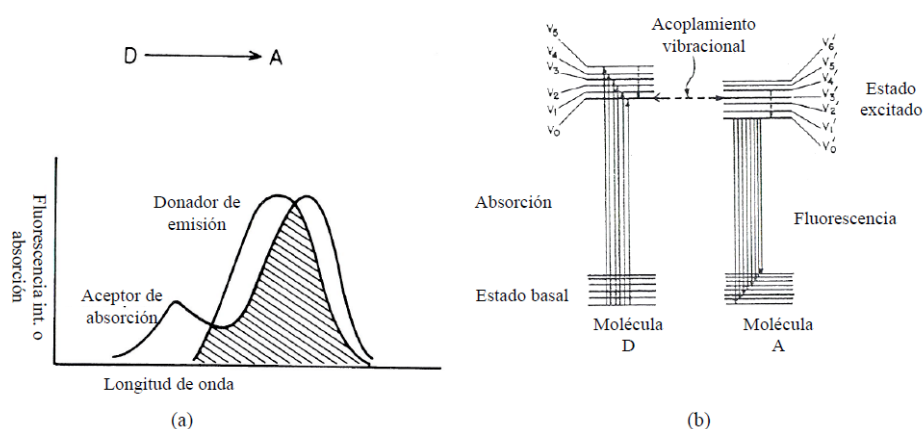


Figura 5. (a) Solapamiento espectral de FRET, (b) Mecanismo de transferencia de energía no colisional.

CARACTERÍSTICAS Y PARÁMETROS DE LA FLUORESCENCIA

Espectro de Fluorescencia

La luz emitida por una molécula a partir de su estado excitado singlete en su nivel vibracional más bajo, $S_1(0)$, corresponde a la diferencia de energía de éste con un nivel vibracional de S_0 . Habrá un espectro de energía de los fotones que fluorescen en donde la longitud de onda (wavelength) corresponde a la transición radiativa de $S_1(0)$ a $S_0(0)$. Esta es la transición de energía más grande y es la diferencia de energía entre estos dos estados. En λ_{MAX} , la longitud de onda corresponde a la intensidad de fluorescencia más alta, la transición de $S_1(0)$ a $S_0(0)$ representa la transición radiativa más probable entre estos dos estados.

Rendimiento Cuántico (Quantum Yield)

El tiempo de vida de la fluorescencia y el rendimiento cuántico son probablemente las características más importantes de los fluoróforos. El rendimiento cuántico se define como la fracción de las moléculas excitadas que fluorescen, que relaciona fotones emitidos en relación con los fotones absorbidos. El valor de este cociente se encuentra entre 0 y 1 y se representa con la siguiente ecuación.

$$\Phi = \frac{k_r}{k_r + k_{nr}}$$

Ecuación 3. Ecuación del rendimiento cuántico.

Donde k_r es la constante de velocidad para la relajación por vía radiante que puede ser fluorescencia o fosforescencia, y k_{nr} es la constante de velocidad para la relajación por vía no radiante que engloba todas las desactivaciones tales como la conversión interna, cruce de sistemas y demás desactivaciones intra o intermoleculares que no emiten luz.

Tiempo de Vida de Radiación (Lifetime)

El tiempo de vida medio se puede definir como el tiempo promedio que permanece la molécula en el estado excitado antes de producirse la relajación. Este se puede expresar de la siguiente forma como muestra la ecuación 4.

$$\tau = \frac{1}{k_r + k_{nr}}$$

Ecuación 4. Tiempo de vida media.

Las constantes son las mismas que para el caso del rendimiento cuántico. Otra manera de expresar el tiempo de vida media con el que calcularlo experimentalmente se muestra en la siguiente ecuación.

$$I = I_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$$

Ecuación 5. Expresión para calcular tiempos de vida media experimentalmente.

La muestra se excita mediante un pulso de radiación electromagnética ultra rápida para lo que normalmente se utiliza un láser. Esto provoca que la fluorescencia llegue al máximo y entonces decaiga rápidamente hasta cero. Así se pueden encontrar fluoróforos de largos tiempos de vida y de cortos tiempos de vida.

FLUORÓFOROS

Recapitulando, los fluoróforos son moléculas fluorescentes que tienen un espectro de absorción y emisión bien definidos; existe una diferencia entre los

picos de absorción y emisión de un fluoróforo, llamado desplazamiento de Stokes; la intensidad de su fluorescencia emitida varía con la longitud de excitación, pero no varía la distribución de su espectro (Figura 6), entre ellos, encontramos a los derivados de ácido perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida (comúnmente llamados perilenodiimida y abreviado como PDI).

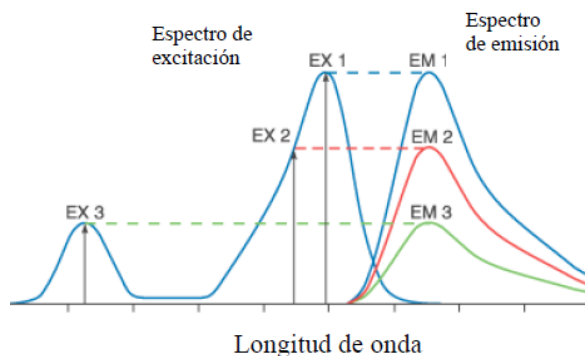


Figura 6. La excitación de un fluoróforo a tres diferentes longitudes de onda produce variaciones en la intensidad de emisión de fluorescencia.

Perilenodiimida

Los derivados de perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida (PDI) han sido ampliamente estudiados como colorantes (solubles) y pigmentos (insolubles). La Figura 7 muestra la estructura del dianhídrido de perileno-3,4,9,10-tetracarboxílico (PDA), que puede considerarse como el compuesto original de esta clase de colorantes y que se obtuvo primero a principios de 1910,⁴ y de un colorante PDI genérico, que indica la numeración de las diversas posiciones. Se han obtenido PDI con diferentes propiedades químicas y físicas por modificación de los sustituyentes, con mayor frecuencia aquellos en las posiciones N, N' de imida y las posiciones 1, 6, 7 y/o 12 del núcleo de hidrocarburo (denominada posiciones "bahía").

⁴ Kardos, M. German Patent, DE 276357, 1913.

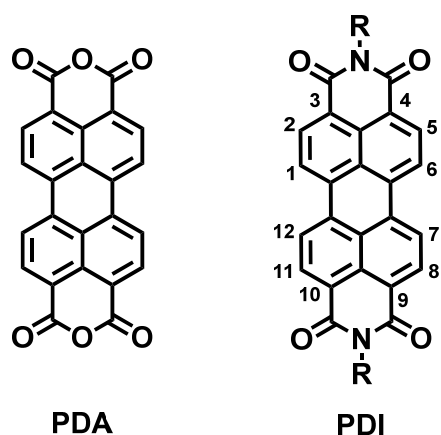


Figura 7. Estructura química de PDA y un PDI genérico (se muestra la numeración en el sistema de anillos).

Los derivados de PDI fueron utilizados exclusivamente, en un principio, como pigmentos industriales. Se formaron un grupo de pigmentos de alto rendimiento con tonos rojo a negro, dependiendo de los detalles finos de la estructura química que exhibieron una excelente estabilidad química, térmica y climática,⁵ además, las pinturas basadas en PDI generalmente muestran una buena estabilidad a la migración después del recubrimiento sobre plásticos. Por lo tanto, estos compuestos encontraron su camino hacia la producción y uso a escala industrial desde principios de los años 1950.⁶ Actualmente, los pigmentos basados en PDI se usan, predominantemente, en aplicaciones de fibras y en pinturas industriales de alto rendimiento, particularmente, en fibras de alfombras y en la industria del automóvil, donde su alto costo es compensado por la alta calidad y/o durabilidad de los colores.⁶ Sin embargo, además de su uso como pigmentos industriales, los PDI exhiben otras propiedades interesantes en solución como: rendimientos cuánticos de fluorescencia cercanos a la unidad, altos coeficientes de extinción, alta estabilidad fotoquímica y su capacidad como aceptor de electrones, que permiten que los PDI se utilicen en otras aplicaciones recientemente desarrolladas.⁷

⁵ Würthner, F. *Chem. Commun.* **2004**, 1564–1579.

⁶ Herbst, W., Hunger, K. *Industrial Organic Pigments*, 2nd completely reviseded; Wiley-VCH: Weinheim, 1997.

⁷ (a) Serin, J. M., Brousmiche, D. W., Frechet, J. M. J. *Chem. Commun.*, **2002**, 2605–2607. (b) Gronheid, R., Hofkens, J., Kohn, F., Weil, T., Reuther, E., Müllen, K., Schryver, F. C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2418–2419. (c) Jones, B. A., Facchetti, A., Wasielewski, M. R., Marks, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 15259–15278. (d) Weil, T., Wiesler, U. M., Herrmann, A.,

Durante la pasada década estos colorantes basados en PDI se estudian con vistas al diseño de monómeros que permiten la construcción de materiales por la vía de la química supramolecular.⁸ La razón viene dada por la combinación de propiedades favorables para su estudio fundamental, la utilidad de estos colorantes para una gran variedad de aplicaciones, además por la simplicidad para la construcción de bloques que permiten la formación de arquitecturas supramoleculares.⁹

Áreas de aplicación

Los sistemas basados en estos materiales supramoleculares están cimentados en estudios llevados a cabo mediante espectroscopia de fluorescencia molecular,¹⁰ energía fotoinducida,¹¹ procesos de transferencia de electrones¹² y más recientemente en la fotosíntesis artificial.¹³ Las aplicaciones comerciales de los derivados de PDI son como pigmentos y como colorantes fluorescentes que se basan, además de las propiedades ópticas, electrónicas y físicas, en la excelente fotoestabilidad de estos cromóforos. Por otra parte, los PDI han sido utilizados en diversas aplicaciones electrónicas y ópticas, tales como transistores orgánicos de efecto de campo (OFET)¹⁴ celdas solares

Bauer, R., Hofkens, J., Schryver, F. C. D., Müllen, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 8101–8108. (e) Ahrens, M. J., Fuller, M. J., Wasielewski, M. R. *Chem. Mater.* **2003**, 15, 2684–2686.

⁸ Würthner, F. *Chem. Commun.* **2004**, 1564–1579.

⁹ Würthner, F., Saha-Möller, C. R., Fimmel, F., Ogi, S., Leowanawat, P., Schmidt, D. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 962–1052.

¹⁰ Lang, E., Würthner, F., Köhler, J. *Chem Phys Chem*, **2005**, 6, 935–941. Yang, S. K., Shi, X., Park, S., Doganay, S., Ha, T., Zimmerman, S. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 9964–9967. Stöttinger, S., Hinze, G., Diezemann, G., Oesterling, I., Müllen, K., Basché, T. *Nat. Nanotechnol.* **2014**, 9, 182–186.

¹¹ (a) De Schryver, F. C., Vosch, T., Cotlet, M., van der Auweraer, M., Müllen, K., Hofkens, J. *Acc. Chem. Res.*, **2005**, 38, 514–522. (b) Serin, J. M., Brousmiche, D. W., Fréchet, J. M. *J. Chem. Commun.* **2002**, 2605–2607. (c) Ham, S., Yang, J., Schlosser, F., Würthner, F., Kim, D. *J. Phys. Chem. Lett.*, **2014**, 5, 2830–2835. (d) Hippius, C., Schlosser, F., Vysotsky, M. O., Böhmer, V. Würthner, F. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 3870–3871.

¹² (a) O'Neil, M. P., Niemczyk, M. P., Svec, W. A., Gosztola, D., Gaines, G. L., Wasielewski, M. R. *Science*, **1992**, 257, 63–65. (b) Blas-Ferrando, V. M., Ortiz, J., Ohkubo, K., Fukuzumi, S., Fernández-Lázaro, F., Sastre-Santos, Á. *Chem. Sci.*, **2014**, 5, 4785–4793.

¹³ (a) Wasielewski, M. R. *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42, 1910–1921. (b) Vagnini, M. T., Smeigh, A. L., Blakemore, J. D., Eaton, S. W., Schley, N. D., D'Souza, F., Crabtree, R. H., Brudvig, G. W.; Co, D. T., Wasielewski, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, 109, 15651–15656.

¹⁴ (a) Zhan, X., Tan, Z. A., Domercq, B., An, Z., Zhang, X., Barlow, S., Li, Y., Zhu, D., Kippelen, B., Marder, S. R. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 7246–7247. (b) Lindner, S. M., Kaufmann, N., Thelakkat, M. *Org. Electr.* **2007**, 8, 69–75. (c) Jones, B. A., Ahrens, M. J., Yoon, M.-H., Facchetti, A., Marks, T. J., Wasielewski, M. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 6363–6366. d)

fluorescentes,¹⁵ dispositivos electrofotográficos,¹⁶ láseres de colorantes,¹⁷ colectores de luz solar fluorescentes,¹⁸ sensores ópticos,¹⁹ células fotovoltaicas orgánicas (OPV),²⁰ limitadores de potencia óptica,²¹ y como sondas para biomacromoléculas (ADN, ARN, proteínas).²²

Considerando la excelente capacidad de transporte de electrones de los PDI y su intensa absorción de luz visible, en particular en la región visible característica del cuerpo negro, parece sorprendente que la utilización de los PDI en celdas orgánicas solares²³ se encuentre detrás de los fullerenos.²⁴ Si consideramos que la afinidad electrónica del núcleo sin sustituir del PDI es casi idéntica que la del fullereno C₆₀, desde el punto de vista electrónico estos dos materiales pueden ser combinables con los semiconductores de tipo p, proporcionando el mismo voltaje de circuito abierto, mientras que la corriente del cortocircuito debería aprovechar los protones absorbidos mejor por el PDI comparado con el fullereno. En efecto, la primera celda orgánica con un poder de eficiencia de conversión >1% fue descrita para un derivado del PDI. Consistía en un sistema formado por un electron-donador, cobre ftalocianina (CuPc), y un electron-aceptor perileno tetracaboхи bisbenzimidazol (PTCDI).²⁵ La combinación de materiales, uno que conduce y absorbe en la luz roja (CuPc) y otro que conduce y absorbe en la luz azul (derivado del PDI) continúa atrayendo a científicos durante más de tres décadas.²⁶ Por lo tanto, los PDI son materiales fascinantes, sin embargo, por exhibir baja solubilidad, son menos

Jimenez, A. J., Spanig, F., Rodríguez-Morgade, M. S., Cai, S., Fukuzumi, S., Guldi, D. M., Torres, T. *Org. Lett.* **2007**, 9, 2481–2484.

¹⁵ Gvishi, R., Reissfeld, R., Burshtein, Z. *Chem. Phys. Lett.* **1993**, 213, 338–344.

¹⁶ Law, K. Y. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 449–486.

¹⁷ Sadrai, M., Bird, G. R. *Opt. Commun.* **1984**, 51, 62–64.

¹⁸ Debije, M. G., Verbunt, P. P., *Adv. Energy Mater.* **2012**, 2, 12–35.

¹⁹ (a) Siekierzycka, J. R., Hippus, C., Würthner, F., Williams, R. M., Brouwer, A. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 1240–1242. (b) Feng, X., An, Y., Yao, Z., Li, C., Shi, G. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2012**, 4, 614–618.

²⁰ Schmidt-Mende, L., Fechtenkötter, A., Müllen, K., Moons, E., Friend, R. H., MacKenzie, J. D. *Science*, **2001**, 293, 1119–1122.

²¹ (a) Belfield, K. D., Bondar, M. V., Hernandez, F. E., Przhonska, F. E. *J. Phys. Chem.* **2008**, 112, 5618–5622. (b) Huang, C. Ph.D Thesis, Georgia Institute of Technology, 2010.

²² (a) Rossetti, L., Franceschin, M., Bianco, A., Ortaggi, G., Savino, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 2527–2533. (b) Malinovskii, V. L., Wenger, D., Häner, R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 410–422.

²³ Anthony, J. E. *Chem. Mater.* **2011**, 23, 583–590.

²⁴ Mishra, A., Bäuerle, P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, 51, 2020–2067.

²⁵ Tang, C. W. *Appl. Phys. Lett.* **1986**, 48, 183–185.

²⁶ (a) Peumans, P., Uchida, S., Forrest, S. R. *Nature* **2003**, 425, 158–162. (b) Sharenko, A., Proctor, C. M., van der Poll, T. S., Henson, Z. B., Nguyen, T.-Q.; Bazan, G. C. *Adv. Mater.* **2013**, 25, 4403–4406.

aplicados en solución, por lo que se requiere, en ocasiones, ser combinados con polímeros semiconductores.²⁷

Estructura de los PDI

La razón principal por la que los PDI presentan esta gama de aplicaciones está codificada en su estructura molecular: un núcleo aromático policíclico y dos grupos imida en las llamadas posiciones peri (3,4 y 9,10). La fuerte conjugación entre el núcleo de perileno (rico en electrones) y los grupos imida (aceptores de electrones) desplaza la banda de absorción UV / vis de perileno, de ~440 a ~525 nm, mientras que progresiones vibrónicas características del esqueleto aromático permanecen casi sin cambios por la doble imidación.

Una característica importante de este cromóforo es su imagen especular de fluorescencia con rendimiento cuántico (muy cerca de) la unidad. Estos altos rendimientos cuánticos de fluorescencia son observados para los PDI en todos los disolventes comunes, incluidos disolventes alifáticos, aromáticos, clorados y dipolares. La estabilidad de este colorante es atribuido al sistema π -conjugado, el cual es muy resistente a la degradación por oxidación y por otras vías de descomposición.

A pesar de que estos cromóforos presentan una disminución de la fluorescencia en disolventes próticos, y en particular en agua, estudios recientes con dendrones o con PDI de cadena lateral fuertemente cargados (para disminuir la agregación) han demostrado que incluso en el agua rendimientos de fluorescencia cuánticos de 0.9 son posibles para este cromóforo.²⁸ Esta importante propiedad se atribuye a que el núcleo es bastante rígido y plano, también el nivel de triplete muy bajo²⁹ (Figura 8), haciendo que el cruce entre sistemas $S_1 \rightarrow T_1$ (*Intersystem crossing*, ISC) sea lento y, en consecuencia, proceso improbable (rendimiento cuántico ISC <0.01%).²⁹ Los estudios electroquímicos sobre derivados de estos colorantes han demostrado que, de hecho, especies reducidas a radicales (anión y dianión), así como las especies oxidativas son muy estables bajo un ambiente inerte como el

²⁷ Günes, S., Neugebauer, H., Sariciftci, N. S. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 1324–1333.

²⁸ Rehm, S., Stepanenko, V., Zhang, X., Rehm, T. H., Würthner, F. *Chem. - Eur. J.* **2010**, 16, 3372–3382.

²⁹ Ford, W. E., Kamat, P. V. *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 6373–6380.

nitrógeno.³⁰ La alta estabilidad de los dianiones de PDI³¹ ya se había observado hace más de 80 años cuando se redujeron especies de PDI para ser solubles en agua y patentadas para teñir algodón.³² Sin embargo, en contraste con el índigo y otros tintes, el teñido textil nunca se convirtió en una aplicación importante para los colorantes PDI.

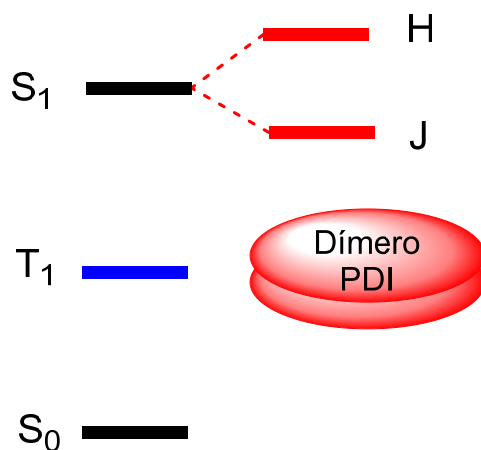


Figura 8. Diagrama simplificado de Jablonski que muestra los estados de energía de singlete y triplete de un cromóforo de PDI, incluido los estados acoplados H y J, además los desplazamientos π de los apilados de dímero agregados.

Los cálculos químico-cuánticos revelan que la oxidación y los procesos de reducción, así como la transición $S_0 \rightarrow S_1$ pueden ser interpretados de la manera más simple a partir de un electrón que se elimina del HOMO y / o una adición de electrones en el LUMO. En consecuencia, se observa un máximo de absorción de 527 nm (corresponde a 2.35 eV) (electroquímicamente la diferencia entre las ondas de oxidación y reducción es 2.19 eV).³³ De manera que la transición $S_0 \rightarrow S_1$ se puede atribuir a una transición HOMO \rightarrow LUMO que está polarizada a lo largo del eje molecular largo (Figura 9).

³⁰ Salbeck, J., Kunkely, H., Langhals, H., Saalfrank, R. W., Daub, J. *Chimia* **1989**, 43, 6–9.

³¹ (a) Shirman, E., Ustinov, A., Ben-Shitrit, N., Weissman, H., Iron, M. A., Cohen, R.; Rybtchinski, B. *J. Phys.Chem. B* **2008**, 112, 8855–8858. (b) Marcon, R. O., Brochsztain, S. *Langmuir* **2007**, 23, 11972–11976.

³² Schmidt, M. P., Neugebauer, W. Vat Dyes with Perylene Nucleus. U.S. Patent 1,715,430, **1929**.

³³ Lee, S. K., Zu, Y., Herrmann, A., Geerts, Y., Müllen, K., Bard, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3513–3520.

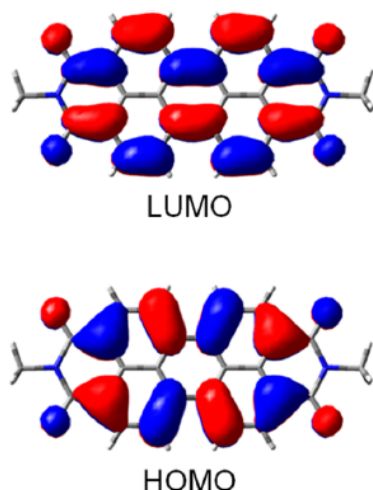


Figura 9. Ejemplo de Orbitales HOMO y LUMO para *N,N*-dimetil-PDI.

Estudio de la variación de las propiedades ópticas por sustitución en diferentes posiciones de las PDI.

Es evidente que el núcleo de perilenodiimida no está eléctricamente conectado a ningún sustituyente que influya sobre la posición del nitrógeno en la imida. Los sustituyentes en esta posición tienen una insignificante influencia en la propiedades físicas de los PDIs, pues se encuentran en una posición de baja energía de transición, por lo que es independiente el sustituyente localizado (alquil o aril) que se encuentra en la posición imida. Un ejemplo de ello fue un estudio realizado por Chen y *col* (2012)³⁴ en donde se describe una variación en el espectro de absorción UV/vis de solo 3 unidades en diclorometano (524-527nm) comparando un sustituyente alquil con un aril. El efecto del disolvente fue modesto, de 517 nm (solvente alifático) y 530 nm (cloroformo) para el sustituyente alquil, que puede ser atribuido a la polarización transitoria de las moléculas de disolvente (relacionado con el índice de refracción). Este carácter cerrado de las unidades cromofóricas es ideal para la utilización de estos cromóforos en arquitecturas supramoleculares multicromofóricas por lo significativo de las conexiones covalentes y no covalentes vía grupo imida.³⁵

³⁴ Chen, Z., Fimmel, B., Würthner, F. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 5845–5855.

³⁵ Würthner, F. *Pure Appl. Chem.* **2006**, 78, 2341–2349.

En las propiedades fluorescentes, los sustituyentes de grupo imida tienen un mayor impacto. Se ha demostrado que un sustituyente aromático rico en electrones como los alquilados y, en particular los grupos fenil alcoxi, presenta fluorescencia en disolventes de polaridad intermedia a alta por transferencia de electrones fotoinducida desde el sustituyente al grupo pobre en electrones del PDI.³⁶

Por otro lado, los sustituyentes en el núcleo tienen influencia en los potenciales redox y propiedades de absorción de estos colorantes. Esto abrió la posibilidad de ajustar las propiedades funcionales de los colorantes, mientras se mantenían las propiedades de autoensamblaje codificadas en las subunidades de los grupos imida. La fuerte modulación óptica y propiedades electrónicas de idénticas dimensiones solo son superadas por los homólogos más pequeños, las naftalenos diimidadas.³⁷ Würthner y *col* (2016)⁹ realizaron un resumen de los efectos en el potencial redox y absorción de algunos derivados que se muestran en la figura 10.

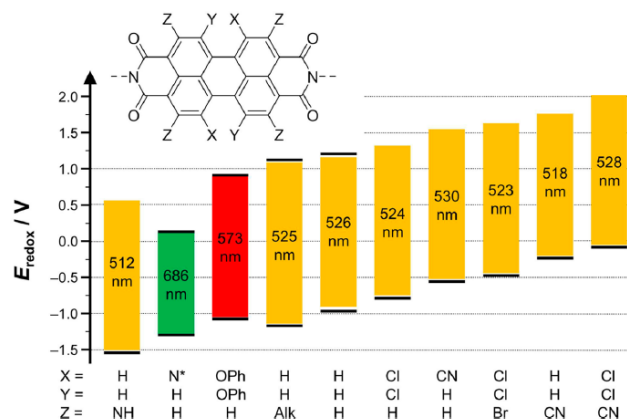


Figura 10. Impacto de varios sustituyentes en el núcleo sobre el potencial redox y propiedades ópticas de los colorantes de PDI (N* = pirrolidona; Alk = $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$).

Desplazamientos en el espectro de absorción

El desplazamiento batocrómico es un cambio de la posición de la banda espectral en la absorción, reflectancia, transmitancia o espectro de

³⁶ (a) Beckers, E. H. A., Meskers, S. C. J., Schenning, A. P. H. J., Chen, Z., Würthner, F., Janssen, R. A. J. *J. Phys. Chem. A* **2004**, 108, 6933–3937. (b) Hippus, C., van Stokkum, I. H. M., Zangrando, E.; Williams, R. M., Würthner, F. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 13988–13996.

³⁷ (a) Sakai, N., Mareda, J., Vauthey, E., Matile, S. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 4225–4237. (b) Suraru, S.-L., Würthner, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, 53, 7428–7448.

emisión de una molécula a una longitud de onda más larga (frecuencia más baja). En general la banda es más aguda con un aumento en el coeficiente de absorción. Esto puede ocurrir debido a un cambio en las condiciones de trabajo: por ejemplo, un cambio en la polaridad del disolvente dará como resultado un solvatocromismo. El solvatocromismo es la capacidad de una sustancia química de cambiar de color debido a un cambio en la polaridad del disolvente. El solvatocromismo negativo corresponde al cambio hipsocrómico, el solvatocromismo positivo corresponde al cambio batocrómico con polaridad creciente del disolvente.

El desplazamiento hipsocrómico se conoce a menudo como cambio al azul en fotoquímica, que es el fenómeno en el que la frecuencia de una onda electromagnética (como la luz) emitida por una fuente que se mueve hacia el observador se desplaza hacia el lado azul del espectro electromagnético (es decir, su longitud de onda disminuye o su energía aumenta, a menudo con ampliación de la banda de absorción y disminución de la intensidad).

Agregados unidimensionales, H- y J-agregados en disolución.

Por otra parte, el núcleo de PDI es un sistema plano π -conjugado, propenso a apilamiento π - π en agregados en el cristal con una distancia entre capas de 3.4 Å (similar a la del grafito).³⁸ En solución estos compuestos se auto-asocian debido a fuerzas de atracción intermoleculares de tipo van der Waals entre las moléculas. Los agregados en solución presentan cambios distintos en la banda de absorción en comparación con las especies monoméricas. A partir de los cambios espectrales, se han propuesto diversos patrones de agregación de los colorantes en diferentes medios. Las bandas J desplazadas de forma batocrómica (J para Jelly, uno de los pioneros en la investigación de estos cambios)³⁹ y las bandas H desplazadas de forma hipsocrómica (H para hipsocrómico). Los agregados que exhiben bandas J en su espectro de absorción se llaman agregados J y los agregados H presentan las bandas H.⁴⁰

Estudios extensivos sobre agregados J y H han dado lugar a la propuesta de que estos agregados existen como un ensamblaje unidimensional en solución que podría estar en forma (a) paralela “plano a plano” o (b) de escalera “cabeza-cola”. El grupo de F. Würthner ha preparado una serie de

³⁸ Chen, S., Slattum, P., Wang, C., Zang, L. *Chem. Rev.* **2015**, 115 (21), 11967-11998.

³⁹ Jelley, E.E. *Nature*, **1936**, 138, 1009

⁴⁰ Franck, J., Teller, E. *J. Chem. Phys.* **1938**, 6, 4.

geles a partir de cromóforos de perilenodiimida que pueden agregarse dando lugar a apilamientos cuya geometría solamente depende de la naturaleza de los sustituyentes de los grupos amida periféricos (11.a o 11.b; Figura 11).⁴¹ En general, como se muestra para el compuesto 11.a en la Figura 11, estos derivados dan lugar a apilamientos paralelos de tipo H que muestran un desplazamiento hacia el azul de la banda de absorción. En cambio, cuando los sustituyentes periféricos presentan cierto volumen estérico, las moléculas se ven obligadas a apilarse formando un ángulo entre la perpendicular al plano de la superficie aromática y el eje de apilamiento, formando los agregados de tipo J que presentan bandas de absorción desplazadas hacia el rojo (Figura 11.b).

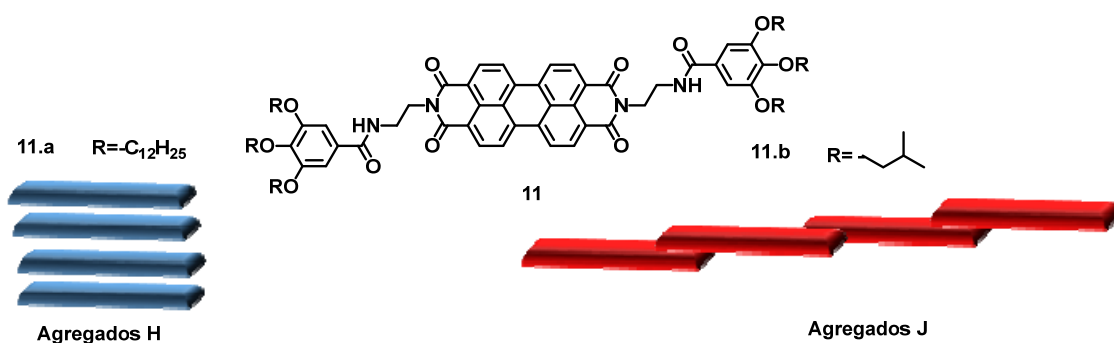


Figura 11. Estructura de las moléculas de perilenodiimida y tipos de agregados formados.

Sin embargo, se han descrito estructuras de PDI en las cuales existen agregados J y H para una misma molécula. Un ejemplo de ello se muestra en la figura 12. Estudios de agregación de la molécula 12.a (figura 12), revelaron la competición entre agregados H y J.⁴² En concentraciones y temperaturas intermedias dominaba el agregado tipo H con disminución de la fluorescencia; debido a que la estructura cofacial se congestiona, este agregado no puede crecer más en forma de agregados extendidos. El crecimiento en agregados más grandes es posible a partir de un núcleo de dímero deslizado, menos favorecido, dando lugar a agregados con acoplamiento excitónico de tipo J y fluorescencia potenciada observada experimentalmente a altas concentraciones (y / o temperaturas más bajas).

⁴¹ Ghosh, S., Li, X. Q., Stepanenko, V., Würthner, F. *Chem. Eur. J.*, **2008**, 14, 11343–11357.

⁴² Fennel, F., Wolter, S., Xie, Z., Plötz, P.-A., Kühn, O., Würthner, F., Lochbrunner, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 18722–18725.

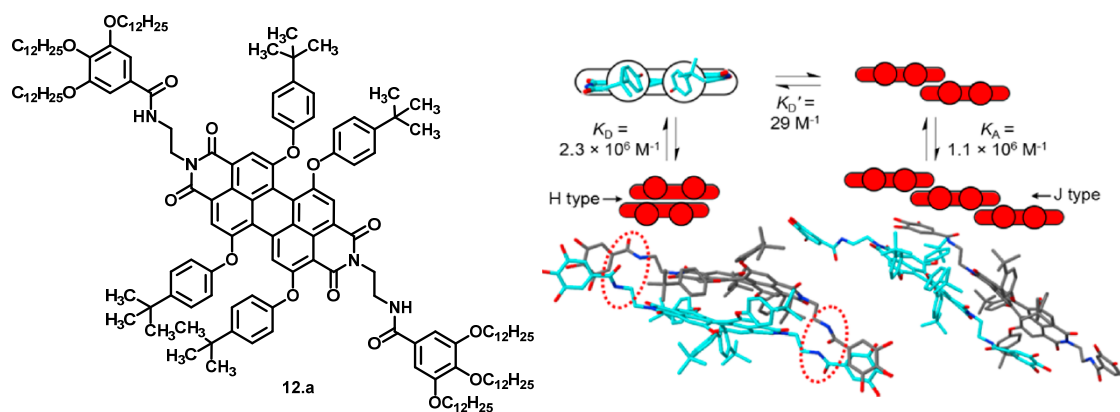


Figura 12. Derecha: estructura de la molécula. Izquierda: ilustración del comportamiento del 12.a en metilciclohexano y cálculos estructurales de los agregados H y J.

En contraste con la sustitución en la posición imida, la sustitución en las posiciones bahía del núcleo de PDI impone una restricción estérica que conduce a una distorsión del núcleo de PDI. Como resultado, las constantes de agregación de PDI con trenzado central son de 2 a 3 órdenes de magnitud más bajas que aquellas que no son sustituidas en el núcleo.⁴³ Además, la disposición de los sustituyentes en las posiciones bahía que se dirigen hacia el mismo lado del plano del PDI crea la superficie π estéricamente más impedida en una cara por lo que se inhibe la agregación adicional. El otro lado de la superficie π , que es más accesible, puede apilarse con otro monómero para formar un dímero estable. El ángulo de torsión del núcleo también tiene un fuerte efecto sobre las disposiciones supramoleculares de estos autoensamblajes. Estudios realizados en moléculas de PDIs centralmente disustituidas (Figura 13, 13.c) que poseen ángulos de torsión relativamente pequeños (15° - 25°) muestran que el acoplamiento excitónico y desplazamiento hipsocrómico de los máximos de absorción (formación de agregados H) son más fuertes en comparación con los de las PDI tetrasustituidas (Figura 13, 13.a y 13.b) con ángulos de torsión más grandes (27° - 36° , favorece la formación de agregados J). Estos resultados fueron explicados por la distancia entre los monómeros en el dímero, es decir, ángulos de torsión más grandes que evitan el contacto cercano de los núcleos de PDI.⁴³

Estas diferencias en el empaquetamiento también influyen en las propiedades funcionales; es decir, un apilamiento deslizado longitudinalmente de tetracloro-PDI 13.a proporcionó agregados J altamente fluorescentes.⁴³ Estos resultados sugieren que un núcleo retorcido de PDI puede dirigir el

⁴³ Chen, Z.; Baumeister, U.; Tschierske, C.; Würthner, F. *Chem. Eur. J.* 2007, 13, 450–465.

apilamiento π - π preferencial en modo de desplazamiento rotacional habitual hacia desplazamiento longitudinal.

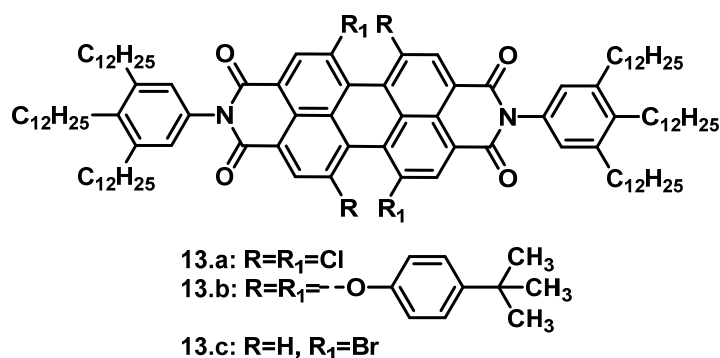


Figura 13. Ejemplos de estructuras de PDI sustituidas en el núcleo que forman agregados H y J.

Acoplamiento excitónico y procesos de desactivación de la fotoexcitación de los PDIs

Según la teoría de excitones, la molécula de colorante se considera como un dipolo de punto y el estado excitónico del agregado de colorante se divide en dos niveles a través de la interacción de dipolos de transición. Las moléculas de colorante pueden agruparse de manera paralela (apilamiento de plano a plano) para formar una disposición de tipo sándwich (dímero H) o en una disposición de cabeza a cola (apilamiento de extremo a extremo) para formar un dímero-J⁴⁴ (Figura 14).

⁴⁴ Yao, H., Domoto, K., Isohashi, T., Kimura, K., *Langmuir* **2005**, 21, 1067-1073.

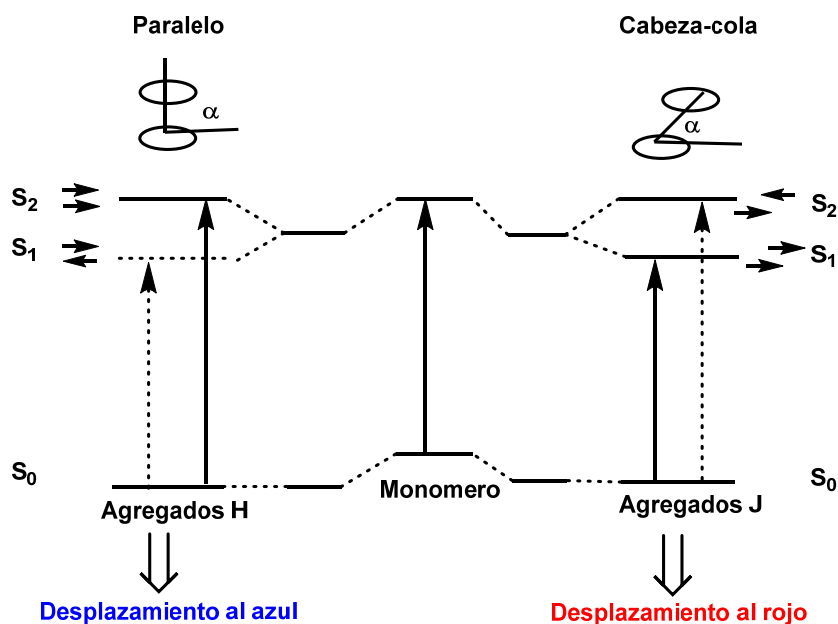


Figura 14. Representación esquemática de la relación entre la disposición de cromóforos y el cambio espectral basada en la teoría de excitones moleculares.

Cuando las moléculas (o cromóforos) están alineadas en paralelo, se generan dos nuevas bandas excitónicas de acuerdo con la teoría de excitones simple: una con energías más altas y la otra con un nivel de energía inferior al monómero como se muestra en la figura 14. En los agregados H, el estado inferior está muy estabilizado. Por lo tanto, la transición del estado excitado al estado fundamental es muy rápida y sucede sobre todo entre las bandas excitónicas con momentos dipolares diferentes como resultado de que la mayoría de las pérdidas de energía no son radiativas como las pérdidas térmicas. Debido a esta razón, los agregados H tienen una fluorescencia muy baja que es difícil de medir mediante técnicas regulares, por esta razón, los agregados H presentan un rendimiento cuántico de fluorescencia bajo. En los agregados J, la transición sólo a los estados de baja energía son permitidos y, como consecuencia, los agregados J se caracterizan por un rendimiento cuántico alto. Sin embargo, ambos agregados presentan rendimientos cuánticos menores a los de sus respectivos monómeros.

Otra característica de esta disposición es la aparición de tiempo vida mayor al del monómero lo que podría atribuirse a un cambio en la disposición supramolecular en el estado excitado electrónicamente.⁴⁵ Un dímero excitado

⁴⁵ Fink, R. F., Seibt, J., Engel, V., Renz, M., Kaupp, M., Lochbrunner, S., Zhao, H.-M., Pfister, J., Würthner, F., Engels, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 12858–12859.

(excímero),⁴⁶ que está compuesto por dos PDI orientados casi paralelamente, se genera dentro del apilamiento de colorantes a través de este proceso de relajación y la emisión de tiempos de vida más largos de tales dímeros se atribuye a una transición óptica casi prohibida (agregado H).

Si bien el conocimiento de la estructura de J-agregados en solución es limitado, son de considerable interés tecnológico debido a sus aplicaciones en la fotografía, y los usos potenciales en la terapia fotodinámica, optoelectrónica y células fotoeléctricas.⁴⁷

Mientras que la baja fluorescencia está bien explicada para los agregados H por la teoría del acoplamiento de excitones, la situación de los agregados J es más sutil (pues propone una fuerte emisión) y probablemente esté envuelta una disminución de la fluorescencia por procesos como fisión del singlete.⁴⁸ Estos agregados pueden explicarse por la teoría de acoplamiento de excitones de Kasha.⁴⁹ En ésta se describe la interacción de la transición de los momentos dipolares de cromóforos con respecto a sus disposiciones geométricas sobre la fotoexcitación. Würthner y col (2016)⁹ han explicado este modelo de forma cualitativa basado en un sistema de dímero (Figura 15). Según el modelo, los autores explican que la excitación vertical desde S_0 a S_1 puede tener diferentes estados electrónicos altos dependiendo del arreglo espacial de las unidades de colorante en una molécula compuesta. Una de las situaciones que puede surgir es que el sistema formado por el dímero sea coplanar, paralelo y de orientación equidistante en la participación de la transición de los momentos dipolares. En un agregado de colorante de un dímero la energía del estado fundamental y del estado excitado son reducidas relativamente a las unidades del monómero debido a la energía ganada por las fuerzas de van der Waals. Los niveles de energía del estado fundamental de los monómeros y el formado por el dímero dan lugar a que el dímero excitado

⁴⁶ Birks, J. B. *Rep. Prog. Phys.* **1975**, 38, 903–974.

⁴⁷ (a) Tamaoki, N., Keuren, E. V., Matsuda, H., Hasegawa, K., Yamaoka, T. *Appl. Phys. Lett.* **1996**, 69, 1188. (b) Balaban, T. S., Bhise, A. D., Fischer, M., Linke-Schaetzl, M., Roussel, C., Vanthuyne, N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, 42, 2140–2144. (c) Das, S., Kamat, P. V. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 209. (d) Khazraji, A. C., Hotchandani, S., Das, S., Kamat, P. V. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 4693–4700. (e) Ponterini, G., Fiorini, M., Vanossi, D., Tatikolov, A. S., Momicchioli, F. *J. Phys. Chem. A* **2006**, 110, 7527

⁴⁸ Eaton, S. W., Shoer, L. E., Karlen, S. D., Dyar, S. M., Margulies, E. A., Veldkamp, B. S.; Ramanan, C., Hartzler, D. A., Savikhin, S., Marks, T. J., Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 14701–14712.

⁴⁹ (a) McRae, E. G., Kasha, M. *J. Chem. Phys.* **1958**, 28, 721–722. (b) Kasha, M. *Radiat. Res.* **1963**, 20, 55–70. (c) Kasha, M., Rawls, H. R., Ashraf El-Bayoumi, M. *Pure Appl. Chem.*, **1965**, 11, 371–392.

es energéticamente más estable por la mayor polarización de las moléculas excitadas y muestra un incremento en las interacciones de van der Waals (ΔE_{vdW}) como consecuencia del acoplamiento excitónico, por lo tanto el estado excitado del singlete de tales dímeros se divide en dos estados excitónicos. La magnitud de estas divisiones ($\Delta \epsilon$) depende de la magnitud de la transición de los momentos dipolares de estos colorantes (μ), la distancia entre los cromóforos y su arreglo mutuo.

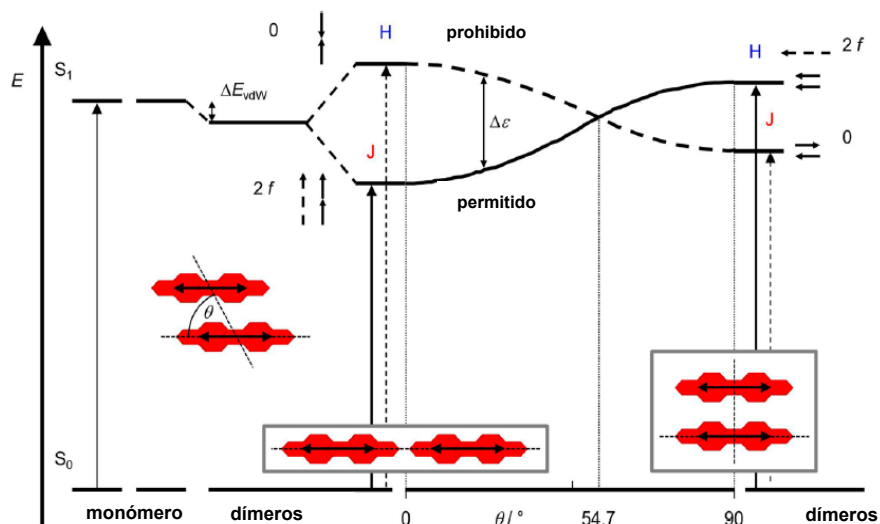


Figura 15. Diagrama esquemático de los niveles de energía para los acoplamientos excitónicos de los dímeros de PDI con la transición coplanar de los momentos dipolares.

La transición del momento dipolar puede estar en línea (formando un $\theta = 0^\circ$, Agregados J) o en la parte superior ($\theta = 90^\circ$, agregados H). Se muestra un $\theta = 54.7^\circ$ en el cual ambas curvas sigmoidales tienen un punto de interacción en el que los dos estados son de igual energía. Cabe destacar que cada espectro de los agregados no es posible distinguirlo de sus respectivos monómeros. Así para la disposición PDI-PDI para ángulos menores a 54.7° la transición energéticamente decrece con respecto a la transición del monómero, para valores superiores al ángulo la energía se incrementa. En consecuencia, la máxima absorción de los agregados tendrá un desplazamiento batocrómico a bajas energías o hipsocrómico a altas energías, respectivamente. En este punto sólo son considerados los desplazamientos longitudinales a lo largo de las transiciones de los momentos dipolares de los colorantes.

En cuanto a la fotoexcitación de los cromóforos desde el estado electrónico fundamental (S_0) a niveles de energía mayores ($S_n, n \geq 1$) ocurre una

rápida relajación del primer estado excitado (S_1), mientras que según la teoría de Kasha éste sirve como punto de partida para futuros procesos de relajación de $S_1 \rightarrow S_0$.⁵⁰ El principal canal de desactivación para los monómeros de PDI excitados es el proceso radiativo del estado fundamental (fluorescencia), mientras que el cruce de los intersistemas conduce al estado triplete (T_1) que es un proceso relativamente lento, pues los niveles de energía de estos estados son bajos. Además, los esqueletos de PDI son muy rígidos, por lo tanto también la radiación interna de conversión al estado fundamental es lenta. Como resultado, los rendimientos cuánticos de fluorescencia de las PDI son en general muy altos. Para un par de cromóforos de PDI varios procesos de relajación adicional son factibles, que pueden conducir a cualquiera de los decaimientos radiativos o no radiativos, por ejemplo el reajuste estructural entre los agregados de PDI puede conducir a estados de excímeros (PDI-PDI*), con un tiempo de vida alto (cercano a los 20 ns); un marcado desplazamiento en la fluorescencia y de moderado a alto rendimiento cuántico son observados para agregados tipo H. Además, otras vías de relajación al estado fundamental pueden llegar a ser más prominentes en los estados agregados de PDI. Por ejemplo, para el hipotético dímero de PDI (PDI-PDI) la posible pérdida de radiación y las desintegraciones radiativas se ilustran en la figura 17. Otra vía de relajación de $S_1 \rightarrow S_0$ es el ISC a los estados triplete, lo que da como resultado un estado singlete-triplete (3PDI-PDI). Mientras que el proceso $S_1 \rightarrow T_1$ es muy lento para los monómeros de PDI debido a la gran diferencia de energía,²⁶ este proceso puede acelerarse en agregados de PDI, por ejemplo a través de un intermedio PDI⁺-PDI⁻ donde existe una transferencia de carga⁵¹ o estado excímero.

⁵⁰ Kasha, M. *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, 9, 14–19.

⁵¹ Veldman, D., Chopin, S. M. A., Meskers, S. C. J., Groeneveld, M. M., Williams, R. M., Janssen, R. A. J. *J. Phys. Chem. A* **2008**, 112, 5846–5857.

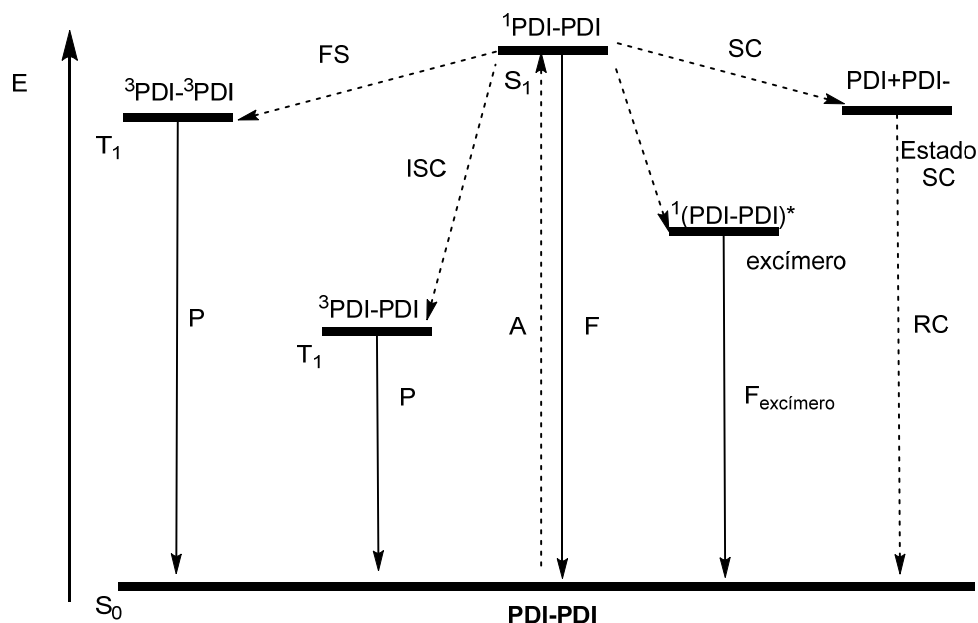


Figura 16. Diagrama de los niveles de energía para diferentes estados excitados para un dímero de PDI hipotético. (A, absorción; F, fluorescencia; FS, Fisión de singlete; ISC, cruce entre sistema; P, fosforecencia; SC, separación de carga; RC, recombinación de carga).

La fisión del singlete (excitón) también es posible vía desactivación, que hasta ahora solo ha sido observado en materiales sólidos.⁴⁴ En este proceso, un estado excitado ($^1\text{PDI-PDI}$) se convierte en dos estados excitados de triplete ($^3\text{PDI-}^3\text{PDI}$). Según estos estudios, esta vía es ligeramente endoergónica y por lo tanto solo puede ocurrir en estado sólido donde es favorecido por la entropía. Finalmente, uno de los procesos no radiativos más competitivos es a través de estados de transferencia de carga (incluso más si los PDI poseen sustituyentes ricos en electrones), de modo que después de la separación de carga ($\text{PDI}^+-\text{PDI}^-$) ocurre una recombinación de carga.⁵²

Solubilidad de PDI en disolución

La solubilidad es siempre un problema cuando se trata de estructuras poliaromáticas, como las PDI, ya que como hemos analizado tienden a formar agregados insolubles a través de fuertes interacciones π - π , lo que es aún más pronunciado en un entorno acuoso.

Para evitar la formación de estos agregados y mejorar la solubilidad de las PDIs se han modificado las posiciones imida mediante la introducción de

⁵² Giaimo, J. M., Gusev, A. V., Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8530–8531.

cadenas largas laterales de alquilo. Debido a la presencia de los nodos orbitales moleculares en las posiciones de imida en los PDIs, tales uniones de cadena lateral imponen poco efecto sobre las propiedades electrónicas de las moléculas de PDIs, ofreciendo opciones amplias para modificar las estructuras de cadena lateral para ajustar la disposición de apilamiento π - π .⁵³ Por el contrario, la sustitución en las posiciones bahía perturba significativamente el autoensamblaje bien organizado de los PDIs⁵⁴. En muchos casos, los efectos estéricos impartidos por sustituyentes en bahía puede conducir a una torsión del plano del PDI, es decir, una distorsión de los sistemas π a partir de la planariedad, aumentando potencialmente la solubilidad y restringiendo el comportamiento de la disposición de empaquetamiento de cristal inducida por el apilamiento π - π (Figura 17).⁵⁵

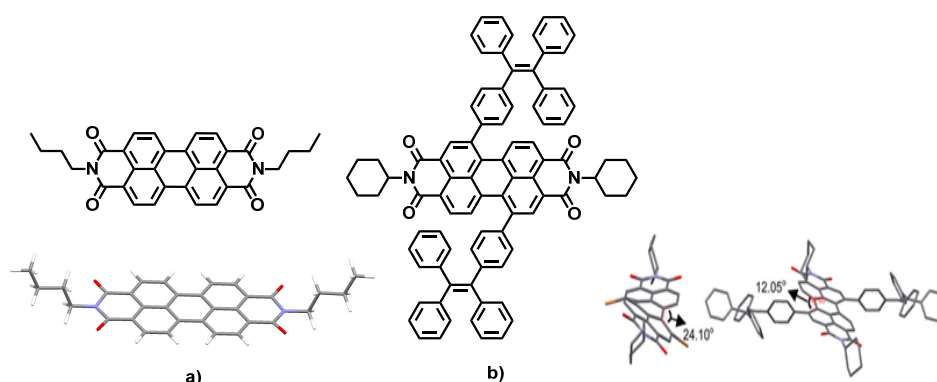


Figura 17. Ejemplos de sustitución en posición a) imida y b) bahía del PDI.

En solución, los procesos de agregación de PDIs pueden ser considerados como equilibrios entre las unidades monoméricas y las especies agregadas. Diferentes modelos matemáticos pueden ser usados para describir los procesos de agregación de las PDIs en disolución, como el modelo monómero-dímero,⁵⁶ modelo isodésmico y el modelo isodésmico modificado.⁵⁷ El primero, como su nombre lo indica, considera un equilibrio entre el monómero y el dímero como especie agregada única. Como la especie agregada llega a ser más grande que el dímero, el modelo monómero-dímero no es aplicable. En cambio, el segundo modelo es más simple para describir el

⁵³ Görl, D., Zhang, X., Würthner, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, 51, 6328–6348.

⁵⁴ Supura, M., Fukuzumi, S. *ECS J. Solid State Sci. Technol.* **2013**, 2, M3051–M3062.

⁵⁵ Huang, C., Barlow, S., Marder, S. R. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 2386–2407.

⁵⁶ Chen, Z., Lohr, A., Saha-Moller, C. R., Würthner, F. *Chem. Soc. Rev.* 2009, 38, 564–584.

⁵⁷ Zhao, D., Moore, J. S. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 3471–3491.

comportamiento de formación que conduce a agregados extendidos⁵⁸ y considera las constantes de unión iguales para cada adición de monómero a la cadena de ensamblaje. Sin embargo, este modelo se puede modificar para representar uno más realista con el proceso de agregación, suponiendo que la primera constante de enlace del monómero es diferente del resto de la cadena de alargamiento. Si el paso de enlace inicial (paso de nucleación) es menos favorable que el paso de elongación, este proceso se designa como proceso cooperativo.⁵⁸ Sin embargo, si el paso de nucleación es más favorable que el paso de elongación, este proceso se llama proceso de agregación anticooperativo.⁵⁸

Chen y *col.* describieron estudios detallados sobre el autoensamblado de una PDI sin sustituir las posiciones bahía en un disolvente de baja polaridad tal como el metilciclohexano (MCH).⁵⁹ Estos autores describieron que a una concentración creciente de PDI se observaba un desplazamiento hipsocrómico y una ampliación de las bandas de absorción, lo que indica apilamiento cara a cara entre núcleos de PDI (agregados de tipo H). Los espectros UV / vis de estos agregados H se pueden racionalizar mediante un desplazamiento rotativo de las subunidades PDI en el apilamiento, lo que permite parcialmente la transición óptica prohibida (banda J) en estos agregados de tipo H (ver figura 15).⁵⁹ Lo más interesante es que los agregados resultantes exhibieron una intensa fluorescencia con un rendimiento cuántico de 0.65 en MCH.⁵⁹ El color de fluorescencia cambió dependiendo del grado de agregación en solución (α_{agg}) de verde ($\alpha_{agg} < 0,3$) a amarillo ($\alpha_{agg} \approx 0,7$), naranja ($\alpha_{agg} \approx 0,8$) y rojo ($\alpha_{agg} > 0,9$). Además, el tiempo de vida de fluorescencia aumentó en el estado agregado debido a la transición reducida de S_1 a S_0 comúnmente observada en agregados H.

La polaridad del disolvente es otro factor que influye en la formación de los agregados de PDIs, así lo demuestran estudios realizados por Würthner y *col.*⁶⁰ Estos investigadores describieron diferentes contribuciones de las fuerzas intermoleculares que operan en los sistemas π - π de estas PDIs sin sustitución del núcleo. En los disolventes alifáticos de baja polaridad (*n*-hexano y MCH) a disolventes de polaridad intermedia (tolueno, THF) operan fuerzas de interacción electrostática reducida entre estas moléculas. Por otro lado, el

⁵⁸ De Greef, T. F. A., Smulders, M. M. J., Wolfs, M.; Schenning, A. P. H. J., Sijbesma, R. P., Meijer, E. W. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 5687–5754.

⁵⁹ Chen, Z., Stepanenko, V., Dehm, V., Prins, P., Siebbeles, L. D. A., Seibt, J., Marquetand, P., Engel, V., Würthner, F. *Chem. - Eur. J.* **2007**, 13, 436–449.

⁶⁰ Chen, Z., Fimmel, B., Würthner, F. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 5845–5855.

aumento de las constantes dieléctricas dipolares (por ejemplo, acetona, MeCN) y disolventes próticos (MeOH) produce que predominen las fuerzas de dispersión, que son más fuertes a medida que aumenta la polaridad del disolvente. En cuanto a los disolventes halogenados, tales como CCl₄ y CHCl₃, la alta polarización produce una mejor solvatación de las unidades de PDI, que conducen a una menor fuerza de unión de los agregados. En el caso del agua, el pronunciado efecto hidrofóbico causa mayores valores para las constantes de agregación, que no son fáciles de determinar porque la disociación es difícil de lograr en el rango de concentración requerido para la espectroscopia UV/vis.

Construcción de agregados de PDI en medios acuosos

Para mejorar la solubilidad en el agua de las PDI se han probado diversos métodos. Entre ellos, introducir dendrones en las posiciones imida de las PDI, aunque se mejora la solubilidad en agua se mantiene la agregación de los cromóforos por lo que exhibe un apagado de la fluorescencia. Sin embargo, Haag y *col* informaron de dendrones de poliglicerol de tercera y cuarta generación capaces de suprimir el apilamiento π - π de las PDI. En consecuencia describieron una mejora de los rendimientos cuánticos de fluorescencia (Figura 18 a y b).

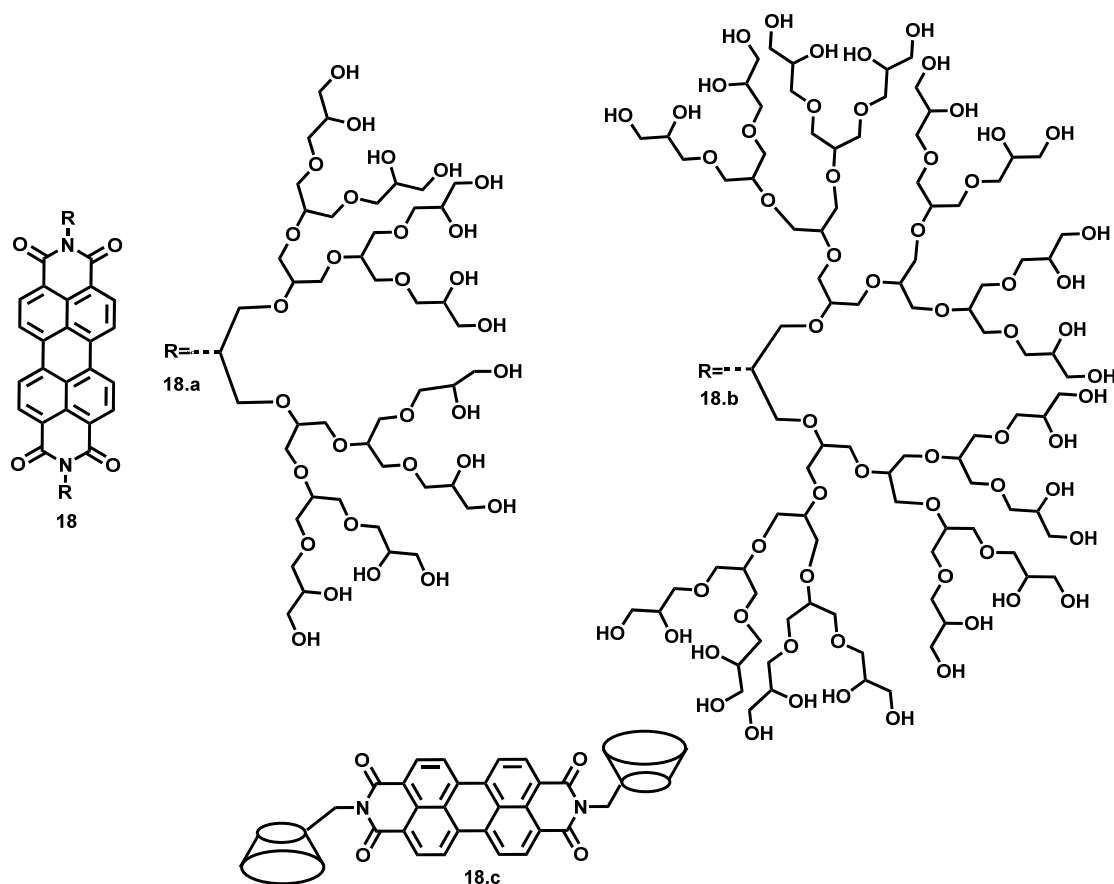


Figura 18. PDIs solubles en agua por la sustitución de dendrones de poliglicerol y β -ciclodextrina en las posiciones imidas.

Por otro lado, se ha combinado la solubilidad en agua y las propiedades anfitrión-huésped de la ciclodextrina, para funcionalizarla en las posiciones imida con β -ciclodextrina en los PDI (Figura 18.c)⁶¹ ésta estructura proporcionó agregados de PDI que son útiles como sensores de fluorescencia. Sin embargo, estudios de los espectros de UV / vis y de fluorescencia, muestran la formación de agregados cofaciales de tipo H en medios acuosos.

Además de estas estrategias utilizadas, y para mejorar sus propiedades en soluciones acuosas para que sean aplicados en el campo biológico,⁶² se ha usado en las PDI la formación de un fuerte complejo anfitrión-huésped con los compuestos macrocíclicos denominados cucurbituriles (CB). De hecho en una

⁶¹ Liu, Y., Wang, K.-R., Guo, D.-S., Jiang, B.-P. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19, 2230–2235.

⁶² (a) Dsouza, R. N., Pischel, U., Nau, W. M. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 7941–7980. (b) Rao, J., Dragulescu-Andrasi, A., Yao, H. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, 18, 17–25. (c) Basabe-Desmots, L., Reinhoudt, D. N., Crego-Calama, M. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 993–1017.

cierta cantidad de compuestos se describe una desagregación de las PDI.⁶² En contraste con las modificaciones covalentes, la reversibilidad de la formación del complejo anfitrión-huésped también permite la conmutación sensible a los estímulos de las propiedades fotofísicas de las PDIs.

Esta química está basada en la interacción débil intermolecular entre el anfitrión-huésped y ha sido considerada como uno de los enfoques más eficientes para estos tipos de complejos, también se ha encontrado interacción mecánica no-covalente entre el anfitrión-huésped del complejo.⁶³ Por lo tanto, al introducir en el sistema de colorantes fluorescentes esa interacción mecánica no covalente es posible destruir la forma agregada original del colorante e incrementar la fluorescencia debido al efecto de embalaje anfitrión-huésped del compuesto macrocíclico, lo que proporciona un enfoque alternativo para ajustar la agregación de moléculas de colorantes, de esta forma la molécula pasa de ser no fluorescente a fluorescente con un aumento significativo en el rendimiento cuántico de fluorescencia (Figura 19).⁶³

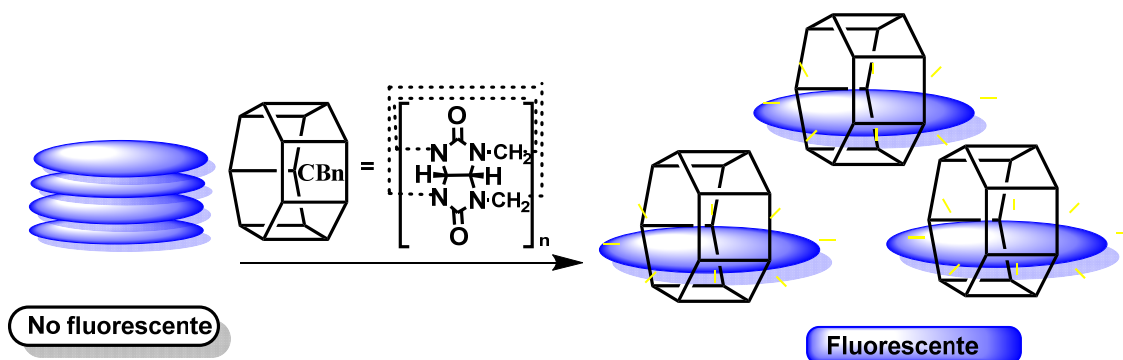


Figura 19. Desagregación de PDI en agua tras la adición de CBn.

Nau y *col.* consiguieron prevenir la agregación de los PDIs en agua utilizando curcurbit[8]uril (CB [8]), este último forma un fuerte complejo de inclusión huésped-anfitrión ocasionando la desagregación de los PDIs y un rendimiento cuántico igual a 0,90.⁶⁴ Esto permite que sean utilizados como sensores de fluorescencia en medio acuoso.

⁶³ Herbst, W., Hunger, *Industrial Organic Pigments*, 3rd ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.

⁶⁴ Biedermann, F., Elmalem, E., Ghosh, I., Nau, W. M., Scherman, O. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 7739–7743.

Estudios de asociación de las PDIs

Se ha estudiado la morfología de las arquitecturas supramoleculares de las PDIs mediante diferentes técnicas microscópicas, que incluyen SEM, TEM y AFM. Para las PDIs con sustituyentes insaturados en la posiciones imida (Figura 20.a) dio como resultado nanovarillas cilíndricas en forma de hoz.⁶⁵ Para sustituyentes con cadenas de alquilo más simples (Figura 20.b) la morfología de los agregados fue de nanocinturon.⁶⁵ Cuando los sustituyentes imida son colas ramificadas de alquilo (Figura 20.c) la solubilidad se vuelve alta, las constantes de agregación se vuelven bajas y se obtienen nanopartículas esféricas debido al impedimento estérico que interrumpe el crecimiento unidimensional de la pila π - π .⁶⁶ Estos hallazgos enfatizan el importante efecto de los sustituyentes imida en la morfología de conjuntos apilados π - π de PDI sin sustitución de núcleo.

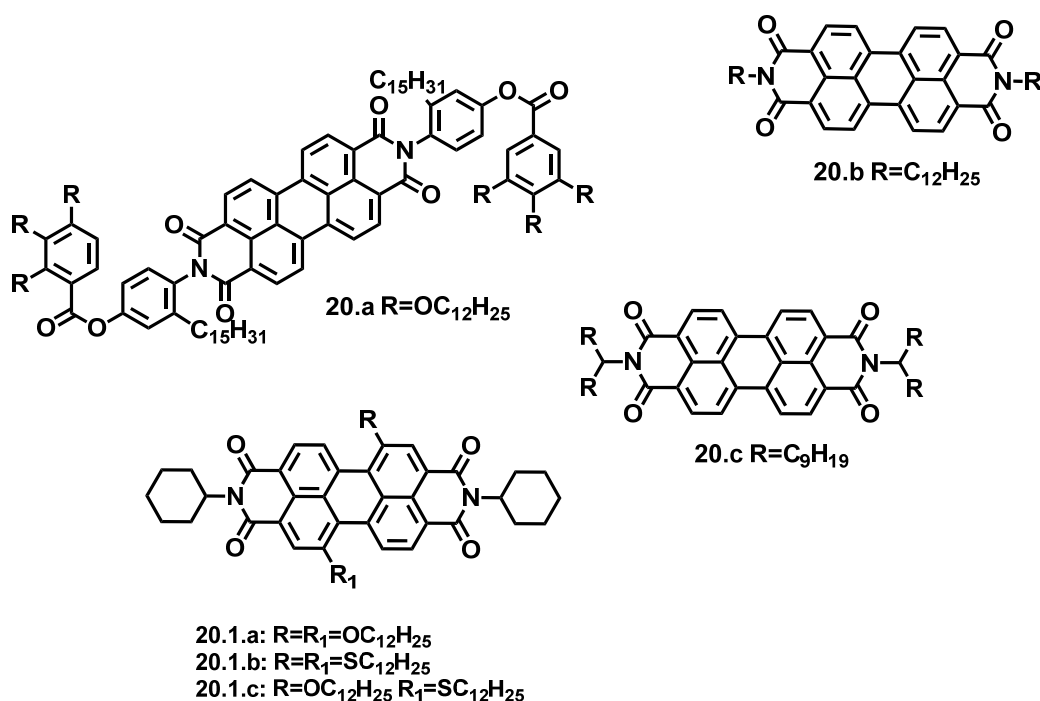


Figura 20. Ejemplos de estructuras de PDI estudiadas morfológicamente.

El efecto de la sustitución en la posición bahía en la morfología de nanoagregados también se investigó con núcleos disustituídos de PDI, 20.1.a-

⁶⁵ Bhavsar, G. A., Asha, S. K. *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 12646–12658.

⁶⁶ Balakrishnan, K., Datar, A., Naddo, T., Huang, J., Oitker, R., Yen, M., Zhao, J., Zang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7390–7398.

c, que contienen dodeciloxi, tiododeciloxi o ambos grupos, respectivamente (Figura 20).⁶⁷ La PDI 20.1.a que contiene dos grupos dodeciloxi autoensamblados dio como resultado nanocables largos y flexibles, mientras que el derivado de tiododeciloxi 20.1.b formó nanopartículas esféricas y el sistema mixto 20.1.c formó nanovarillas. Esta diversidad en la morfología del autoensamblaje se justificó en términos de diferentes grados de torsión central dependiendo de los sustituyentes y la diferente inclinación que presentan los grupos dodeciloxi y tiododeciloxi con respecto al núcleo.⁶⁷

En el caso de los agregados moleculares compuestos por sistemas moleculares π -conjugados, su estructura permite que surjan una variedad de morfologías diferentes a partir de una unidad monomérica dada, estos sistemas se consideran plataformas prometedoras para evaluar y controlar las interacciones intermoleculares dependientes de la estructura entre las unidades funcionales.⁶⁸

Estudios de dímeros de PDI

Los dímeros pueden ser agrupados en dos clases: una en la que los colorantes de PDI son conectados por unidades conjugadas π (Figura 21.1), mientras que el segundo grupo exhibe unidades espaciadoras que preorganizan los dos cromóforos de PDI en diferentes tipos de contacto $\pi \rightarrow \pi$ (Figura 21.2). En el primer tipo se muestra un desplazamiento batocrómico de 10 nm, baja energía máxima de absorción a 535 nm en cloroformo con una banda estrecha significativa e incremento en el coeficiente de absorción ($\epsilon = 241800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) comparada con su respectivo monómero ($\epsilon = 85700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁶⁹ Estas propiedades son características de los agregados J que apuntan a un acoplamiento intramolecular del excitón debido a una disposición lineal de las unidades de cromóforos. Los dímeros de PDI lineales con largas distancias entre las unidades de monómeros son logradas por conexiones del monómero con puentes mono-, di-, y tri- *p*-fenileno (Figura 21.1b-d).⁷⁰

⁶⁷ Su, W.; Zhang, Y.; Zhao, C.; Li, X.; Jiang, J. *Chem Phys Chem.* **2007**, 8, 1857–1862.

⁶⁸ Son, M., Park K. H., Shao C., Würthner F., Kim D. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**; 5:3601–3607.

⁶⁹ (a) Langhals, H., Jona, W. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, 37, 952–955. (b) Demmig, S., Langhals, H. *Chem. Ber.* **1988**, 121, 225–230.

⁷⁰ (a) Langhals, H., Gold, J. *J. Prakt. Chem. / Chem.-Ztg.* **1996**, 338, 654–659. (b) Liu, R., Holman, M. W., Zang, L., Adams, D. M. *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 6522–6526. (c) Holman, M. W., Liu, R., Zang, L., Yan, P., DiBenedetto, S. A., Bowers, R. D., Adams, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 16126–16133.

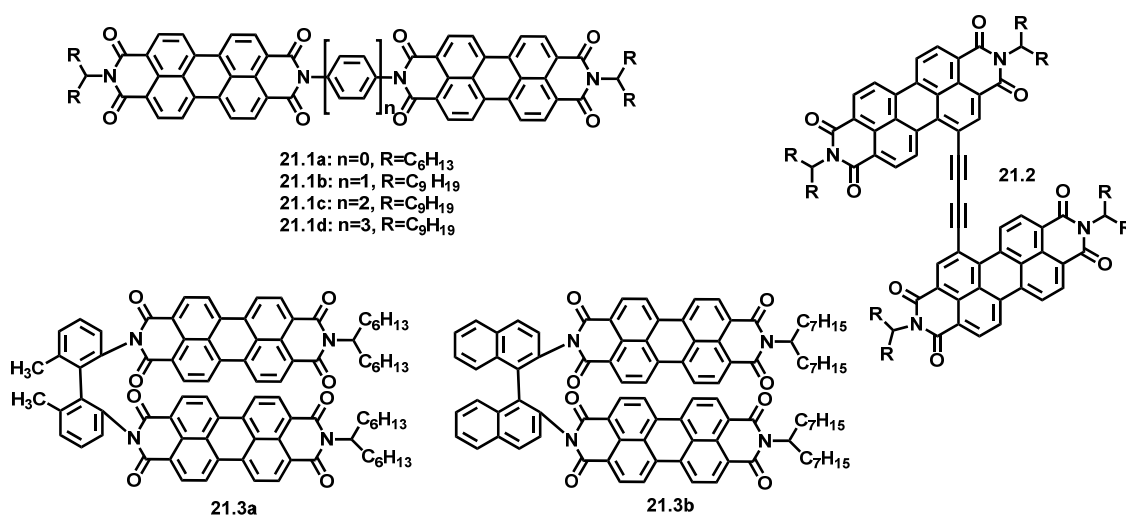


Figura 21. Tipos de dímeros de PDI.

Estudios sobre la primera serie de dímeros de PDIs (Figura 21.1 a-d)⁷¹ mostraron que las constantes de velocidad para la transferencia de electrones fotoinducida en estos dímeros son fuertemente dependientes de la longitud del espaciador oligomérico, la geometría del cromóforo y la polaridad del disolvente (constante dieléctrica). Los estudios espectroscópicos de una sola molécula mostraron que el comportamiento fluorescente de estos dímeros de PDI depende de la longitud de su puente y la alineación cromófora, que afectan el acoplamiento electrónico y, por tanto, el puente de transferencia electrónica.

También, se han descrito conformaciones más dinámicas en el que los cromóforos monoméricos son unidos en la posición bahía con un puente de hexadiino (Figura 21.2). Este dímero presenta distancias intramoleculares más cortas y mostró una absorción con desplazamiento al azul en las bandas del espectro de excitación en comparación con la de su monómero, revelando un acoplamiento excitónico de tipo H entre los monómeros constituyentes.⁷² Además del pronunciado desplazamiento hipsocrómico en los espectros de absorción, los rendimientos cuánticos de fluorescencia fueron drásticamente reducidos por la formación de agregados tipo H.

⁷¹ Diehl, F. P., Roos, C., Duymaz, A., Lunkenheimer, B., Köhn, A., Basché, T. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, 5, 262–269.

⁷² Jumper, C. C., Anna, J. M., Stradomska, A., Schins, J., Myahkostupov, M., Prusakova, V., Oblinsky, D. G., Castellano, F. N., Knoester, J., Scholes, G. D. *Chem. Phys. Lett.* **2014**, 599, 23–33.

En el caso de los dímeros 21.3 y 21.4 (Figura 21) presentan considerables interacciones π - π entre los monómeros constituyentes debido a que están muy cerca el uno del otro con alineaciones predefinidas impuestas por las respectivas redes troncales rígidas.⁷³ En los dímeros atropoenantioméricos presentados (se muestra un enantiomero de cada uno), las unidades de cromóforo son alineadas de una manera casi perpendicular según lo revelado por cálculos químicos cuánticos.⁷³ Las distancias centro-a-centro de las unidades de PDI en estos dímeros son mucho más cortas en comparación con los de los dímeros con disposición lineal (21.1 y 21.2, Figura 21), lo que resulta en cambios más pronunciados en los espectros de absorción de estos dímeros quirales, en particular, una disminución de la banda de absorción 0-0 con un hombro adicional a una de mayor energía (acoplamiento en H). Además, se han reportado dímeros en los que el núcleo de PDI se encuentra sin sustituyentes con un alquilo lineal en la posición imida, y ambas unidades de cromóforos están apiladas cofacialmente en un dímero tipo H casi perfecto.⁷⁴

El grado de apilamiento es dependiente de las características estructurales de los cromóforos y el entorno que lo rodea.⁷⁵ Por lo tanto, las unidades más planas de PDI que posean hidrógenos en las posiciones bahía del núcleo de perileno exhiben una mejor capacidad de apilamiento, lo que resulta en PDI estrechamente apilados en disolventes de baja polaridad, o desapilados en disolventes con mayor polaridad. Este ejemplo demuestra que los procesos de apilamiento/desapilamiento pueden ser controlados por condiciones externas. Sin embargo, la distorsión gradual del núcleo de perileno introduciendo sustituyentes más voluminosos (en las posiciones bahía 1,7) produce que el apilamiento de estos cromóforos sea casi nulo.

ANTECEDENTES DEL GRUPO EN EL CAMPO DE LOS SENSORES QUÍMICOS

En la actualidad existe un gran interés en el desarrollo de sensores químicos para la detección de contaminantes altamente tóxicos o peligrosos porque constituyen marcadores de contaminación y, al mismo tiempo,

⁷³ (a) Langhals, H., Hofer, A., Bernhard, S., Siegel, J. S. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 990–992. (b) Langhals, H., Gold, J. *Liebigs Ann.* **1997**, 1151–1153.

⁷⁴ Giaimo, J. M., Lockard, J. V., Sinks, L. E., Scott, A. M., Wilson, T. M., Wasielewski, M. R. *J. Phys. Chem. A* **2008**, 112, 2322–2330.

⁷⁵ Hippus, C., van Stokkum, I. H. M., Zangrando, E., Williams, R. M., Wykes, M., Beljonne, D., Würthner, F. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 14626–14638.

constituyen una amenaza para la salud.⁷⁶ La detección de contaminantes en alimentos, agua y muestras biológicas o ambientales es un punto crítico para el desarrollo de procedimientos apropiados de seguridad. Los sensores químicos apropiados deberían ser baratos, portátiles, y fáciles de usar, con los requisitos mínimos de reactivos y de preparación de la muestra, y deberían ser capaces de detectar variaciones emergentes de los contaminantes para tener una buena versatilidad. Por otro lado, el gran número de amenazas químicas o biológicas, cada una con sus propias características, establece algunos requisitos específicos para cada sensor químico, que tiene que trabajar en tiempo real para ser realmente útil.

El componente más crítico es la unidad de reconocimiento, que tiene que tener las características de especificidad, sensibilidad, reproductibilidad y gran aplicabilidad al reconocimiento de la toxina específica o una especie química particular de riesgo (Figura 22).⁷⁷

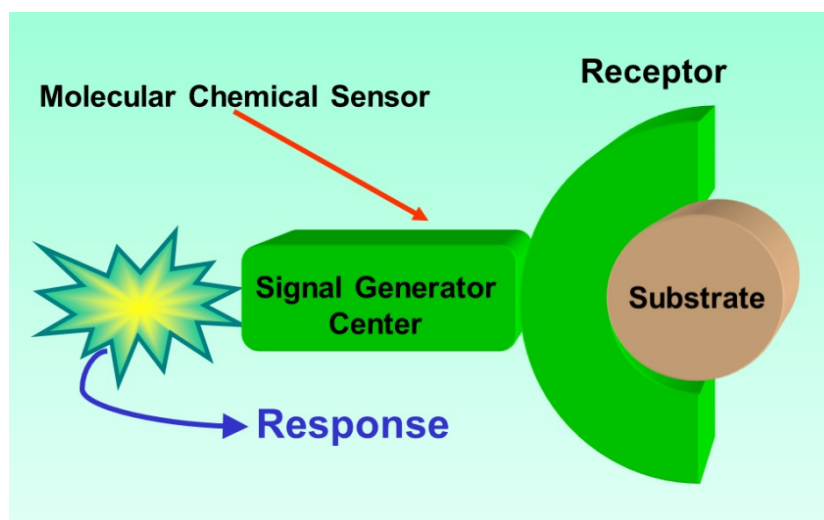


Figura 22. Componentes principales de un sensor químico.

El desarrollo de un sensor químico ideal requiere que cumpla ciertos principios básicos: 1) la identificación de una estructura particular en el contaminante, 2) la construcción de una molécula capaz de reconocer a una estructura particular, 3) el acoplamiento de dicha molécula receptora a un elemento de transducción que genera una señal cuando el metabolito se une a

⁷⁶ Jelinek, R., Ed. *Cellular and Biomolecular Recognition: Synthetic and Non-Biological Molecules*, 2009. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

⁷⁷ Wang, B., Anslyn, E. V. *Chemosensors: Principles, Strategies, and Applications*, 2011 John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

la molécula receptora. 4) la evaluación del sensor químico en condiciones controladas en el laboratorio y la ratificación del funcionamiento del sensor químico frente a los métodos de identificación más tradicionales, 5) la optimización de la especificidad y la sensibilidad del sensor químico, 6) la extensión del alcance del sensor químico mediante la evaluación de su funcionamiento en la detección del contaminante en las muestras reales de alimento, agua o aire, 7) la evaluación de la estabilidad, la reproductibilidad, el coste, y la aprobación legal. Finalmente, se espera que un sensor químico fuera capaz de la detección rápida de cantidades pequeñas de contaminante en una matriz compleja sin que existan falsos positivos o negativos y el sensor químico debería ser suficientemente simple como para ser usado sin un entrenamiento excesivo. Las metodologías ópticas, sobre todo aquellas que están basadas en la fluorescencia (Figura 23), son de interés sustancial debido a sus aspectos ventajosos que incluyen la simplicidad, la alta sensibilidad, el bajo precio, la adaptación a la automatización y el análisis en tiempo real en el lugar donde se encuentra la muestra. La tecnología que pueda crearse a partir de los resultados de esta Tesis será del interés especial para desarrollar nuevos sensores útiles químicos orientados a la seguridad.

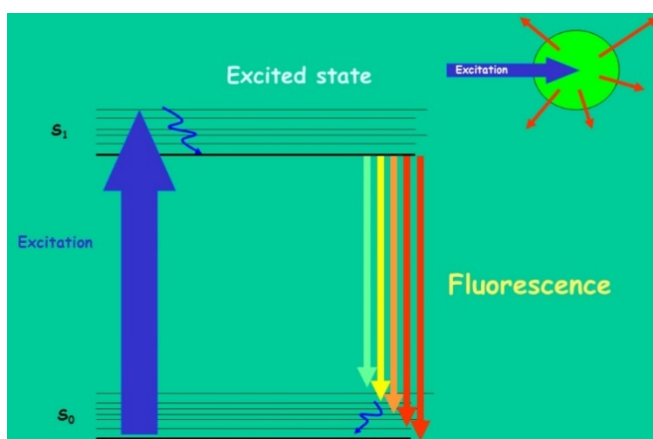


Figura 23: Diagrama clásico del fenómeno de la fluorescencia, simplificado del diagrama de Jablonsky.

Los peligros para la sociedad pueden provenir de la adición accidental, intencionada o natural de algún agente químico o biológico en alguno de los estadios de distribución comercial, que puede llegar al consumidor final haciéndole por tanto susceptible de enfermedades o muerte. Los grupos terroristas son capaces de obtener fácilmente una gran variedad de información científica que puede ser utilizada fraudulentamente para ocasionar gran preocupación a la gente. Pueden usar esta información para efectuar actos de

terrorismo en alguno de los estadios menos seguros y más vulnerables de la sociedad, usando solo instrumentos simples y baratos. Más allá del punto de vista del terrorismo, la aparición natural de contaminantes se detecta esporádicamente en diferentes épocas de tiempo, y puede culminar en incidentes de intoxicaciones y a veces muerte accidental. Esta amenaza impulsa la urgencia de desarrollar dispositivos altamente fiables capaces de descubrir, con gran sensibilidad y especificidad, sustancias peligrosas en el medio ambiente o alimentos. Tales dispositivos usados en las etapas apropiadas, ayudarían a mitigar la transmisión de los contaminantes al consumidor final. Por lo tanto, la alta fiabilidad, la portabilidad y la facilidad para funcionar son características importantes que los dispositivos de detección proyectados deben poseer.

La investigación actual en el entorno del proyecto SNIFFER FP7-SEC-2012-312411:

El proyecto SNIFFER FP7-SEC-2012-312411 consistió en el diseño y el desarrollo de una red de dispositivos de detección distribuidos, capaces de la detección rápida, en el sitio de origen, de múltiples clases de agentes CBR (Químicos, Biológicos y Radiológicos) con gran sensibilidad y especificidad en todas las etapas más vulnerables de la cadena de suministro alimentario como granjas, grandes centros de almacenamiento, mayoristas, etc. El proyecto se orientó tanto a la tecnología de sensores disponible como a nuevos dispositivos sensores, complementarios a los conocidos, que son usados para la detección de agentes peligrosos CBR dentro de la cadena de suministro alimentario. Los dispositivos sensores desarrollados se caracterizan por su portabilidad, facilidad para ser usados y la posibilidad de ser reutilizables. Otro rasgo importante de los nuevos dispositivos es su diseño modular, los dispositivos están formados por varios módulos independientes (sensores, el dispositivo de comunicación, la informática de a bordo, etc.), conectado en red a través de conexiones generalizadas y estandarizadas a todo el sistema.

La red de dispositivos sensores está diseñada como una arquitectura centralizada, en la cual todos los datos de los dispositivos son enviados a un centro de mando. Un operador del sistema del SNIFFER también tiene la capacidad de controlar remotamente y dar órdenes a los dispositivos sensores que usan un interfaz específico del centro de mando. Los objetivos mencionados del proyecto se dirigen a alcanzar el objetivo final de proporcionar medios tecnológicos para mitigar un incidente posible de salud que impliquen

agentes peligrosos CBR en la cadena de suministro alimentario y aumentar la seguridad en todas las etapas que constituyen la cadena de suministro alimentario. El proyecto SNIFFER ofrece el objetivo claro de hacer que la cadena de suministro alimentario sea más segura mediante la aplicación tanto de los dispositivos disponibles en el comercio como una tecnología nueva, la tecnología de sensores basada en Polímeros Impresos Molecularmente (Molecular Imprinted Polymers – MIPs) en un entorno de red que comprende los sensores mencionados.

La principal innovación del proyecto SNIFFER consiste en la combinación de la tecnología MIPs con indicadores fluorescentes o colorimétricos aumentando así la fiabilidad del nuevo sistema de sensores SNIFFER. El sistema consiste en que varios indicadores colorimétricos o fluorescentes son conectados químicamente a derivados silanizados el tipo de los que se utilizan clásicamente como monómeros en preparaciones de MIPs. Estos precursores modificados son los puntos de partida de los sensores colorimétricos o fluorimétricos basados en MIPS. La detección en todos estos sensores mencionados se realiza de forma eléctrica, luminiscente o electroluminiscente. Por lo tanto son posibles varias tecnologías para el dispositivo de detección. Sin embargo la tecnología MIP no es la solución de todos los problemas en el diseño de sensores. En algunos casos los sensores tienen que ser desarrollados utilizando la reacción fluorescente de un sustrato dado, compuestos totalmente o en parte por sondas fluorescentes, con un metabolito objetivo, una toxina o una proteína. En este caso una buena solución es de tener dos o más estructuras fluorogénicas en la sonda fluorescente, que permiten a la valoración cuantitativa del metabolito seleccionado (Figura 24).

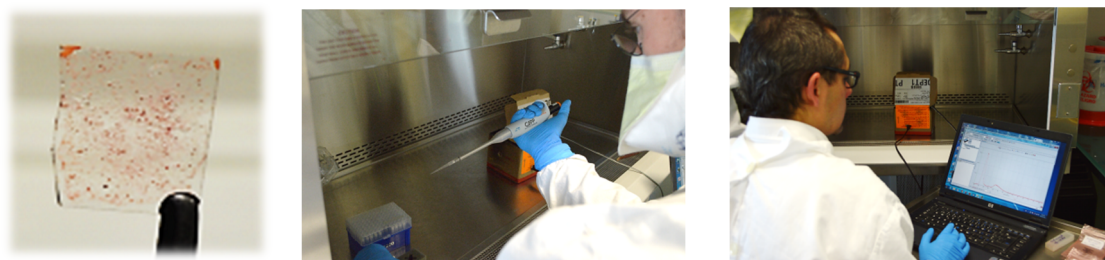


Figura 24. Sensores MIPs y empleo de sensores MIPs para monitorizar metabolitos.

En la Universidad de Burgos el grupo de trabajo ha sintetizado varias sondas fluorescentes para aplicaciones analíticas.⁷⁸ Estas sondas están bien diseñadas para la detección rápida de varios metabolitos tóxicos. Con estos antecedentes, desarrollamos nuevos receptores marcados con una o dos unidades de unos cuantos indicadores fluorescentes sumamente solvatocrómicos. De este modo, la discriminación selectiva fluorescente de analitos sumamente tóxicos se realiza mediante el resultado comparado de series de diferentes sondas fluorescentes. En muchos casos, la velocidad de generación, intensidad y duración de la fluorescencia es diferente, lo que puede verse a simple vista en cada caso. Este efecto ha sido estudiado en profundidad para distinguir diversos analitos tóxicos. A causa de la fácil funcionalización de las sondas fluorescentes, es posible hacer una serie en un soporte sólido que contenga una gama de unidades de señalización fluorescentes unidas a receptores selectivos para los metabolitos seleccionados, permitiendo así su detección rápida.

En estos sensores fluorescentes, los indenos en la periferia actúan como indicadores solvatocrómicos. La excitación selectiva del fluoróforo permite medir la fluorescencia del conjunto en presencia de una metabolito interferente. La funcionalización posterior de la periferia del soporte de sílica permite adaptar el entorno químico a la mejor recepción del metabolito seleccionado para ser detectado. El sistema es lo bastante flexible como para ser adaptado a entornos muy especializados (Figura 25).

⁷⁸ (a) Moreno, D., Cuevas, J. V., García-Herbosa, G., Torroba, T. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 3183-3185; (b) Moreno, D., Díaz de Greñu, B., García, B., Ibeas, S., Torroba, T. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 2994–2996; (c) Gómez, T., Moreno, D., Díaz de Greñu, B., Fernández, A. C., Rodríguez, T., Rojo, J., Cuevas, J. V., Torroba, T. *Chem. Asian J.* **2013**, 8, 1271–1278; (d) Díaz de Greñu, B., Moreno, D., Torroba, T., Berg, A., Gunnars, J., Nilsson, T., Nyman, R., Persson, M., Pettersson, J., Eklind, I., Wästerby, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 4125–4128; (e) Díaz de Greñu, B., García-Calvo, J., Cuevas, J. V., García-Herbosa, G., García, B., Busto, N., Ibeas, S., Torroba, T., Torroba, B., Herrera, A., Pons, S. *Chem. Sci.* **2015**, 6, 3757-3764.

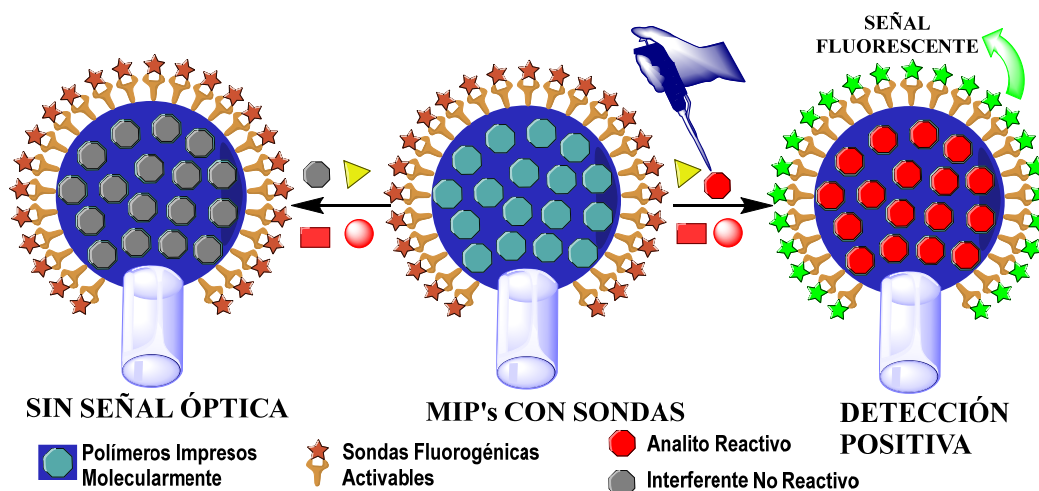


Figura 25. Explicación esquemática de la conexión entre sensores MIPS y sensores colorimétricos y fluorimétricos.

En su momento, pidieron participar al grupo de trabajo en el proyecto SNIFFER con el fin de suministrar las sondas fluorescentes necesarias para su utilización en combinación con polímeros molecularmente impresos con el fin de fabricar los nuevos sensores de naturaleza dual programados en el proyecto. Pronto comprendimos que aunque nuestras sondas fluorescentes fueran sumamente selectivas y eficaces por sí solas no tenían la estabilidad necesaria para la exposición prolongada a la luz y al aire que era un requisito necesario para los objetivos del proyecto. Es por lo que se comenzó a trabajar en una nueva clase de materiales fluorescentes que tenían la estabilidad química adecuada y al mismo tiempo eran fácilmente funcionalizables según los objetivos requeridos. Las perilenodiimidias⁷⁹ (PDIs) y perilenomonoimidias⁸⁰ (PMIs) han recibido una atención significativa debido a sus usos potenciales en sistemas moleculares optoelectrónicas⁸¹ y componentes básicos para construir sistemas artificiales fotosintéticos o supramoleculares,⁸² pero apenas han sido usadas en la búsqueda de sensores químicos.⁸³ Se han preparado perilenodiimidias tetrasustituidas derivatizadas con grupos (trimetoxisilil)propilo, que son sumamente fluorescentes y que han resultado útiles para la

⁷⁹ Dubey, R. K., Efimov, A., Lemmetyinen, H. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 778–788.

⁸⁰ Lewandowska, U., Zajaczkowski, W., Chen, L., Bouilliere, F., Wang, D., Koynov, K., Pisula W., Mullen, K., Wennemers, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12537–12541.

⁸¹ Samori, P., Fechtenkötter, A., Reuther, E., Watson, M. D., Severin, N., Müllen, K., Rabe, J. P. *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1317–1321.

⁸² Alexy, E. J., Yuen, J. M., Chandrasherker, V., Diers, J. R., Kirmaier, C., Bocian, D. F., Holten, D., Lindsey, J. S. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 14512–14515.

⁸³ Lu, X., Guo, Z., Feng, M., Zhu, W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2012**, *4*, 3657–3662.

preparación de composites estables para su empleo en agua o disolventes, dando lugar así a nuevos sensores químicos requeridos para el proyecto SNIFFER. Los composites fluorogénicos o fluorescentes han sido probados por el resto de los miembros del consorcio SNIFFER para ser empleados en el desarrollo y validación del sistema SNIFFER. Al tiempo que se preparaban los compuestos requeridos en el proyecto, han sido desarrolladas nuevas metodologías sintéticas para la preparación de PDIs y PMIs que han permitido obtener una gran flexibilidad sintética en el diseño de nuevas estructuras químicas que contienen PDIs y PMIs fluorescentes así como fluorogénicas.

A partir de ahora se desea utilizar esta nueva metodología sintética para el diseño y desarrollo de nuevos dispositivos moleculares fluorogénicos para la detección rápida de agentes sumamente peligrosos de tipo químico o biológico orientados sobre todo a toxinas bacterianas, explosivos caseros, armas químicas y drogas de abuso, que complementen las metodologías existentes. El grupo de investigación está especializado en la generación de métodos rápidos de detección orientados a analitos huérfanos, aquellos analitos que no tienen ningún método fácil detección rápida. Algunos de estos objetivos se están desarrollando actualmente a través de la realización de diferentes proyectos en colaboración con varios grupos internacionales. La detección de drogas de abuso se ha realizado a través de un proyecto concreto, subvencionado por la Dirección General de Tráfico, que se orienta a la detección cuantitativa de consumo de opiáceos en conductores, y pretendió llenar una necesidad urgente actual que no está resuelta. La detección de explosivos caseros, armas químicas y otros agentes químicos de alto riesgo, está en parte cubierto por un proyecto nacional, del Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016, del año 2015, ya concedido. El proyecto presentado es sumamente ambicioso y con unos objetivos de gran alcance científico y técnico. Aunque el Ministerio de Economía considera tanto al grupo que lo solicita como al proyecto solicitado como de buena calidad, ha decidido subvencionar solo una tercera parte de lo solicitado, por lo que algunos de los objetivos tienen necesariamente que esperar o buscar subvención complementaria.

La investigación actual del grupo en el entorno de proyectos nacionales:***1.- Detección y cuantificación fluorogénica de opioides en muestras biológicas.***

Entidad financiadora: Dirección General de Tráfico, área de Tráfico, movilidad y seguridad vial correspondientes al ejercicio 2015. Referencia: SPIP2015-01820. Este proyecto desarrolló nuevos dispositivos fluorogénicos capaces de detectar opiáceos en muestras biológicas para la detección de drogas, con el propósito de desarrollar nuevos dispositivos para la detección rápida de alcaloides en cualquier muestra, sean muestras de la calle o muestras biológicas con una orientación concreta a la detección de conjugados de morfina en orina. El proyecto desarrolla una nueva metodología para la detección rápida de alcaloides utilizando instrumentos portátiles que permiten una identificación y cuantificación rápida de la posesión o del consumo de drogas en conductores con el objeto de desarrollar tecnologías más rápidas y más eficientes de detección y cuantificación de la posesión o consumo de drogas alcaloides, especialmente opiáceos, en conductores. La investigación es potencialmente importante para el establecimiento de sistemas de detección avanzados en el caso de posesión o consumo de drogas opiáceas por conductores, de forma que puedan tomarse las medidas adecuadas de forma inmediata. El proyecto estuvo orientado hacia el desarrollo de métodos que describían en tiempo real y con gran sensibilidad la detección y cuantificación de drogas, dando lugar a la creación de un prototipo de dispositivo microfluídico fluorimétrico y su validación en el laboratorio y en entornos que simulan escenarios particulares.

2.- Desarrollo de nuevos dispositivos moleculares fluorogénicos para la detección rápida de agentes de origen químico o biológico de alto riesgo.

Entidad financiadora: Ministerio de Economía y Competitividad, Dirección General de Investigación Científica y Técnica, Subdirección General de Proyectos de Investigación, Referencia: CTQ2015-71353-R. Este proyecto desarrolla nuevos dispositivos fluorogénicos capaces de detectar contaminación de origen químico o biológico en alimentos y transporte y útiles para la detección de drogas. El foco de este proyecto está puesto en investigación básica y transversal en el campo de la defensa química y biológica. Este propósito está dividido en varios objetivos y sus logros

esperados, como el desarrollo de nuevas sondas fluorogénicas, el desarrollo de nuevos materiales fluorogénicos para la detección y discriminación en aire de explosivos caseros basados en oxidantes, el desarrollo de nuevos dispositivos fluorogénicos para la detección y discriminación de drogas, el desarrollo de materiales fluorogénicos útiles para la detección de explosivos caseros y drogas, y su validación utilizando prototipos de sensores en diferentes entornos. El proyecto está en curso de realización.

3.- Desarrollo de materiales fluorogénicos nanoestructurados para la detección de toxinas agroalimentarias de origen bacteriano y estudio de su acción celular.

Entidad financiadora: Junta de Castilla y León, Consejería de Educación, Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Referencia: BU051U16. Este proyecto desarrolla nuevos dispositivos fluorogénicos moleculares capaces de detectar contaminantes peligrosos de origen biológico en alimentos. El foco del proyecto está puesto en la investigación en seguridad alimentaria a través de un diseño multidisciplinar, con el propósito de desarrollar nuevos dispositivos moleculares para la detección rápida de toxinas alimentarias de origen bacteriano de gran impacto en la vida de personas y animales. El reto específico es el desarrollo de nuevos métodos para la detección de toxinas de origen biológico, utilizando protocolos de detección e identificación rápida en caso de contaminación accidental o ataque terrorista. El objetivo es el desarrollo de nuevas soluciones para la determinación rápida de la existencia de contaminantes de alto riesgo de origen biológico así como la evaluación del nivel de contaminación. El impacto esperado es el desarrollo de tecnologías más rápidas y eficientes para la detección y monitorización de la exposición y contaminación con toxinas biológicas. El proyecto tiene un objetivo preciso que es incrementar la seguridad de alimentos y su transporte mediante la detección en tiempo real de contaminantes biológicos peligrosos. El objetivo es alcanzable a través del desarrollo y aplicaciones de nuevas tecnologías orientadas a la seguridad alimentaria, obtenidas mediante investigación avanzada en toxinas peligrosas introducidas de forma accidental o intencionada. La aspiración última es proponer investigación avanzada en defensa química y biológica que dé lugar a nuevas oportunidades para la mejora de salud en diagnóstico y seguridad alimentaria y que ayuden a proteger a la población en caso de contaminación accidental o intencionada. El proyecto está en curso de realización.

Como consecuencia de todo lo anterior, el trabajo de la presente tesis se centra en el diseño, síntesis y caracterización de nuevos derivados basados en

perilenodiimidadas con el propósito de ser utilizadas en aplicaciones biológicas y en la creación de nuevos sensores químicos, como parte del desarrollo de los proyectos señalados.

OBJETIVOS

1.- Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidas sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el mercado de células.

1.1.- Diseño y optimización de síntesis de derivados de PDI simétricas.

1.2.- Diseño y síntesis de PDI simétricas orientadas al estudio de células.

1.3.- Diseño y síntesis de PDI disimétricas.

1.4.- Caracterización de las PDI obtenidas en cada apartado.

1.5.- Estudio de las propiedades ópticas de las PDI obtenidas en cada apartado.

1.6.- Pruebas en células.

2.- Diseño y síntesis de perilenodiimidas expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de su asociación.

2.1.- Diseño y síntesis del sistema expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.

2.2.- Diseño y síntesis de un sistema semi-expandido π partiendo de un derivado monosustituido en posición bahía del PDI.

2.3.- Caracterización de los compuestos con sistema semiexpandido y expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.

2.4.- Propiedades ópticas de la PDI disustituidas con sistema semiexpandido y expandido π en posición bahía.

2.5.- Estudios de asociación.

3.- Diseño y síntesis de perilenodiimidas expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.

3.1.- Diseño y síntesis de un sistema expandido π en posición bahía de derivados de PDI solubles en agua.

3.2.- Caracterización de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.

3.3.- Propiedades ópticas de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.

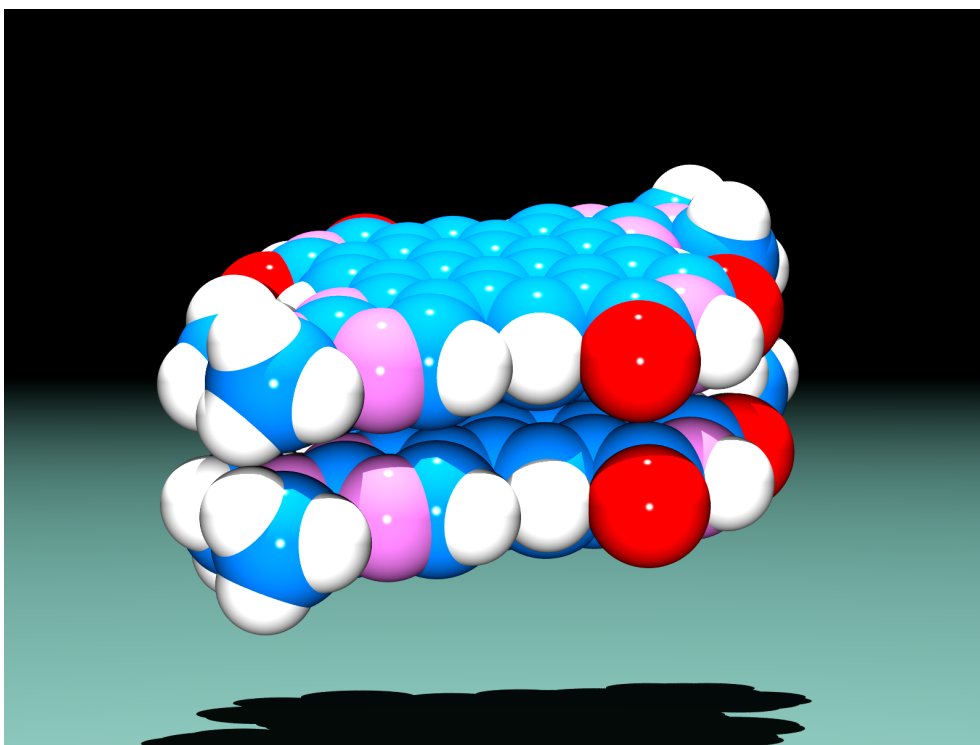
3.4.- Estudios de asociación.

3.5.- Estudios de ensamblaje supramolecular en presencia de cucurbituril CB[7].

3.6.- Estudios de asociación supramolecular en presencia de nitrocompuestos: Detección de explosivos (TNB y TNT).

3.7.- Pruebas en células.

3.8.- Estudios de asociación frente a ADN cuádruple.



CAPÍTULO 1.

**DESARROLLO DE NUEVOS MÉTODOS DE SÍNTESIS DE
PERILENODIIMIDAS SUSTITUIDAS EN POSICIONES BAHÍA
ALTAMENTE FLUORESCENTES PARA EL MARCADO DE
CÉLULAS.**

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, nuestro grupo de investigación se ha interesado por el desarrollo de metodologías adecuadas para la síntesis de compuestos basados en (PDI). En este capítulo se explicará el diseño, síntesis, caracterización y propiedades ópticas de derivados de la perilenotetracarboxil-3,4:9,10-diimida funcionalizados en las posiciones bahía para la formación de PDIs simétricos y asimétricos.

Los derivados de la perilenotetracarboxil-3,4:9,10-diimida destacan como uno de los grupos más interesantes de materiales aceptores de electrones, gracias a su intensa absorción en el visible y su gran movilidad electrónica.⁸⁴ Su estructura aromática rígida favorece las interacciones intermoleculares y les imparte carácter semiconductor tipo n, muy útil para aplicaciones optoelectrónicas⁸⁵ y fotovoltaicas.⁸⁶

La manera más directa para sintetizar las perilenodiimidas (PDI) es utilizando el perileno dianhídrido comercial (PDA) como reactivo de partida (Figura 1). Posteriormente, las reacciones de imidación con aminas alifáticas o aromáticas proporcionan colorantes o pigmentos de perileno solubles con altos rendimientos y métodos de purificación sencillos. La solubilidad de las perilenodiimidas resultantes varía en función de los grupos imida. Las cadenas de alquilo pequeñas o lineales conducirán a PDIs bastante solubles en disolventes orgánicos,⁸⁷ un método descrito por primera vez por Langhals y sus colaboradores⁶⁹ en la década de 1990.

⁸⁴ Kong, X., Gao, J., Ma, T., Wang, M., Zhang, A., Shi, Z.; Wei, Y. *Dye. Pigment.* **2012**, 95 (3), 450–454.

⁸⁵ (a) Newman, C. R., Frisbie, C. D., da Silva Filho, D. A., Brédas, J. L., Ewbank, P. C., Mann, K. R. *Chem. Mater.* **2004**, 16, 4436–4451; (b) Sun, Y., Liu, Y., Zhu, D. *J. Mater. Chem.* **2005**, 15, 53–65; (c) Zhan, X., Facchetti, A., Barlow, S., Marks, T. J., Ratner, M. A., Wasielewski, M. R., Marder, S. R. *Adv. Mater.* **2011**, 23, 268–284; (d) Usta, H., Facchetti, A., Marks, T. J. *Acc. Chem. Res.* **2011**, 44, 501–510.

⁸⁶ (a) Hinze, G., Métivier, R., Nolde, F., Müllen, K., Basché, T. *J. Chem. Phys.* **2008**, 128, 124516; (b) Dill, M. Baier, M. C., Mecking, S., Wöll, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 12435–12438.

⁸⁷ Langhals, H. *Heterocycles*, **1995**, 40, 477–500.

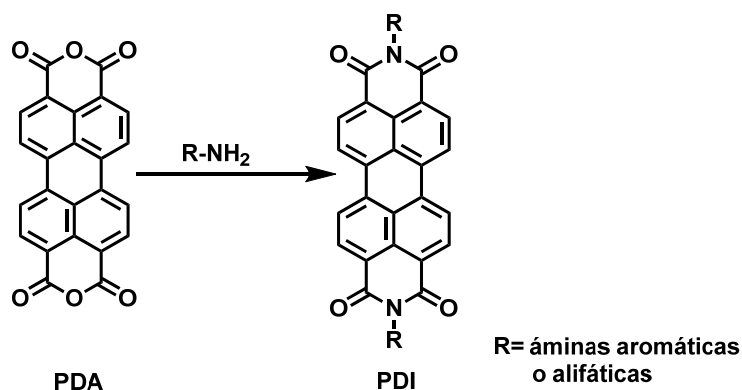


Figura 1. Síntesis general del esqueleto de PDI.

Sin embargo, en solución, todos estos colorantes de PDI presentan espectros de absorción similares, lo que indica que las propiedades ópticas de los materiales de perileno no se ven afectadas por la naturaleza de los sustituyentes de imida.⁵⁵ Esto es debido a que se mantiene la planariedad del núcleo de perileno ocasionado por la presencia de los nodos en los niveles de HOMO y LUMO en los nitrógenos de imida, lo que reduce al mínimo el acoplamiento entre las unidades de PDIs y los sustituyentes en la posición imídica.⁵⁵

Por otro lado, los PDIs pueden ser funcionalizados en otras posiciones que sí logran tener una influencia significativa en las propiedades químicas y físicas, pues conducen a la distorsión del núcleo de perileno⁸⁸ y esto puede determinar qué campo de aplicación es más adecuado. Debido a los elementos de simetría del perileno, se identifican tres posiciones diferentes (Figura 2): peri, orto y bahía.⁸⁹

⁸⁸ Dubey, R. K.; Westerveld, N.; Grozema, F. C.; Sudhölter, E. J. R.; Jager, W. F. *Org. Lett.* **2015**, *17* (8), 1882–1885.

⁸⁹ Pagoaga, B.; Giraudet, L.; Hoffmann, N. *European J. Org. Chem.* **2014** (24), 5178–5195.

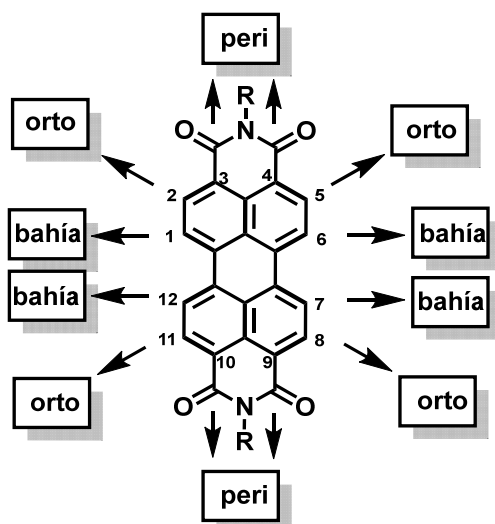


Figura 2. Perileno tetracarboxi-3,4:9,10-diimida con las posiciones numeradas.

De éstas, la más comúnmente utilizada es la posición bahía, que ha representado un gran avance en la química del perileno. En los últimos años, se han desarrollado métodos sintéticos apropiados para funcionalizar estas posiciones. Entre éstos se encuentra la sustitución selectiva de hasta cuatro posiciones bahía (1, 6, 7, 12), tomando ventaja las reacciones de halogenación.⁹ Estos perilenos dianhídridos pueden reaccionar primero con los halógenos bajo la influencia de disolventes ácidos para formar los compuestos halogenados en las posiciones bahía del PDI, luego producirse las reacciones de imidación en las posiciones peri del perileno, método reportado a finales de los 80 por Seybold y sus colaboradores en BASF.⁹⁰ Posteriormente, se pueden realizar sustituciones nucleofílicas y reacciones catalizadas por metal. Los principales productos de sustitución de los átomos de halógeno fueron derivados de perileno simétricos di- o tetra-sustituidos⁵⁵ (Figura 3).

La introducción de grupos muy voluminosos en las posiciones bahía del perileno puede suprimir en gran medida el apilamiento (π stacking) que sufren estos compuestos debido a la repulsión estérica entre esos grupos. Como consecuencia de ello, el centro de la molécula de perilenodiimida se torsiona, aparece un cierto ángulo de torsión entre las dos unidades de naftaleno monoimida que lo constituyen, lo que evita la formación de agregados por

⁹⁰ (a) Syebold, G., Wagenblast, G. *Dyes. Pigm.* **1989**, 11, 303–317; (b) Rogovik, V. I., Gutnik, L. F. *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **1988**, 24, 635–639.

interacciones π - π y aumenta la solubilidad del compuesto y con ello su procesabilidad, además de modificar su fluorescencia y coloración.⁹¹

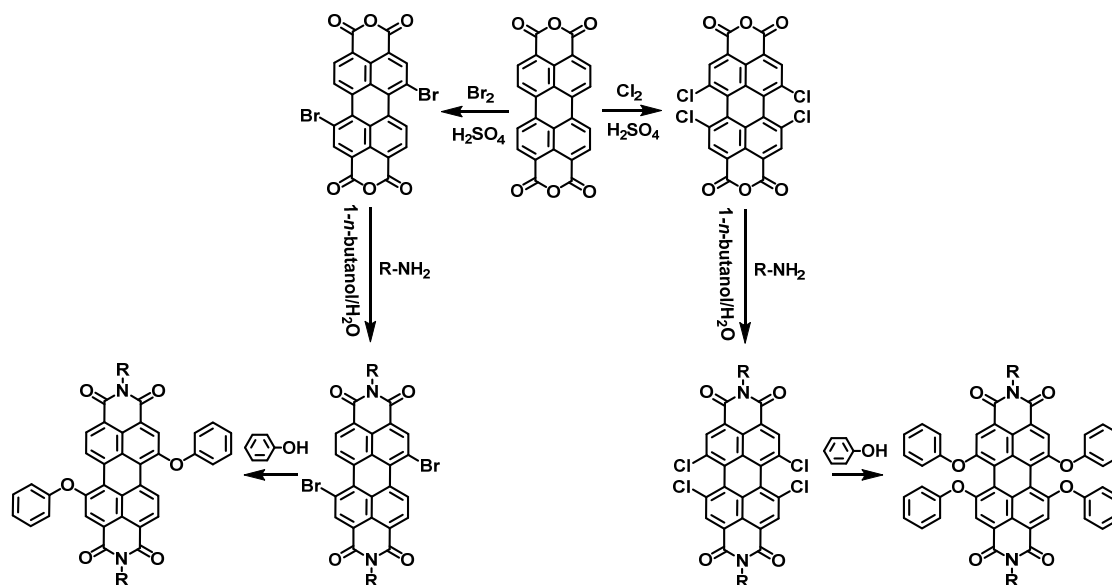


Figura 3. Preparación de PDI con varios sustituyentes en posición bahía.

Asimismo, estas posiciones se ven afectadas por la naturaleza de los grupos que se están introduciendo. Al sustituir las posiciones bahía del perileno con grupos hidrofóbicos se produce un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción y emisión del perileno.⁹² Un ejemplo de ello son los PDIs con cuatro grupos fenoxi en las posiciones bahía, estos exhiben absorción desplazada batocromicamente (más de 50 nm) en comparación con PDIs no sustituidos, pero conservan su alta fluorescencia en disolución (el rendimiento cuántico de fluorescencia de tetrafenoxi-PDIs permanece cerca de la unidad).⁹³ Así se obtienen cromóforos que absorben prácticamente en todo el espectro del visible y parte del IR cercano.⁹⁴ Mientras que la introducción de grupos hidrofílicos no modifica apenas el desplazamiento de las bandas de absorción respecto al perileno sin sustituyentes.⁹⁴

⁹¹ Shoaee, S., Clarke, T. M., Huang, C., Barlow, S., Marder, S. R., Heeney, M., McCulloch, I., Durrant, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 12919–12926.

⁹² Quante, H., Müller, K. *Angew Chem.* **1995**, 34:1323–1325.

⁹³ Li, C., Wonneberger, H. *Adv. Mater.* **2012**, 24 (5), 613–636.

⁹⁴ (a) Li, C., Liu, M. Y., Pschirer, N. G., Baumgarten, M., Müllen, K. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 6817–6855; (b) Figueira-Duarte, T. M., Müllen, K. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 7260–7314; (c) Grimsdale, A. C., Müllen, K. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, 199, 1–82; (d) He, F., Yu, L. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, 2, 3102–3113; (e) Brabec, C. J., Heeney, M., McCulloch, I., Nelson, J. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 1185–1199.

La síntesis de PDI se ha basado mayoritariamente en el diseño de PDI simétricos, sin embargo, en los últimos años, ha cobrado interés el estudio de PDI no simétricos con diferentes sustituyentes en cada uno de los grupos imida. Los intentos de obtener compuestos de este tipo a partir de PDA con adición simultánea o secuencial de dos aminas diferentes normalmente no tienen éxito debido a diferencias en la reactividad de las aminas con PDA. Por lo general, sólo se observan rastros de los productos deseados, siendo las especies dominantes los dos PDI simétricos.⁹⁵ Por consiguiente, los PDI de este tipo se suelen sintetizar utilizando métodos donde se involucran pasos más complejos.⁸⁸ Uno de estos métodos se basa en hidrólisis parcial de PDIs simétricas a compuestos de monoanhídrido de perileno monoimida, una reacción que da un rendimiento de 50%. La imidación del anhídrido imida mixto con una segunda amina o anilina proporciona la PDI asimétrica deseada (Figura 4), método reseñado por Iverson y colaboradores⁹⁶ a finales de los noventa. Una de las aplicaciones más relevantes para este tipo de PDI asimétricas es como estabilizador de la G-quadruplex del ADN.⁹⁷

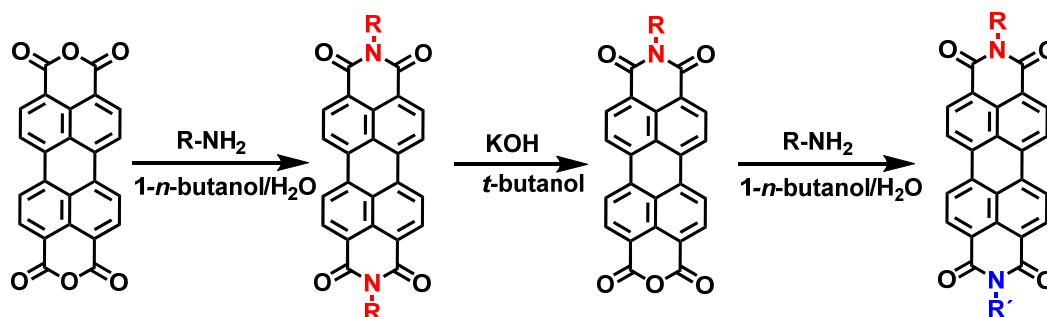


Figura 4. Método para la preparación de PDI asimétrico con diferentes sustituyentes en posición peri.

Sin embargo, pocos son los trabajos en los que se describe la síntesis de PDIs asimétricas en posición bahía en donde los derivados disustituido y monosustituido del PDI sea el centro del estudio. Los grupos introducidos reseñados por la literatura son generalmente fenoles pero, para su introducción, es fundamental la presencia de un grupo que retire electrones del resto fenol para disminuir su capacidad nucleofílica y solo sustituya una de las posiciones con un halógeno, dando así PDIs asimétricas sustituidas con fenoxi

⁹⁵ Nagao, Y. *Prog. Org. Chem.* **1997**, 31, 43–49.

⁹⁶ Iverson, I. K., Tam-Chang, S.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 5801–5802.

⁹⁷ (a) Dincalp, H.; Avcibasi, N.; Icli, S. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2007**, 185 (1), 1–12; (b) Dincalp, H.; Kizilok, Ö. Hakli, Birel, S. Icli. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2012**, 235, 40–48.

en posiciones bahía⁹⁸ (Figura 5). Una de las aplicaciones de este tipo de PDI es en la fotoelectrónica orgánica.⁹⁸

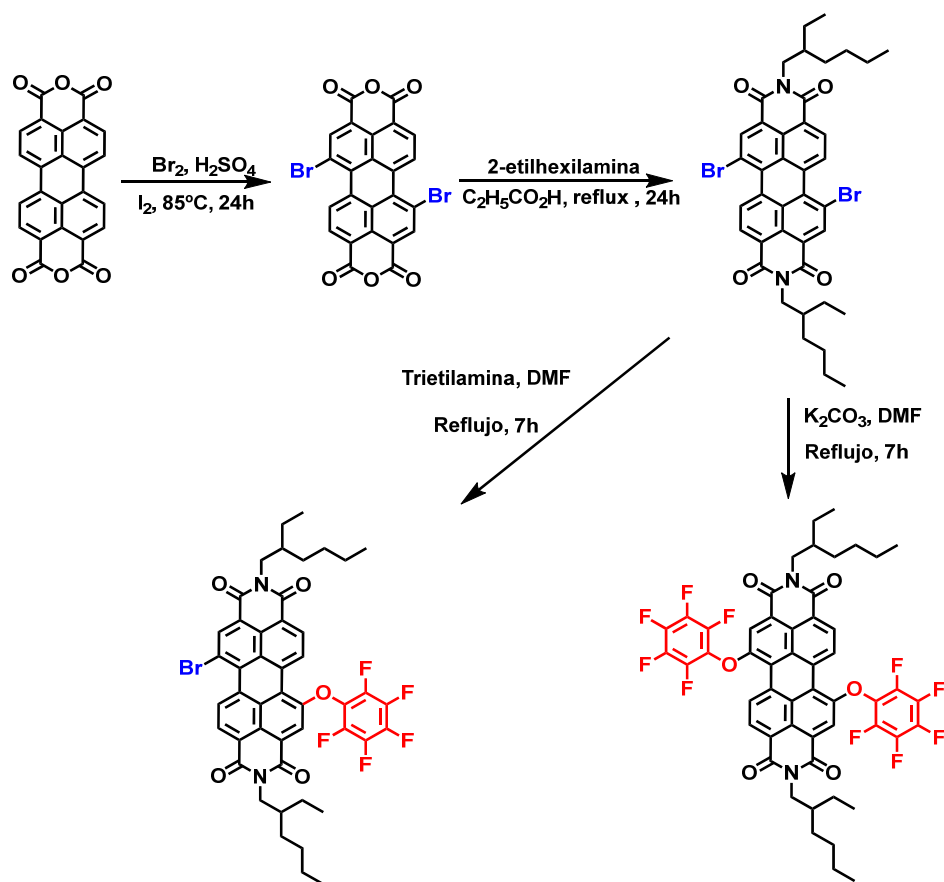


Figura 5. Ejemplo de síntesis de PDI asimétrico en posición bahía.

En los últimos años ha aumentado el interés en el diseño y síntesis de los derivados de PDI, con el fin de aplicarlos en el campo de imágenes celulares. La clave en la imagen celular es tener un marcador con alta especificidad que permita comprender y rastrear procesos en detalle.⁹⁹ Las técnicas de bioimagen se basan principalmente en la capacidad de fluorescencia que tienen algunas moléculas presentes en los organismos de los seres vivos. En los tejidos, algunas moléculas y células tienen propiedades fluorescentes. Sin embargo, para visualizar aquellas que no son fluorescentes, se utilizan proteínas fluorescentes, especialmente de la medusa y el coral.

⁹⁸ Zhao, H., Zhang, Y. Y., Xu, H., He, Z. M., Zhang, Z. L., Zhang, H. Q. *Tetrahedron* **2015**, 71 (40), 7752–7757.

⁹⁹ Xu, Z., He, B., Shen, J., Yang, W., Yin, M. *Chem. Commun.* **2013**, 49 (35), 3646-3648.

También se incorporan anticuerpos a los que previamente se les ha tratado con un colorante fluorescente.

Para el estudio de estas propiedades fluorescentes en las células, la técnica más adecuada es la microscopía confocal, que es una forma de microscopía de fluorescencia de sección óptica, que permite obtener imágenes de secciones de un objeto grueso, una célula o tejido, a través de la realización de cortes digitales para observar el interior. Los colorantes y las sondas fluorescentes son componentes clave en el estudio de muestras biológicas mediante microscopía de fluorescencia.¹⁰⁰ Mientras que muchos colorantes fluorescentes disponibles comercialmente han sido utilizados de manera efectiva en microscopía confocal, la mayoría presentan una utilidad muy limitada por lo que tienen escasa aplicación en sistemas de detección avanzados.

Las características luminiscentes de las estructuras programadas en el capítulo los hacen excelentes candidatos para su utilidad en bioimagen. La combinación de cromóforos de perilenodiimidias permite obtener estructuras multicomponentes que pueden tener una alta eficacia. Estas estructuras sintetizadas pueden ser de gran utilidad como sondas fluorescentes en microscopía de imagen confocal a través de su internalización y localización en células vivas, por lo que se estudiará su potencial aplicación en bioimagen para resolver problemas de detección que no pueden resolverse mediante las técnicas ordinarias. Se pretende utilizar estos nuevos materiales orgánicos en investigación biomédica generando materiales que puedan ser empleados como quimiosensores fluorescentes intracelulares.

Por esta razón, en este capítulo nos centraremos en el diseño de PDI simétricas y disimétricas para su aplicación en la utilización de marcadores a nivel celular. Con este objetivo las sondas basadas en PDI que se diseñaron presentan modificaciones en las regiones bahía y peri, la primera con grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, la segunda con grupos como trialcóxidosilanos, mupirocina y testosterona, con el fin de mejorar su solubilidad y fluorescencia en medios más polares y, de esta forma, poder aprovechar sus propiedades ópticas y físicas a nivel celular. Además, se comprobará que colorantes resultan ser biocompatibles y funcionan en células vivas, para ello, se realizarán estudios de fluorescencia de imagen en microscopía.

¹⁰⁰ Collado, D., Remón, P., Vida, Y., Najera, F., Sen, P., Pischel, U., Perez-Inestrosa, E. *Chem. Asian J.* **2014**, *9*, 797-804.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La primera parte del trabajo consistió en funcionalizar en la posición imida el 1,6,7,12-tetracloro-PDA con una amina que posea una posición anclable, la 4-Boc-aminopiperidina, de forma que al variar los grupos imida, se pueda cambiar la solubilidad y las propiedades del PDI. También se funcionalizaron las posiciones bahía del PDI con la introducción de dos grupos diferentes de especies aceptores de carga (GAC, grupo atractor de electrones) que afectan drásticamente a las propiedades ópticas y electrónicas de las PDIs, obteniéndose así las PDIs disimétricas.

Diseño y síntesis de derivados de PDI simétricas

La estrategia sintética llevada a cabo para la obtención de las moléculas objetivo, donde nos centraremos en primer lugar en las PDI simétricas, se resume en el siguiente esquema de síntesis de la figura 6.

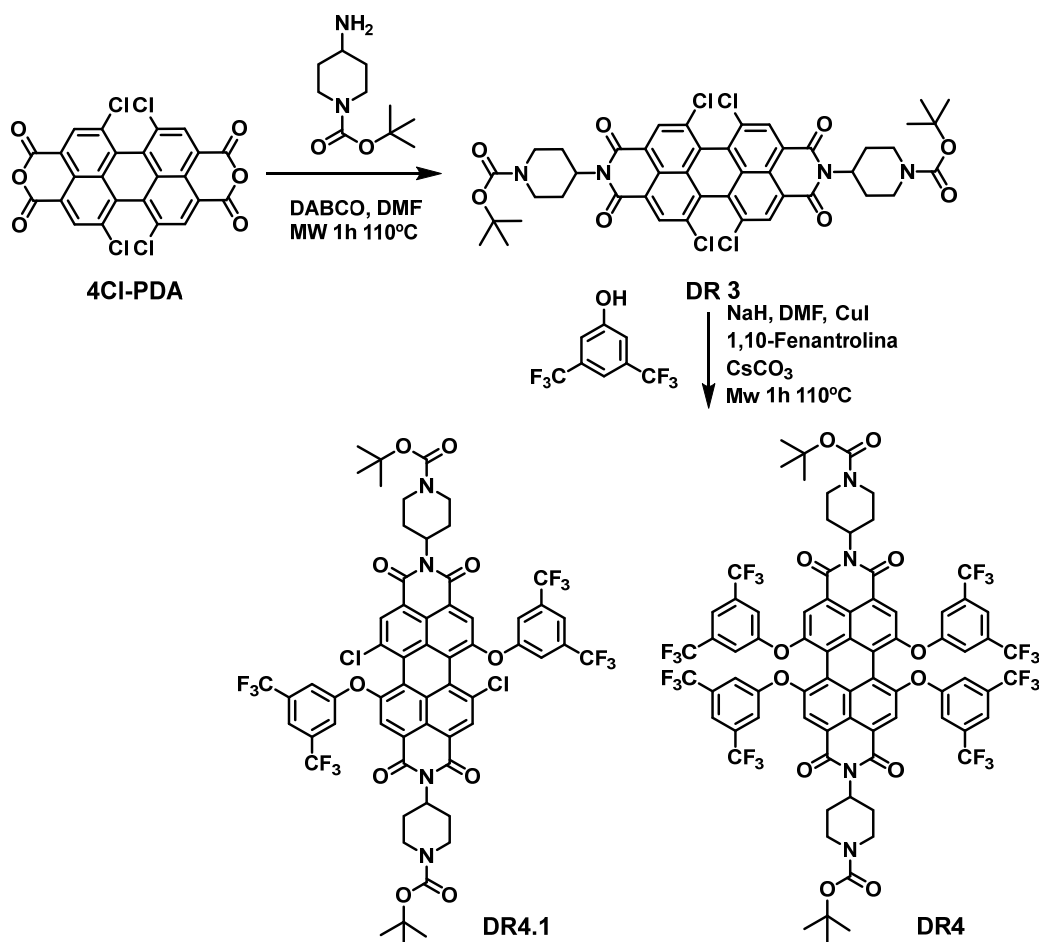


Figura 6. Esquema de reacción de derivados de perilendiimida simétricos.

El derivado tetraclorado de perilendiimida, **DR3**, ha sido sintetizado a partir de 1,6,7,12-tetracloroperileno-3,4:9,10-tetracarboxil dianhidrido comercial **1**. La imidación de **1** con 4-Boc-aminopiperidina es llevada a cabo en condiciones ya optimizadas en el laboratorio, con un 95% de rendimiento. La sustitución nucleofílica de hasta 4 átomos de cloro por grupos 3,5-bis(trifluorometil)fenoxi da los compuestos **DR4** y **DR4.1**.

Optimización de las condiciones de reacción

Se optimizaron las condiciones para la obtención del PDI tetrasustituido, pues sería el producto de partida para la siguiente serie de familia que se sintetizaría. Se llevaron a cabo transformaciones altamente selectivas con NaH y Cul en DMF. La presencia de NaH facilita la ionización del fenol y el uso de carbonato de cesio en exceso aumenta el carácter nucleófilo de los aniones derivados de 3,5-bis(trifluorometil)fenol. Por otro lado, para completar la

reacción rápidamente, se utilizaron como agentes complejantes para la estabilización del Cu(I) presente en la reacción, la 1,10-fenantrolina y la 4,4-dimetoxi-2,2-bipiridina, obteniendo un mejor rendimiento con la 1,10-fenantrolina (Tabla 1). Por último, se tomó en cuenta la relación molar de 1:4 para el tetracloro-PDI y el fenol utilizado para asegurar la sustitución de los cuatro grupos cloro por un mecanismo de eliminación-adición.

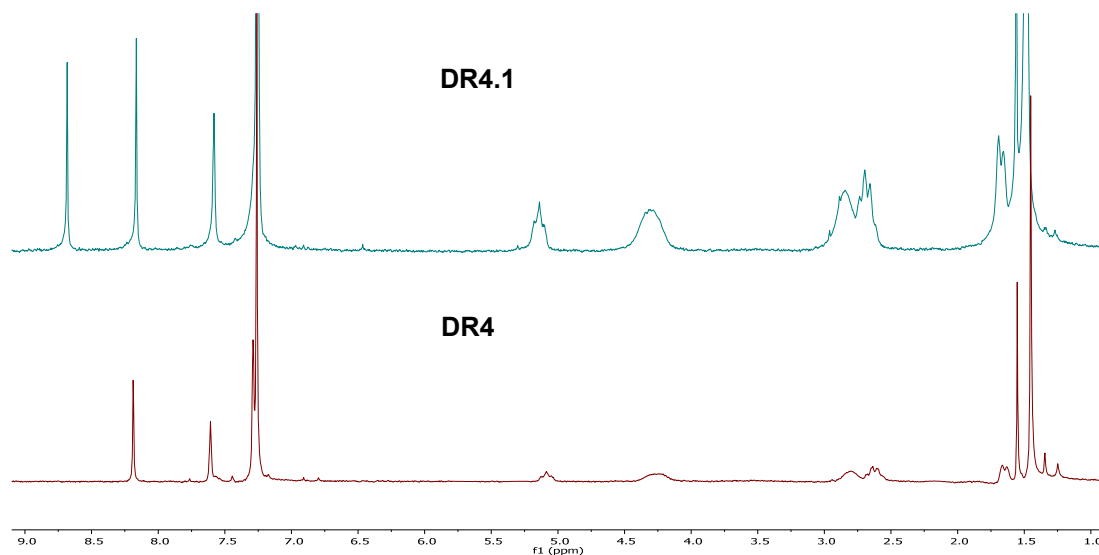
Se realizaron otros experimentos para optimizar esta transformación y, en particular, para aumentar la conversión, entre ellos el tiempo de reacción. Utilizando las condiciones descritas en la entrada 1 se aumentó el tiempo de reacción a 2 y 3 horas, sin obtener cambios significativos en la cromatografía de placa fina (TLC), observándose una descomposición del compuesto deseado cuando el tiempo de reacción es 4 horas o se aumenta la temperatura a 180 grados (entrada 3). Bajo las condiciones descritas en la entrada 1, se aisló el **DR4** con un rendimiento del 51%. Los intentos adicionales para mejorar el rendimiento aumentando adicionalmente las cantidades de CuI y del agente complejante no tuvieron éxito (entrada 2). Como disolvente se utiliza DMF, no se indican sus equivalentes.

Tabla 1. Condiciones de reacción para la sustitución nucleofílica de grupos hidrofóbicos en las posiciones bahía del PDI.

Ent	Reactivos	Equivalentes	T	Temp.	Rend 4	Rend 4.1
1	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:DMF:CuI: <i>o</i> -fenantrolina:CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1h	110°C	51%	29%
2	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:DMF:CuI: <i>o</i> -fenantrolina:CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:3:6:12:1	1h	110°C	-	-
3	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:DMF:CuI: <i>o</i> -fenantrolina:CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1h	180°C	-	-
4	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:DMF:CuI:4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina:CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1h	110°C	12%	40%

Caracterización de los compuestos

La estructura de los compuestos **DR4** y **DR4.1** quedaron confirmadas mediante las técnicas habituales de caracterización en síntesis orgánica. Los espectros de RMN de protón (Figura 7) presentan características similares, en la zona entre 8.16 ppm y 7.58 ppm correspondientes a los protones unidos a los fenoles introducidos, mientras que entre 7.26 y 7.25 ppm se muestran las señales que corresponden a los protones en posición *peri* del PDI. En campo alto, entre 1.48 y 5.18 ppm, se ven las señales de los metilos del grupo boc en torno a 1.48 ppm y que integra 18 protones, así como la señal característica de estos PDI en torno a 5.10 que integra dos protones y corresponde al -CH- unido al átomo de nitrógeno del grupo imida.

**Figura 7.** Comparación de los espectros de 1H-RMN de los compuestos **DR4** y **DR4.1**.

El espectro de carbono 13 de los compuestos **DR4** y **DR4.1** (Figura 8) muestra cuatro señales de baja intensidad entre 162.7 ppm y 154.4 ppm, correspondientes a los grupos carbonilo del PDI, del grupo boc y las señales C-O del fenol. Entre 135.8 y 118.6 ppm se observan los carbonos del esqueleto de PDI y fenol, exceptuando la señal a 124.7 que corresponde al carbono cuaternario unido a los átomos de flúor; en esta zona se aprecia un mayor apilamiento de las señales para el **DR4**. Por último, a campo alto, de 44.3 ppm a 28.3 ppm, se observan las señales CH₂ y CH₃ del grupo boc y piperidina.

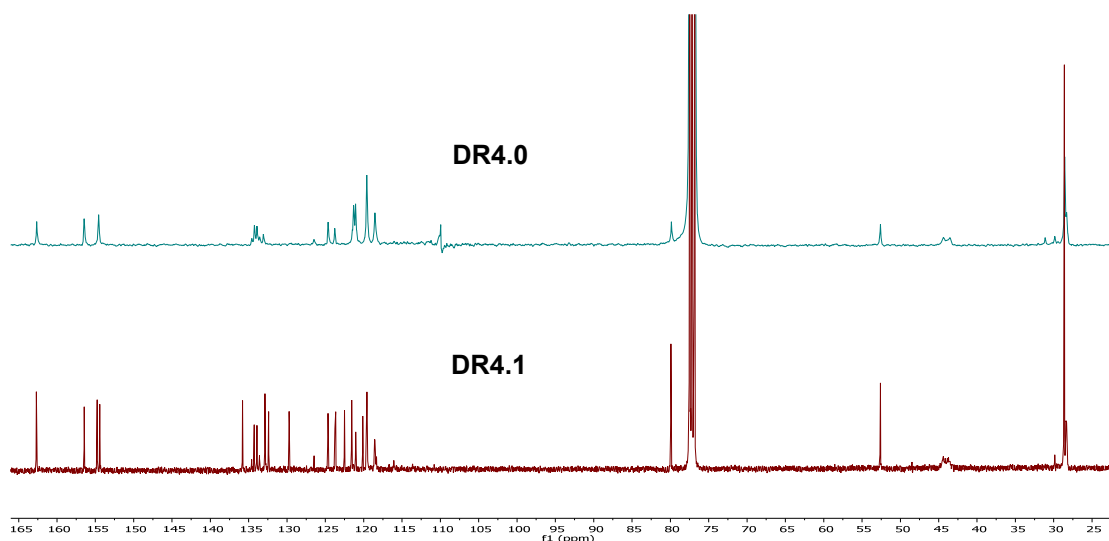


Figura 8. Comparación de los espectros de carbono 13 para los compuestos **DR4** y **DR4.1**.

También se realizaron los espectros de ¹⁹F, los cuales presentaron tres señales -63.33, -63.49 y -63.70 ppm (Figura 9) que muestran la multiplicidad del enlace C-F. Los espectros FTIR muestran las bandas características del grupo imida a 1668 cm⁻¹ y la señal característica del grupo carbonilo a 1700 cm⁻¹ para los dos compuestos. Finalmente, la estructura de los compuestos quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución (masa exacta del ión molecular contrastada con un patrón).

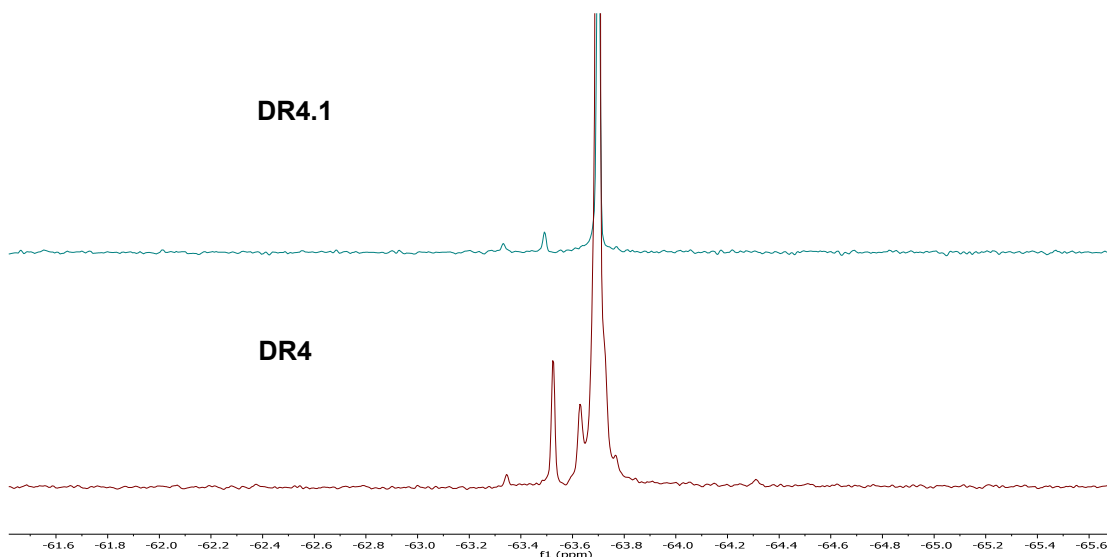


Figura 9. Comparación de los espectros de ^{19}F para los compuestos **DR4** y **DR4.1**.

A continuación se prepararon una serie de sondas, tomando **DR4** como producto de partida, que fueron ancladas sobre sílica y, posteriormente, serían empleadas en la detección de enterotoxinas en colaboración con otros grupos de investigación que poseen los recursos metodológicos necesarios para desarrollar esta parte de la investigación (parte del proyecto SNIFFER). En la figura 10 se presenta la ruta de síntesis empleada.

En primer lugar, desprotegemos el cromóforo **DR4** disolviéndolo en diclorometano (DCM) y agregando ácido trifluoroacético (TFA) a la solución a temperatura ambiente, dejándolo agitar durante 2 horas. Mediante la caracterización de **DR6** por RMN de protón se observó la eliminación de la señal correspondiente al grupo boc en 1.48 ppm (Figura 11). También fue corroborada la desprotección del compuesto por la espectrometría de masas, realizada mediante la técnica MALDI. Observándose el ión $[\text{M}]^+$ (m/z) = 1469.2139. Posteriormente, el compuesto **DR6** se hace reaccionar secuencialmente con (3-isocianatopropil)trióxido de silano que dará los correspondientes compuestos mono (**DR7.1**) y bis-sililados (**DR7**). Seguidamente serán ancladas a la superficie de la correspondiente matriz inerte de sílice por medio de grupos enlazantes (procedimiento que será realizado en otro grupo de investigación dentro de las tareas del proyecto SNIFFER). Así, moléculas silanizadas apropiadamente pueden ser inmovilizadas sobre la superficie de sílice. La formación del grupo ureido en el aducto frecuentemente aumenta la solubilidad de los fluoróforos orgánicos en

disolventes polares, a concentraciones útiles para la funcionalización de las superficies.

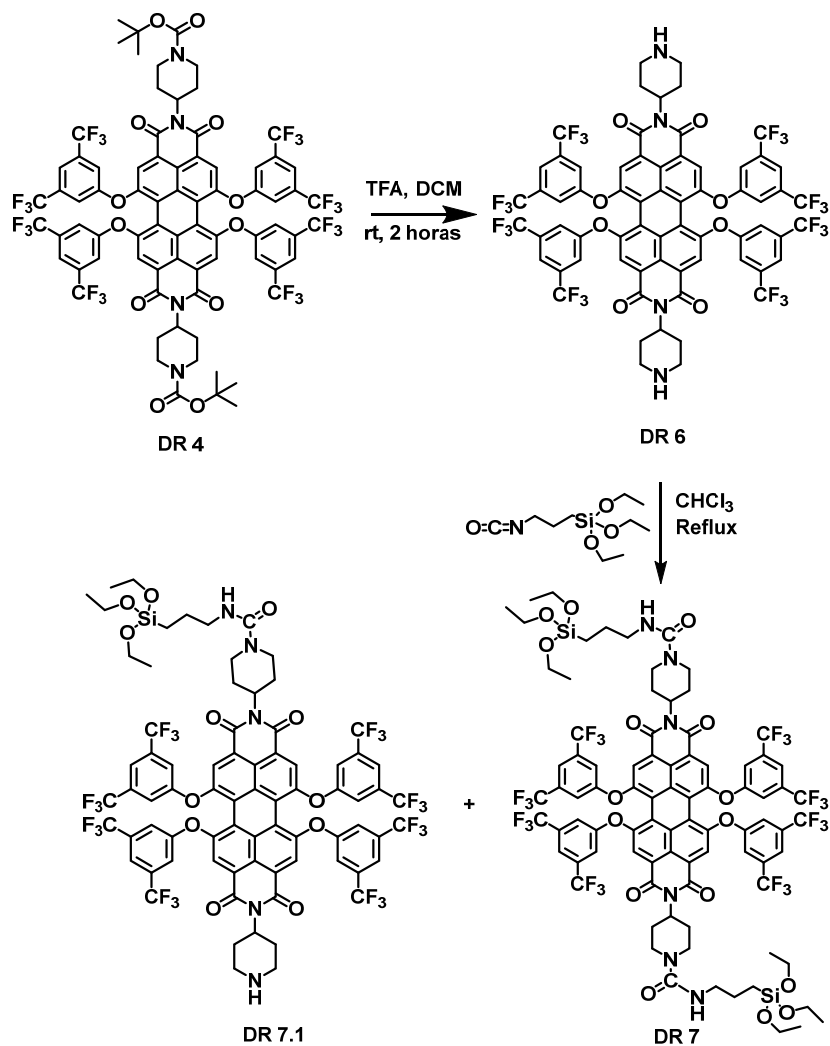


Figura 10. Ruta de síntesis empleada para la formación de trietoxisilil-derivados de las PDI.

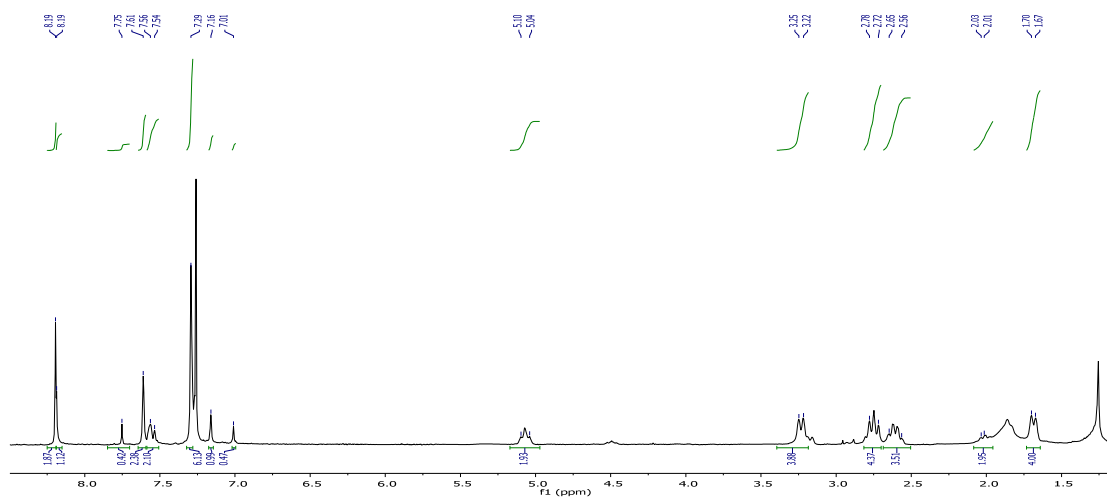


Figura 11. Espectro de RMN de protón del compuesto DR6.

El espectro de resonancia magnética nuclear de protón de **DR7** muestra las señales de los hidrógenos aromáticos como singletes a 8.18, 7.61 y 7.29 ppm, mientras que el **DR7.1** muestra las señales en esas mismas posiciones pero en forma de doblete debido a que se rompe la simetría de la PDI en una de las posiciones peri. Es característica la señal del CH- unido al nitrógeno imídico, que aparece como multiplete entre 5.14-5.08 ppm. Finalmente, en campo alto aparecen las señales de cadenas alquílicas del grupo trietoxisilano y de la piperidina en donde se observa mayor multiplicidad de señales en **DR7.1** por la formación del PDI disimétrico (Figura 12).

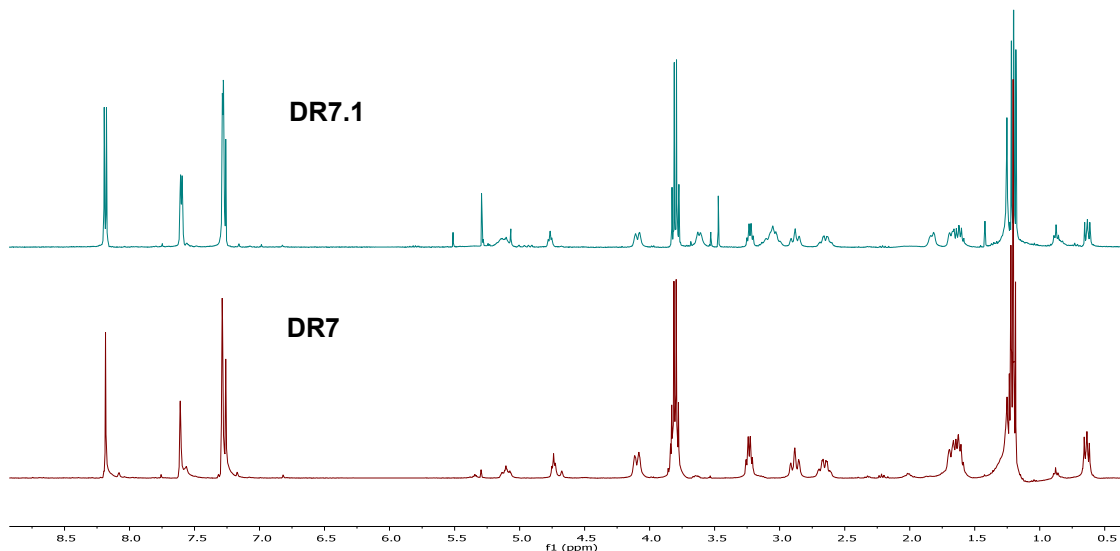


Figura 12. RMN de protón de los compuestos DR7 y DR7.1.

La estructura de estas moléculas quedó también confirmada mediante resonancia magnética nuclear de carbono 13 (figura 13). Para ambos compuestos se observan cuatro señales a desplazamientos químicos entre 162 y 154 ppm correspondientes a los grupos C=O y C-O, siendo el más desapantallado el carbono carbonílico del PDI. La diferencia para el compuesto **DR7.1** es la aparición de señales en forma de dobletes por la distinta sustitución del mismo. En la zona de desplazamiento químico entre 118 y 134 ppm se ven las señales de los carbonos del núcleo aromático del perileno junto con las señales del grupo fenoxi. Finalmente, a campo alto, se aprecian las señales de la cadena alifática y del grupo piperidina, donde no se observan diferencias significativas entre ambos compuestos. Entre estas señales, es característica la señal que se observa en torno a 58 ppm, que corresponde a los carbonos metilénicos de los grupos etoxisilano, la señal a 18 ppm, la cual puede asignarse a los metilos de los grupos etoxisilano y la señal a 7 ppm que corresponde al grupo CH₂-Si de la cadena de silano.

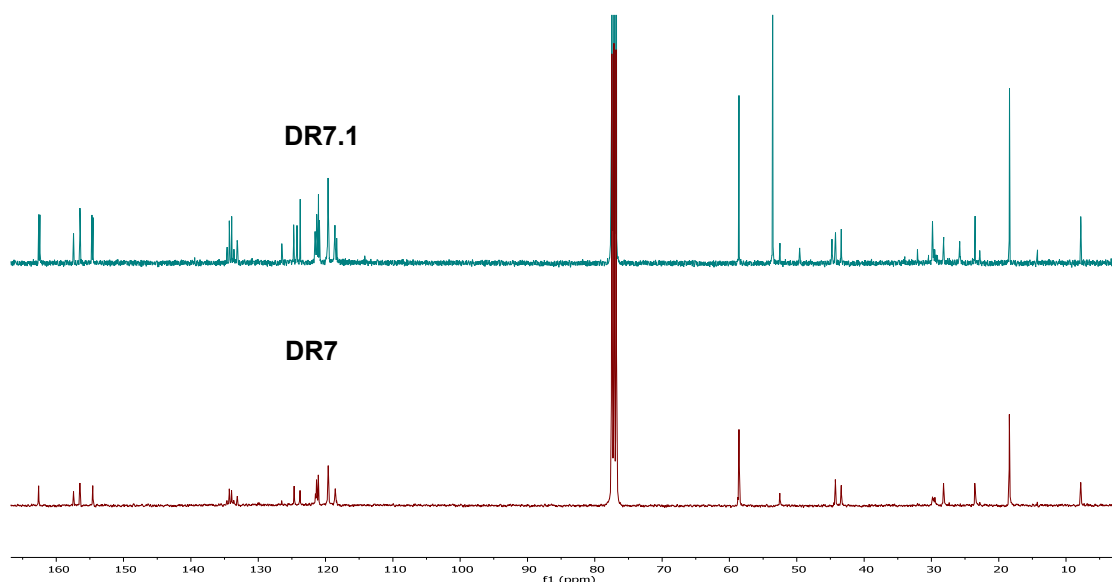


Figura 13. Espectros de RMN de carbono 13 para **DR7** y **DR7.1**.

El estudio estructural mediante espectroscopía infrarroja refleja las bandas características del grupo imida a 1668 cm⁻¹ para ambos compuestos, además, de la banda 1702 cm⁻¹ para el grupo carbonilo de la urea de la cadena del silano. También se observa la banda a 3426 cm⁻¹ que corresponde al enlace N-H de la amina secundaria desprotegida para el compuesto **DR7.1**. Por último, la espectrometría de masas, realizada mediante la técnica MALDI,

confirmó la estructura de los compuestos. Observándose el ión $[M]^+$ a $(m/z) = 1917.4368$ en **DR7** y $(m/z) = 1716.3628$ en **DR7.1**

Diseño y síntesis de PDI simétricas orientadas al estudio de células.

Por otro lado, también se sintetizaron dos sondas partiendo de **DR6** para el anclaje de dos grupos de interés como son: un derivado de la testosterona y la mupirocina. El primero, para ser probado en células y estabilizador de la G-quadruplex; el segundo, para ser testado en células de piel (por otro grupo de investigación). Para ello, **DR4** se desprotege en el grupo amino mediante reacción con ácido trifluoroacético, como se ha explicado anteriormente. Luego, es unido el grupo carboxilo (C-terminal) de la testosterona o mupirocina con el grupo amino (N-terminal) del PDI (Figura 14). Para ello, el acoplamiento peptídico se realizó mediante condiciones clásicas, utilizando el PyBOP como agente acoplante, DIPEA como base y DCM como disolvente durante 2 horas, para obtener un rendimiento de 91% para el **DR19** y 56% para el **DR22**.

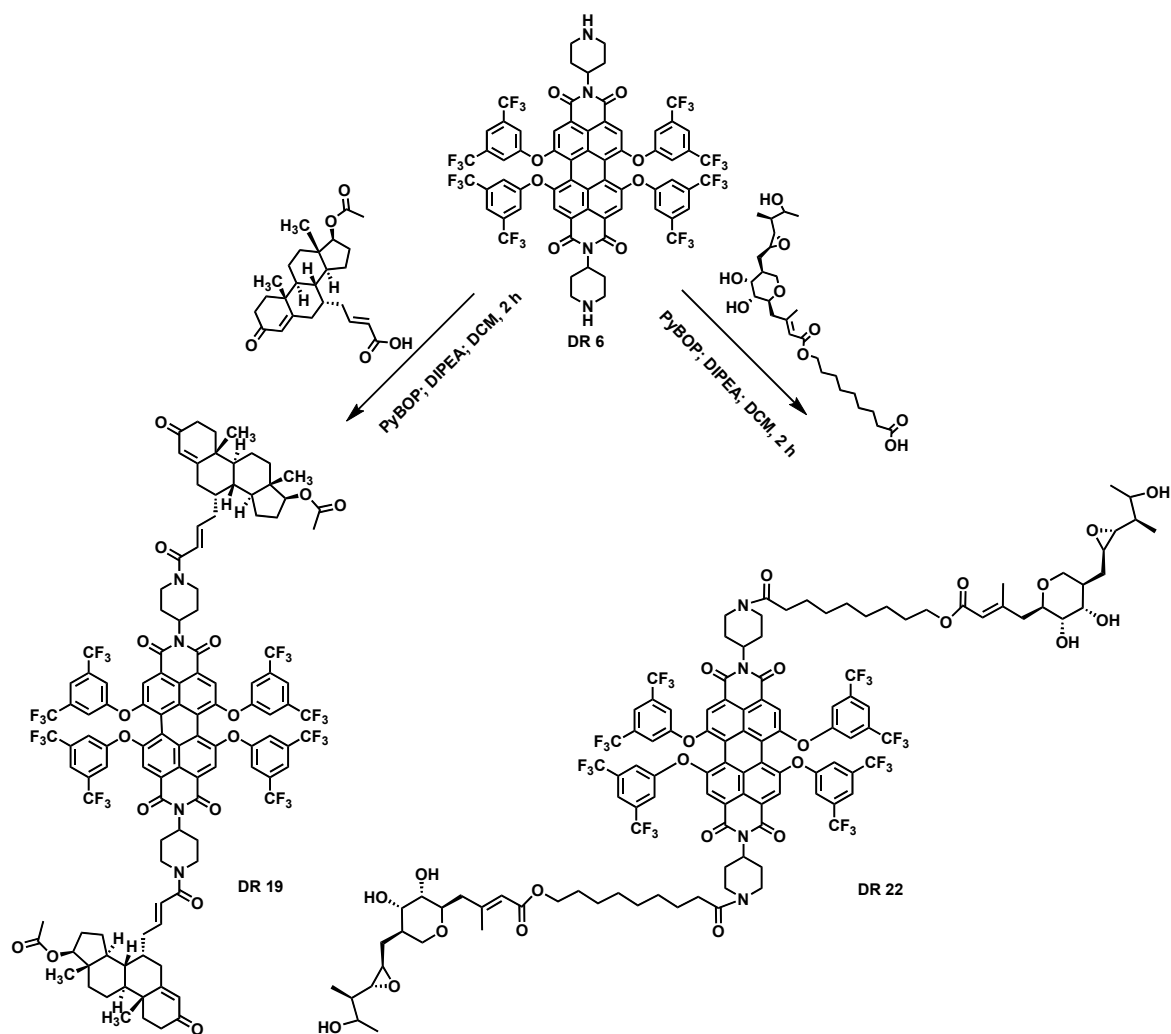


Figura 14 Ruta de síntesis para el anclaje de un derivado de testosterona y mupirocina en PDI.

Caracterización de los compuestos DR19 y DR22

El espectro de resonancia magnética nuclear de protón de **DR19** y **DR22** muestra las mismas señales de los hidrógenos aromáticos como singletes en 8.19, 7.61 y 7.29 ppm. También es similar la señal característica del CH- unido al nitrógeno imídico, que aparece como multiplete entre 5.23-5.17 ppm. Finalmente, en campo alto aparecen las señales muy diferenciadas de la testosterona y mupirocina, en esta última se observa una mayor multiplicidad de señales correspondiente a las largas cadenas alquílicas que la componen (Figura 15).

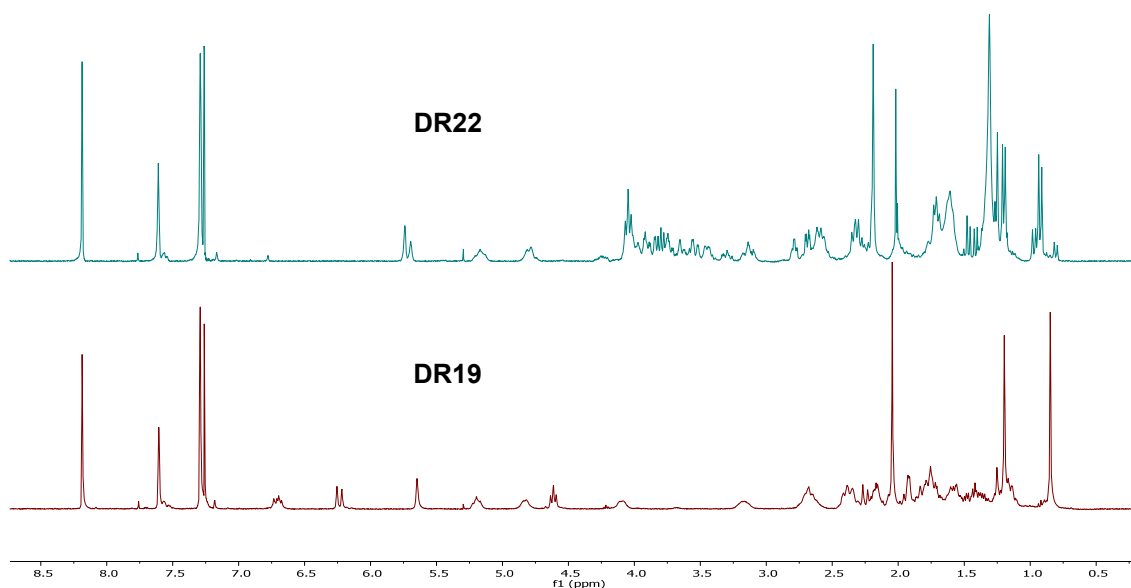


Figura 15. Espectro de RMN de protón de los compuestos **DR19** y **DR22**.

El estudio estructural mediante espectroscopia infrarroja refleja las bandas características del grupo imida a 1667 cm^{-1} para ambos compuestos, además de la banda 1694 cm^{-1} para el grupo carbonilo del éster. También presenta la banda a 1732 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo de la amida. Por último, la espectrometría de masas, realizada mediante la técnica MALDI, confirmó la estructura de los compuestos. Observándose el ión $[M]^+$ a $(m/z) = 2261.6928$ en **DR19** y $(m/z) = 2455.7965$ en **DR22**.

Propiedades ópticas de las PDIs simétricas

Se registraron los espectros de absorción UV-vis de los diferentes compuestos obtenidos en la sección anterior en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de $10\ \mu\text{M}$ (Figura 16).

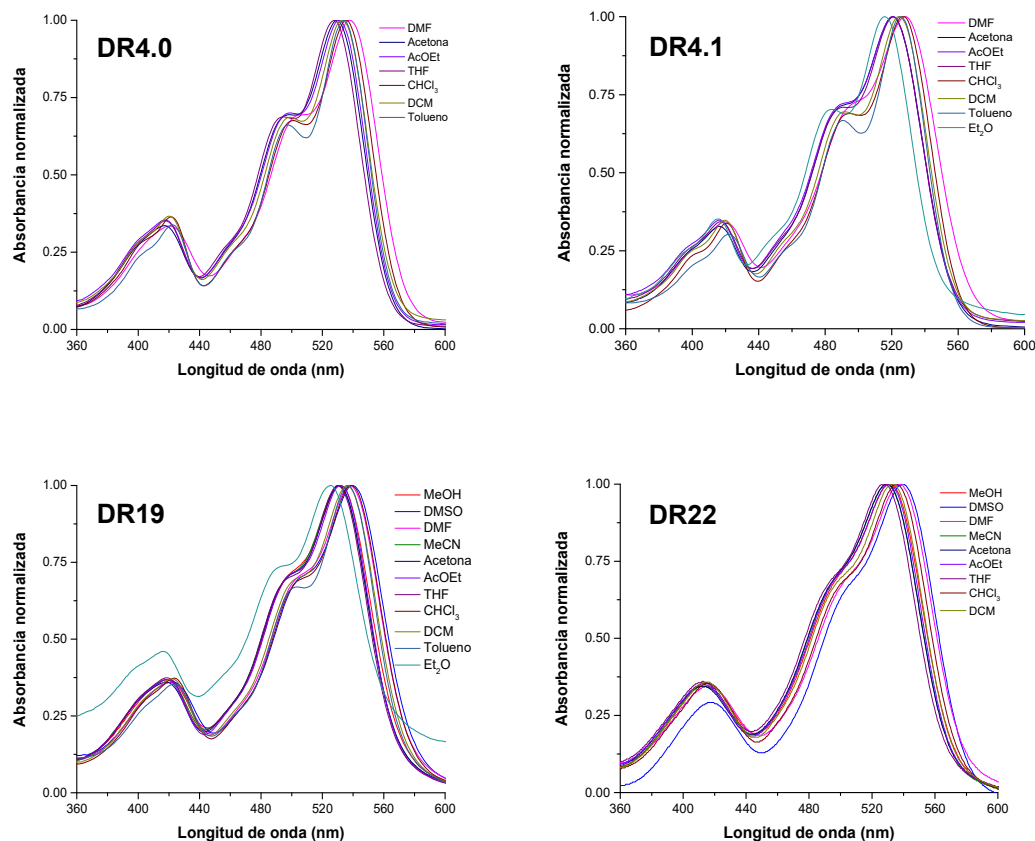


Figura 16. Espectro de absorción normalizado de los compuestos **DR4**, **DR4.1**, **DR19** y **DR22**.

En primer lugar, se puede apreciar un aumento de la solubilidad, en solventes más polares, como el DMSO y MeOH, para los compuestos **DR22** y **DR19**, debido a la introducción de grupos de mayor tamaño (derivado de la testosterona y la mupirocina) en el nitrógeno imida.¹⁰¹ Mientras que, para los compuestos **DR4** y **DR4.1** no se observan diferencias significativas, por lo que el aumento de sustituyentes en posición bahía no influye en el incremento de la solubilidad de los compuestos. Sin embargo, si es notorio para el compuesto **DR4** presente un desplazamiento batocrómico al rojo de unos 10 nm, con respecto a **DR4.1**, producto de la introducción de los grupos fenoxi que amplía el sistema de conjugación del núcleo de PDI (Figura 17).

¹⁰¹ Würthner, F. *Chem. Commun.* **2004**. 1564–1579.

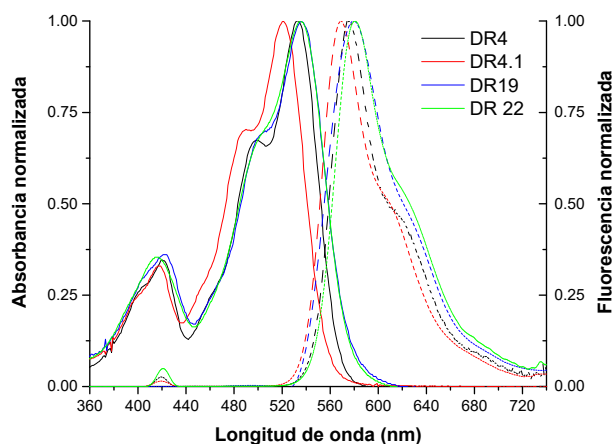


Figura 17. Espectros de absorción UV-vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR4**, **DR4.1**, **DR19** ($\lambda_{\text{exc}} = 420 \text{ nm}$) y **DR22** ($\lambda_{\text{exc}} = 497 \text{ nm}$) en DCM.

Para todos los compuestos se tiene una absorción integrada en una amplia región de longitud de onda entre 440-600 nm, propiedad que hace que los compuestos posean aplicaciones fotovoltaicas. Asimismo, se aprecia un desplazamiento batocrómico por el aumento de la polaridad del disolvente, es decir, la longitud de onda se desplaza hacia longitudes de onda más largas o de menor energía. La absorción espectral de todos los compuestos presenta tres bandas de absorción alrededor de 535, 498 y 430 nm. Estas bandas de transición vibracional S_0-S_1 (535 y 498 nm), S_0-S_2 (430 nm) se encuentran dominadas por transiciones $\pi-\pi^*$ del anillo aromático.¹⁰²

Los espectros de emisión de los diferentes compuestos obtenidos en la sección anterior en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de 10 μM se muestran en la figura 18.

¹⁰² Kavery, E.; Nagarajan, N.; Paramaguru, G.; Renganathan, R. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *146*, 13–23.

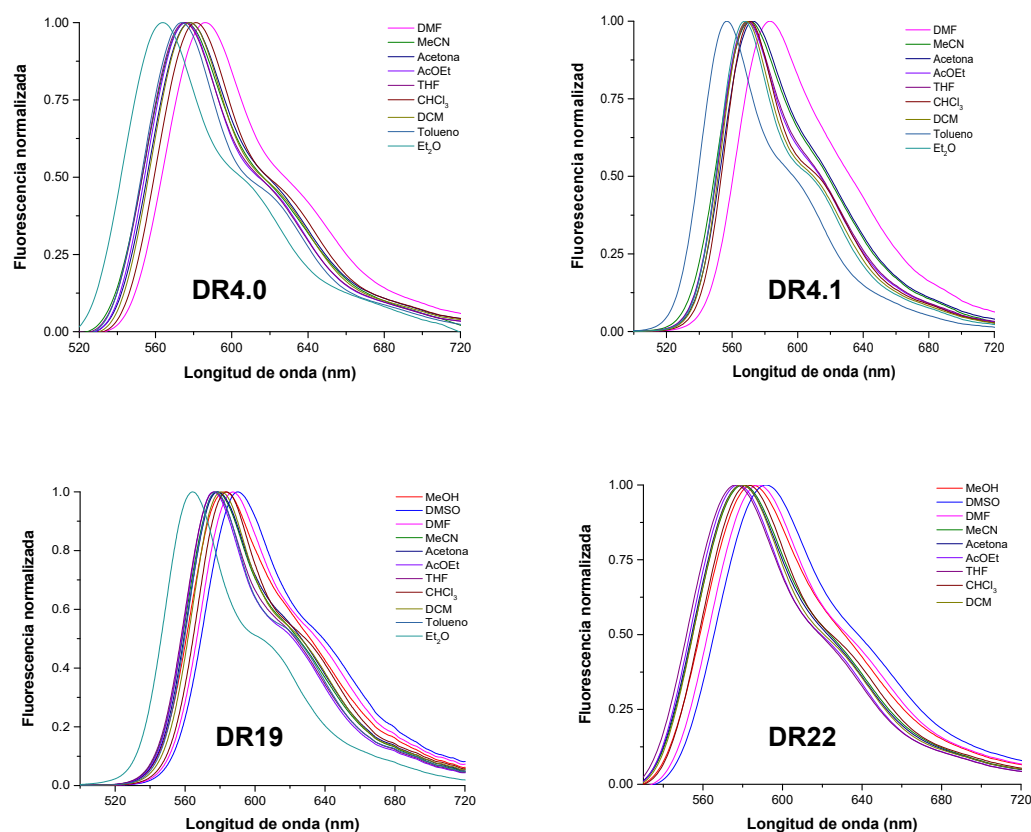


Figura 18. Espectro de emisión de los compuestos **DR4**, **DR4.1**, **DR19** ($\lambda_{exc}=420$ nm) y **DR22** ($\lambda_{exc}=497$ nm).

Todos los compuestos presentan dos picos de fluorescencia en el rango de 560 a 580 nm y 580 a 640 nm. Por la polaridad del disolvente se puede apreciar un cambio batocrómico de aproximadamente 20 nm para el **DR4.0** y **DR4.1** en los espectro de fluorescencia. En el caso de **DR19** y **DR22** el cambio batocrómico fue de 17 y 10 nm, respectivamente. Esto sugiere que el estado excitado es ligeramente más polar en naturaleza que el estado fundamental. De acuerdo con el solvatocromismo positivo (desplazamiento en rojo), la estabilización de la molécula en el primer estado excitado es más relativa a la del estado fundamental con el aumento de la polaridad del disolvente.¹⁰³ El máximo de emisión para **DR4** y **DR4.1** en diclorometano fue de 573 y 566 nm, respectivamente, lo que indica un desplazamiento de Stokes de 39 y 41 nm para cada uno de los compuestos (Figura 17). Estos datos demuestran que el

¹⁰³ Saeed, A.; Shabir, G. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 133, 7–12.

desplazamiento de Stokes disminuyó con la introducción de grupos fenoxi en las posiciones bahía del PDI.

Es importante destacar que para todos los compuestos las bandas de absorción y emisión son bastante anchas, debido a una progresión vibrónica pronunciada y al trastorno conformacional impartido por el cromóforo torsionado en el núcleo de perilenodiimida.

En la mayoría de los casos, los rendimientos cuánticos de fluorescencia son casi uniformes, y los tiempos de vida del singlete excitado son bastante largos (aproximadamente 5 ns en disolventes orgánicos comunes, Tabla 2). Para todos los compuestos se obtuvo un solo tiempo de vida y los decaimientos fueron mono-exponenciales.

Tabla 2. Propiedades físicas de los compuestos **DR4.0**, **DR4.1**, **DR19** y **DR22**.

Compuesto	Disolvente	Φ_f	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR4	DCM	0.98	5.49	>350
DR4.1	CHCl ₃	0.82	5.59	>350
DR19	CHCl ₃	0.95	5.45	>350
DR22	DCM	0.62	5.35	>350

Para el compuesto **DR4** y **DR19** los parámetros son muy similares, lo cual puede explicarse por los átomos de nitrógeno que están localizados en planos nodales tanto en el HOMO como en el LUMO. Por consiguiente, se espera que los efectos de la sustitución de imida en las energías orbitales fronterizas sean inductivos por naturaleza y, por lo tanto, similares tanto para el HOMO como para el LUMO, lo que conduce a un pequeño cambio no significativo en las propiedades físicas. Sin embargo, se observa un aumento en el rendimiento cuántico cuando se aumentan los grupos fenoxi en posición bahía (para **DR4** y **DR4.1**) producto del trastorno conformacional que presenta el núcleo del PDI.

Es notoria la diferencia del rendimiento cuántico obtenido para el compuesto **DR22**, lo que sugiere que puede existir interacción entre la PDI base y la mupirocina introducida en posición peri. Las interacciones inducen cierta degradación no radiativa en la excitación, lo que puede reducir los rendimientos cuánticos de fluorescencia de forma significativa. Este fenómeno

también se ha encontrado para otros derivados del PDI, por esta misma razón, es atribuible que presente el menor tiempo de vida.¹⁰⁴

Diseño y síntesis de PDI disimétricas

Como se ha comentado en la Introducción de este Capítulo, la preparación de PDIs con distintos sustituyentes en posición bahía es complicada y se han descritos escasos procedimientos para su síntesis. Considerando esta falta de métodos, nos propusimos como objetivo el desarrollo de una nueva ruta sintética para acceder a las PDI disimétricas. Con este propósito, se planteó el siguiente diseño sintético (Figura 19).

Para el diseño de PDI disimétricas se utilizó la sustitución nucleofílica catalizada por metal de los átomos de halógeno derivados del perileno simétrico tetrasustituido (**DR3**). Primero, se introduciría un fenol con grupos hidrofóbicos y luego se realizaría la misma reacción con un fenol con grupos hidrofílicos.

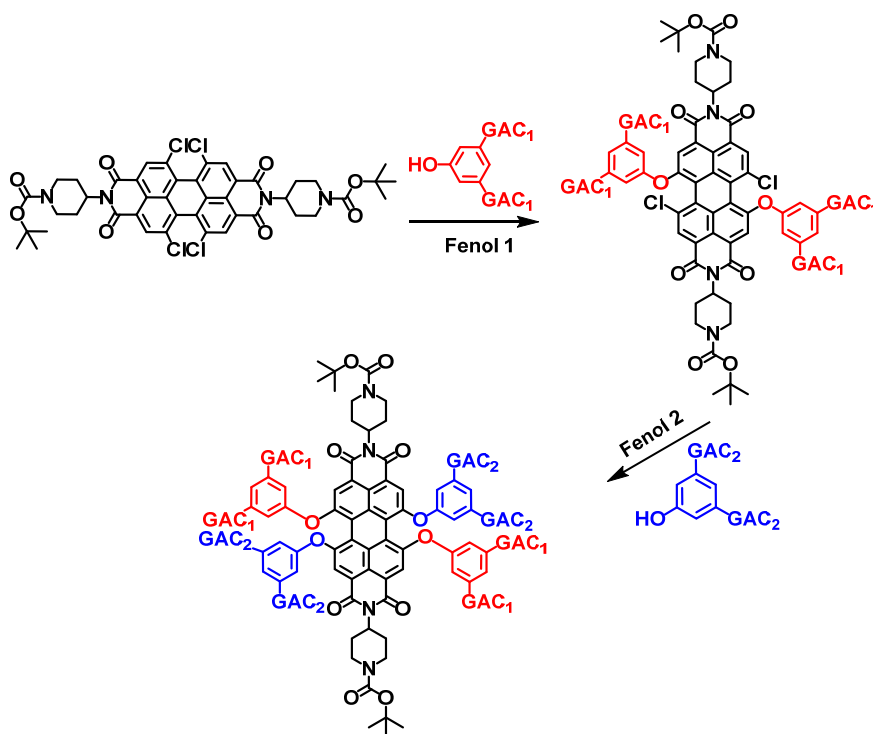


Figura 19. Ruta sintética para la obtención de PDI disimétricas.

¹⁰⁴ Wang, F., Chen, Y. L., Li, R. J., Wang, S. Q., Su, W., Ma, P., Wasielewski, M. R., Li, X. Y., Jiang, J. Z. *Langmuir* **2007**, 23, 5836–5842.

Para un mayor aprovechamiento de los compuestos sintetizados en la sección anterior, se procedió a utilizar como producto de partida el compuesto **DR4.1** que presentaba en las posiciones 1 y 7 un grupo fenoxi con grupos hidrofóbicos.

En la sección anterior, para la introducción del fenol con grupos hidrofóbicos en posición bahía del PDI, se utilizó NaH, para facilitar la ionización del fenol, DMF como disolvente, como catalizador el CuI, CsCO₃ para aumentar el carácter nucleófilo del fenol y un agente complejante. Empleando esta misma estrategia, se ensayó la sustitución nucleofílica ahora con grupos hidrofílicos para la preparación de los derivados disimétricos de PDI, resultando tres compuestos diferentes que se resumen en la figura 20.

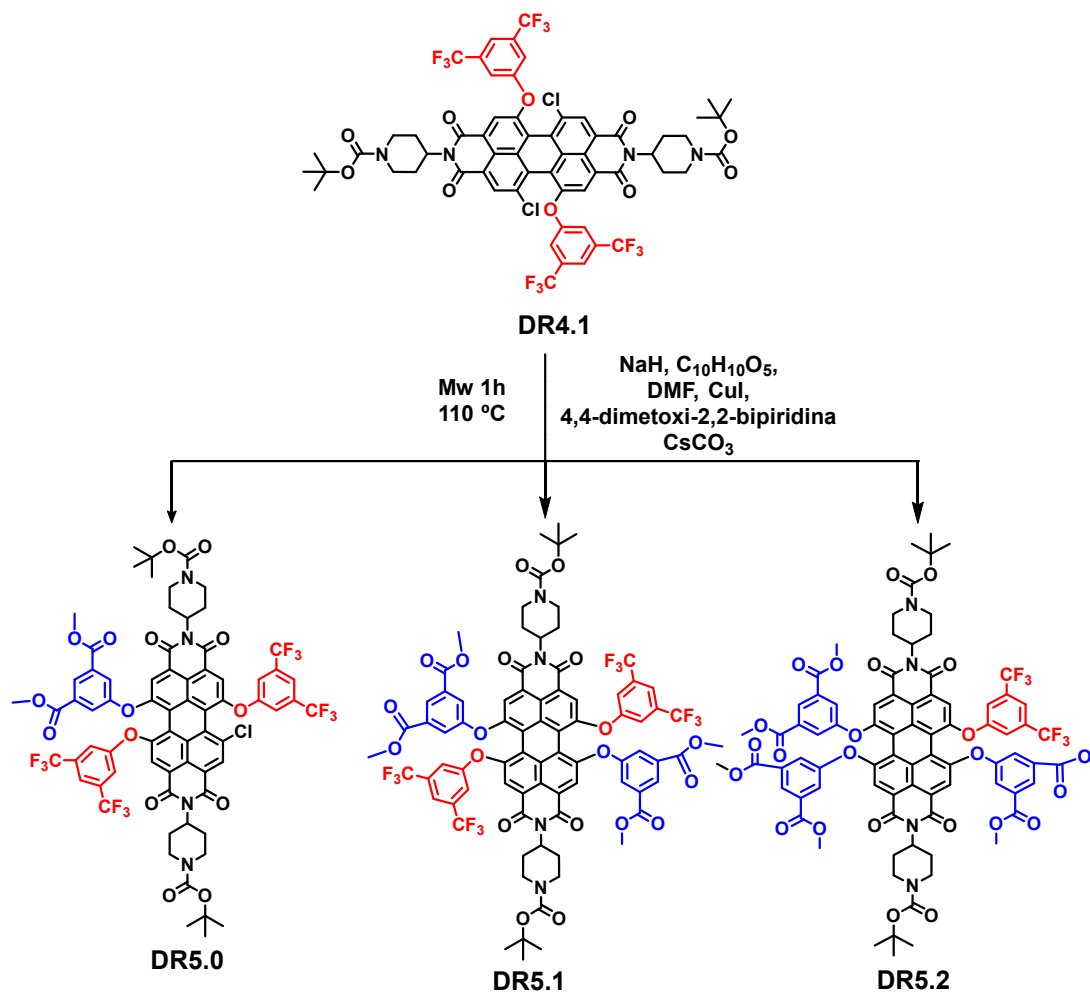


Figura 20. Síntesis de PDIs disimétricas en posición bahía.

En este caso se hicieron pruebas con diferentes agentes complejantes, la reacción no tuvo éxito en presencia de 1,10-fenatrolina o 1,10-fenantrolin-5-amina. Aunque se obtiene un mejor rendimiento de los compuestos con la 1,10-fenantrolin-5,6-diona (entrada 4, 5 y 6), se optó por utilizar la 4,4-dimetoxi-2,2-bipiridina (entrada 1, 2 y 3) por razones de disponibilidad del producto (tabla 3).

Tabla 3. Rendimiento de los productos variando solo el agente complejante.

Entrada	Material de partida	Agente complejante	Producto	Rto (%)
1	20 mg	1*	DR5.0	38
2	20 mg	1	DR5.1	16
3	20 mg	1	DR5.2	27
4	20 mg	2**	DR5.0	57
5	20 mg	2	DR5.1	44
6	20 mg	2	DR5.2	44

* 4,4-dimetoxi-2,2-bipiridina **1,10-fenantrolin-5,6-diona

Caracterización de las PDI disimétricas

Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón de los tres productos finales son muy diferentes, como era de esperarse, en campo bajo. Aparece la señal más desapantallada del protón cercano al átomo de cloro en 8.68 ppm en **DR5.0**, que posteriormente desaparece en **DR5.1** y **DR5.2**, por la introducción de 2 fenoxi. Además, se observa una señal en 8.65 ppm relacionada al protón del fenol entrante que se mantiene en todos los espectros. También se aprecia cómo las señales correspondientes a los protones del fenoxi con grupos hidrofóbicos van desapareciendo en 7.63, 7.48 y 7.32 ppm. Así como se intensifican las señales y aumenta la multiplicidad en los protones correspondientes al fenoxi con grupos hidrofílicos en 8.32 y 8.16 ppm. En campo alto, las señales son similares, aunque en 3.90 ppm se intensifica y multiplica la señal por el aumento del número de metilos del grupo hidrófilo que se está introduciendo (Figura 21).

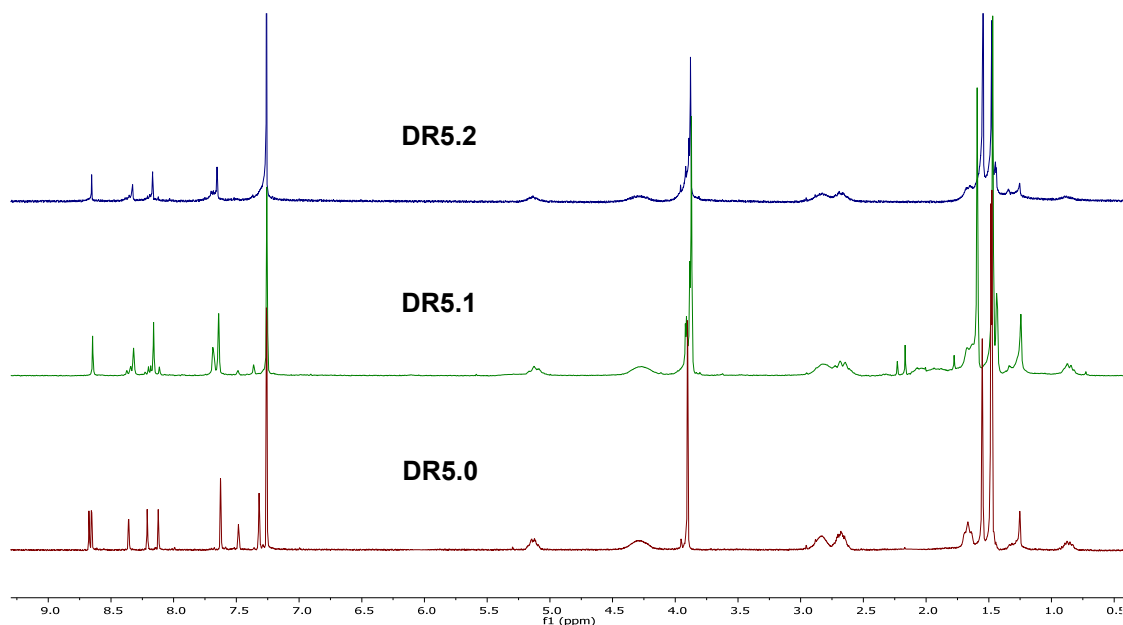


Figura 21. Espectro de RMN de protón de los compuestos **DR5.0**, **DR5.1** y **DR5.2**.

El espectro de carbono de **DR5.1** muestra un menor número de señales debido al centro de simetría que presenta el compuesto, pues los grupos procedentes de los fenoles hidrofóbicos y hidrofílicos se encuentran en posiciones opuestas y equidistantes en el anillo de PDI. Las señales correspondientes a los grupos carbonilo del PDI, del grupo boc y las señales C-O del fenol aparecen entre 164 y 150 ppm. En la zona de desplazamiento químico entre 136 y 120 ppm se pueden apreciar los carbonos sp^2 del núcleo de PDI y de los fenoles, se observa un mayor apilamiento de las señales para el **DR5.2**. Por último, a campo alto se observan las señales correspondientes a los CH_2 y CH_3 del grupo boc, piperidina y del fenol (Figura 22).

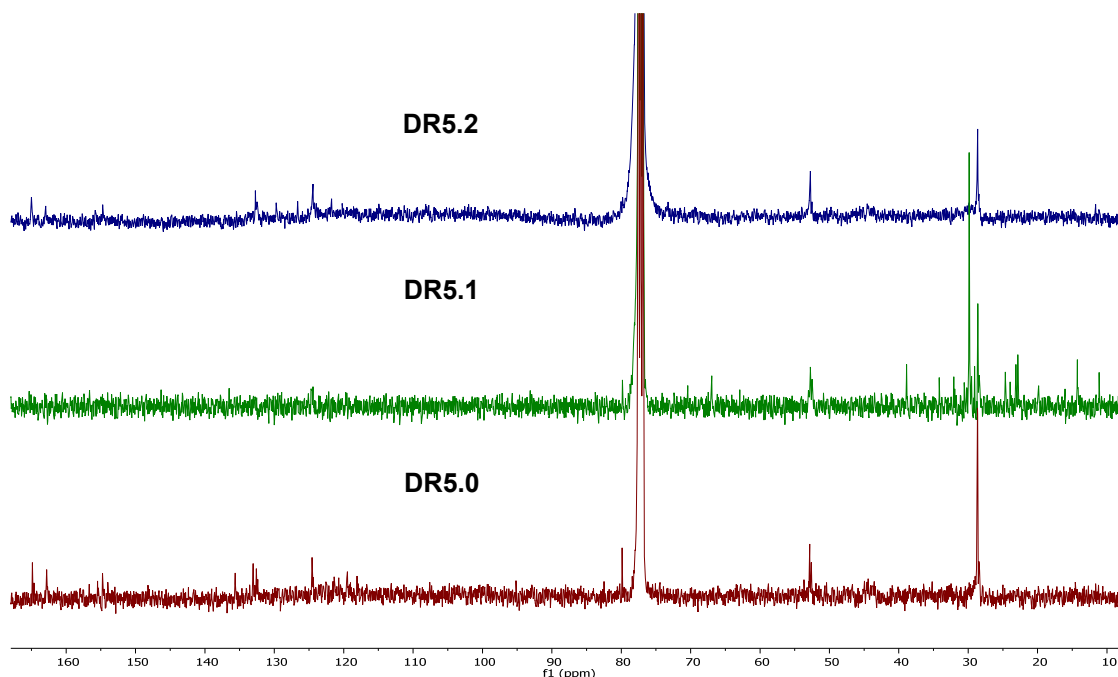


Figura 22. Espectro de carbono 13 para DR5.0, DR5.1 y DR5.2.

Los espectros de infrarrojo muestran las bandas características del grupo carbonilo del éster a 1731 cm^{-1} , grupo carbamato a 1703 cm^{-1} y del grupo imida a 1661 cm^{-1} , coincidiendo las señales para los tres compuestos. Finalmente, la estructura de los PDI disimétricos quedó confirmada mediante espectrometría de masas.

Propiedades ópticas de las PDI disimétricas

Se registraron los espectros de absorción UV-vis de los diferentes colorantes obtenidos en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de $10\text{ }\mu\text{M}$ (Figura 23).

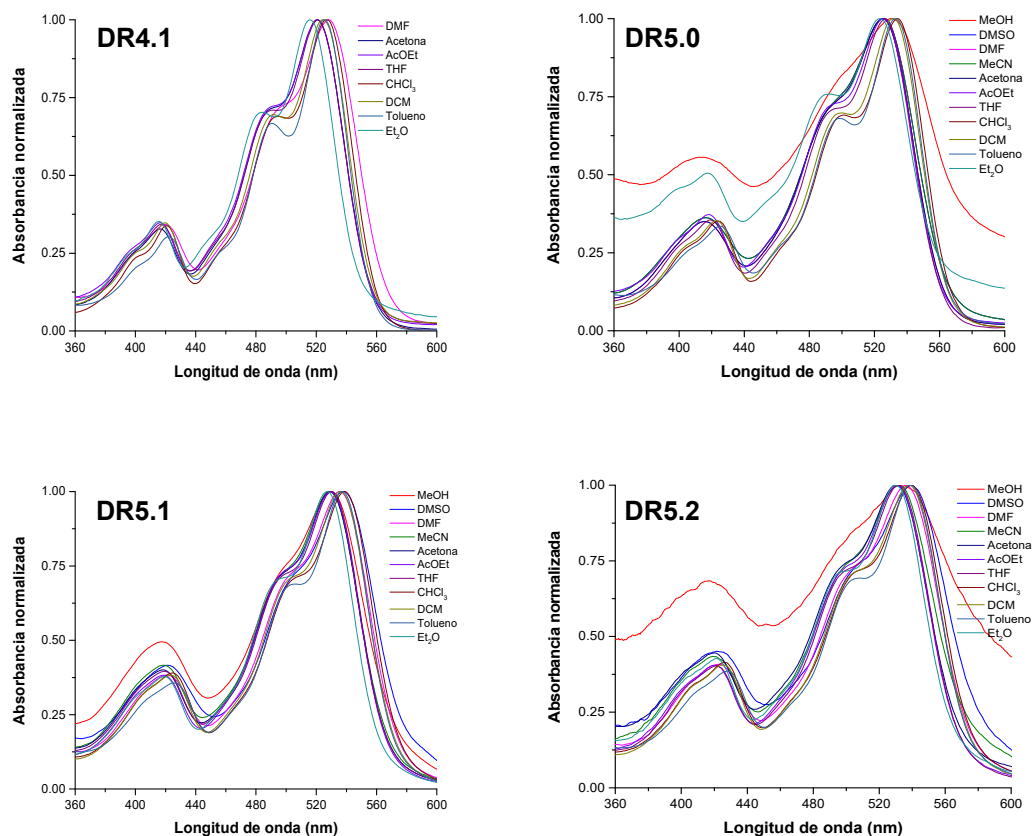


Figura 23. Espectro de absorción de los compuestos **DR4.1**, **DR5.0**, **DR5.1** y **DR5.2**.

En primer lugar, se puede apreciar aumento de la solubilidad en disolventes más polares, como el MeOH y DMSO, para los compuestos, producto de la introducción de los grupos fenoxi que poseían los grupos hidrofílicos, un efecto solo visto hasta ahora en la sustitución de los grupos imida. Se tiene una absorción integrada en una amplia región de longitud de onda entre 360-600 nm. Asimismo, se aprecia un desplazamiento batocrómico por el aumento de la polaridad del disolvente, es decir, la longitud de onda se desplaza hacia longitudes de onda de menor energía.

Además, es notorio que el compuesto **DR5.0** presenta un desplazamiento batocrómico al rojo de unos 8 nm, con respecto a **DR4.1**, producto de la introducción en posición bahía de un grupo fenoxi hidrofílico, cuya presencia es más pronunciada en los compuesto **DR5.1** y **DR5.2** donde el desplazamiento batocrómico es mayor (hasta 12 nm, figura 24), debido a que se amplía el sistema de conjugación en los fenoles.

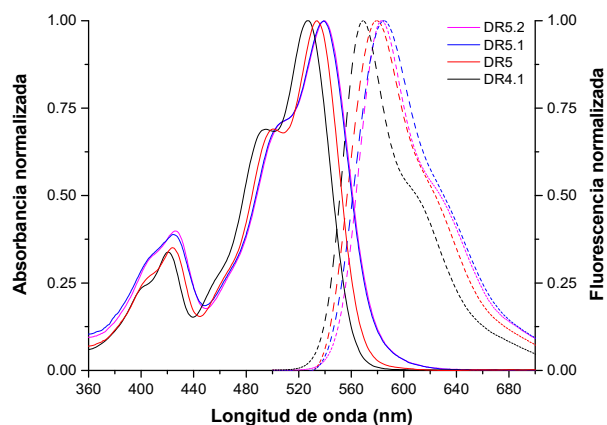
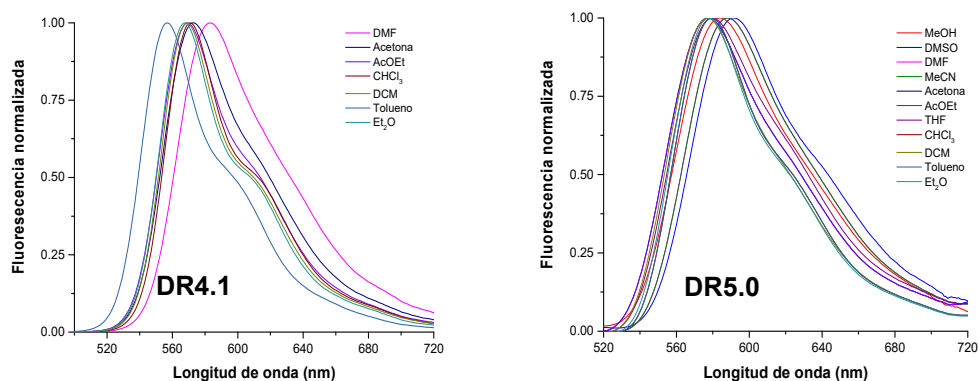


Figura 24. Espectros de absorción Uv-Vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR 4.1**, **DR 5**, **DR 5.1** y **DR 5.2** ($\lambda_{exc} = 423$ nm) en $CDCl_3$.

Los espectros de emisión de los diferentes compuestos en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de $10 \mu M$ se muestran en la figura 25.



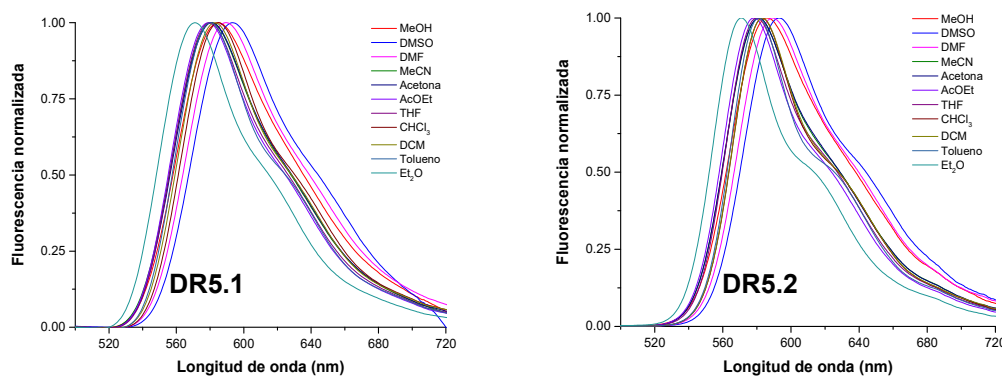


Figura 25. Espectro emisión de los compuestos **DR4.1**, **DR5.0**, **DR5.1** y **DR5.2** ($\lambda_{exc} = 423$ nm).

Los compuestos presentan dos picos de fluorescencia en el rango de 555 a 579 nm y 600 a 650 nm. Por la polaridad del disolvente se puede apreciar un cambio batocrómico de aproximadamente 19 y 18 nm para el **DR4.1** y **DR5.1**, respectivamente, en los espectro de fluorescencia. En el caso de **DR5** y **DR5.2** el cambio batocrómico fue de 8 y 12 nm, respectivamente. De acuerdo con el solvatocromismo positivo (desplazamiento al rojo), la estabilización de la molécula en el primer estado excitado es más relativa a la del estado fundamental, esto sugiere que el estado excitado es ligeramente más polar en naturaleza que el estado fundamental.

El desplazamiento de Stokes para los compuestos **DR5.0**, **DR5.1** y **DR5.2** fue de 36, 39 y 37 nm mientras que para **DR4.1** fue de 43 nm. Esto demuestra que la introducción de grupos fenoxi hidrofílicos en posiciones bahía del PDI disminuye el desplazamiento de Stokes (Figura 24). También, muestra que la introducción de estos grupos al sistema de conjugación del PDI contribuye al desplazamiento en rojo de las bandas de absorción y emisión, probablemente debido a la ampliación del sistema de conjugación del PDI¹⁰⁵ y a la menor simetría causada por la sustitución de estos grupos en posición bahía.¹⁰⁶

En la mayoría de los casos, los rendimientos cuánticos de fluorescencia son casi uniformes y los tiempos de vida del singlete excitado son bastante largos (aproximadamente 6 ns en disolventes orgánicos comunes, Tabla 3). Para todos los compuestos se obtuvo un solo tiempo de vida y los decaimientos fueron mono-exponenciales.

¹⁰⁵ Sugiyasu, K., Fujita, N., Shinkai, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 1229-1233.

¹⁰⁶ He, X., Liu, H., Wang, N., Wang, S., Li, Y., Huang, C., Cui, S., Li, Y. *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, 25, 721-727.

Tabla 3. Propiedades físicas de los compuestos **DR 4.1**, **DR5.0**, **DR5.1** y **DR5.2**.

Compuesto	Disolvente	Φ_f	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR4.1	CHCl ₃	0.82	5.59	>350
DR5.0	DCM	0.92	6.00	>350
DR5.1	CHCl ₃	0.87	5.87	>350
DR5.2	CHCl ₃	0.95	6.07	>350

Para todos los sistemas de PDI formados el rendimiento cuántico aumenta en comparación con el compuesto de partida, lo que pudiera indicar un efecto positivo en la introducción de grupos fenoxi con grupos hidrofílicos debido a que aumenta la probabilidad de transición entre el estado singlete de menor energía vibracional y el estado fundamental. La tabla muestra que el efecto no es aditivo al número de grupos hidrofílicos presentes pero que sí hay una tendencia creciente. Sin embargo, este efecto disminuye en **DR5.1**, lo cual pudiera explicarse por la conformación coplanar que estaría formándose entre los dos grupos diferentes de fenoxi presentes en la posición bahía y el anillo del PDI que podría darle cierta flexibilidad a la molécula.¹⁰⁷

Por las excelentes propiedades ópticas que presentan estas PDI asimétricas decidimos seleccionar la que presentaba un mayor rendimiento cuántico y tiempo de vida más largo (**DR5.2**) para preparar una sonda fluorogénica que sea testada en células. Probamos como en secciones anteriores introduciendo un derivado de la testosterona en posición peri para este fin. La ruta sintética llevada a cabo se muestra en la figura 26.

En primer lugar desprotegemos el cromóforo **DR5.2** disolviéndolo en DCM y agregando TFA a la solución a temperatura ambiente por 2 horas. Por la caracterización de **DR20** mediante RMN de protón se observó la eliminación de la señal correspondiente al grupo boc en 1.48 ppm (Figura 27). También fue corroborada la desprotección del compuesto por la espectrometría de masas, realizada mediante la técnica MALDI, observándose el ión $[M]^+$ (m/z) = 1409.3330.

Luego se realiza el enlace entre el grupo carboxilo (C-terminal) de la testosterona modificada con el grupo amino (N-terminal) del PDI de **DR20**. Para

¹⁰⁷ Feng, J., Wang, D., Wang, S., Zhang, L., Li, X. *Dye. Pigment.* **2011**, 89 (1), 23–28.

ello, el acoplamiento peptídico se realizó mediante condiciones clásicas, utilizando el PyBOP como agente acoplante y DIPEA como base en el seno de DCM durante 2 horas para obtener un rendimiento del 80%.

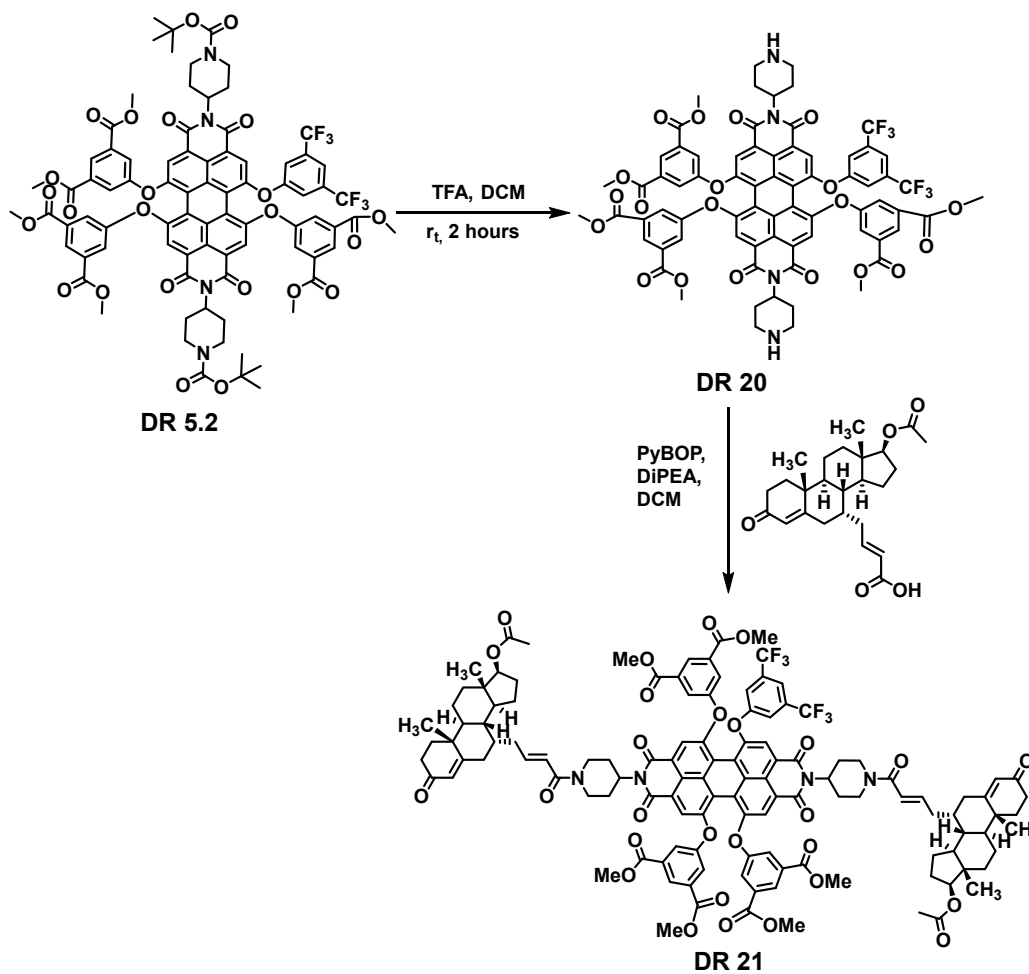


Figura 26. Ruta de síntesis para el colorante DR21.

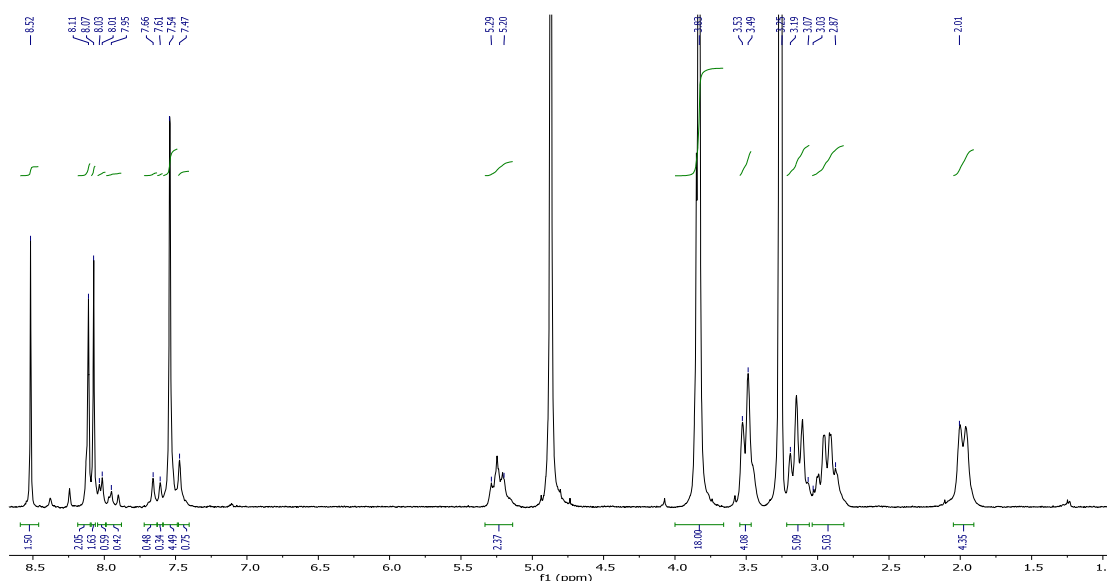


Figura 27. Espectro de protón del compuesto DR20.

La estructura de la sonda fluorogénica sintetizada se confirmó mediante las técnicas habituales en síntesis orgánica. El espectro de RMN de protón es muy parecido en campo bajo al obtenido en **DR5.2**, las señales del núcleo de 3,5-dimetoxicarbonilfenoxi aparecen en 8.65, 8.32 y 8.16 ppm, mientras que las señales del 3,5-trifluorometilfenoxi se muestran en 7.65, 7.48 y 7.37 ppm. Las señales correspondientes al núcleo del PDI se muestran en 7.70 y 7.65 ppm. Por otro lado, las señales del derivado de la testosterona utilizado aparecen a lo largo del espectro coincidiendo en desplazamiento químico con **DR19**, sin diferencias significativas en campo alto (Figura 28).

Por otro lado, en el espectro de RMN de ^{13}C se observan las señales características de la testosterona y del metilo del isoftalato a valores bajos de desplazamiento químico. Se observan 8 señales de carbono 13 correspondientes a carbonos sp^2 . Mientras que las señales características del carbono sp relacionado con el grupo carbonilo aparecen a 195, 171, 165 y 162 ppm de los grupos cetona y acetato de la testosterona, el carbonilo del isoftalato e imida, respectivamente. La estructura de estas moléculas se confirmó también mediante espectrometría de masas e infrarrojo.

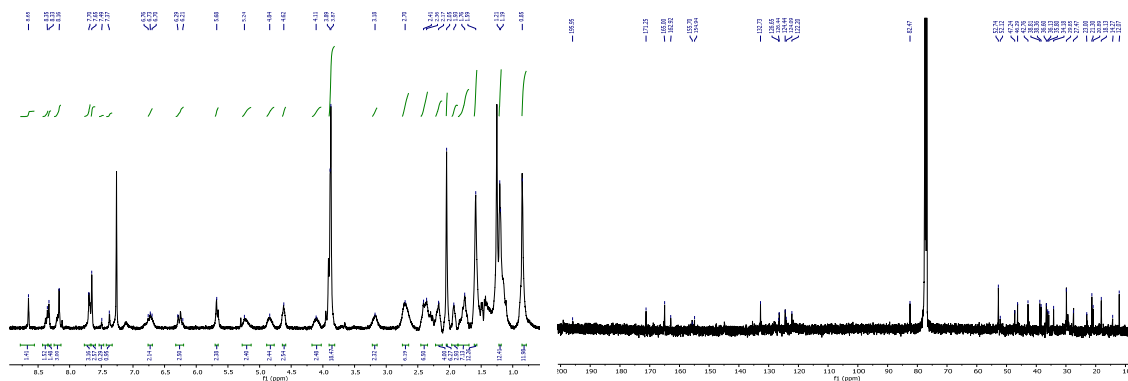


Figura 28. Espectro de RMN de protón (izquierda) y carbono (derecha) para el compuesto **DR21**.

En cuanto a las propiedades ópticas, se registraron los espectros de absorción UV-vis y emisión para **DR21** en una variedad de disolventes de polaridad diversa a temperatura ambiente y concentración de 10 μM (Figura 29).

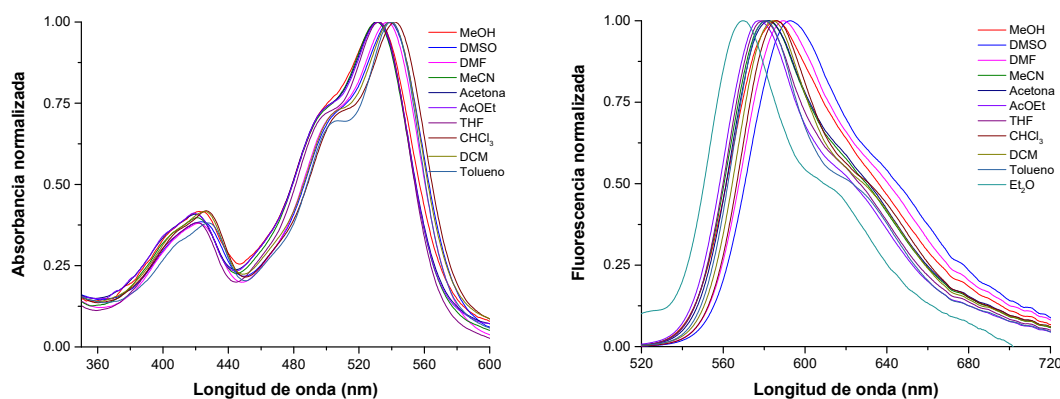


Figura 29. Espectro de absorción UV-vis y emisión ($\lambda_{\text{exc}} = 505 \text{ nm}$) para el colorante **DR21**.

La molécula presenta un aumento de la solubilidad en disolventes más polares, como el MeOH, al introducir la testosterona en el grupo imida. Se tiene una absorción integrada en una amplia región de longitud de onda entre 360-600 nm. Sin embargo, se aprecia un desplazamiento hipsocrómico por el aumento de la polaridad del disolvente, es decir, la longitud de onda se desplaza hacia longitudes de onda de mayor energía. Se explica por la baja polarización del estado excitado de **DR21** en disolventes polares. De forma tal que no se solvata eficazmente en este tipo de disolvente, posiblemente debido a sus grupos aromáticos voluminosos que no forman enlace de hidrógeno con

las moléculas de disolvente.¹⁰⁸ Sin embargo, en emisión si existe un desplazamiento batocrómico al aumentar la polaridad del disolvente, por ello se puede afirmar que existe una estabilización del estado excitado, en mayor grado que lo hace el estado fundamental.

Se observaron tres bandas de absorción en 420, 502 y 542 nm, mientras que en emisión se aprecian dos picos de fluorescencia en 580 y 620 nm. La banda de absorción y emisión son bastante anchas, debido al trastorno conformacional impartido por el cromóforo torsionado en el núcleo por la presencia de fenoxi diferentes en posición bahía.

Se compararon las propiedades ópticas de esta sonda (**DR21**) con la obtenida anteriormente (**DR19**), para estudiar el efecto que podría presentar la sustitución de diferentes grupos en posición bahía (Figura 30). Observando los máximos de absorción y emisión para el **DR19** y **DR21** en cloroformo, reportamos un desplazamiento de Stokes de 38 y 37 nm, respectivamente. Estos datos demuestran que el desplazamiento de Stokes disminuyó con la introducción de grupos fenoxi con especies hidrofílicas en relación con los fenoxi que poseían especies hidrofóbicas en las posiciones bahía del PDI.

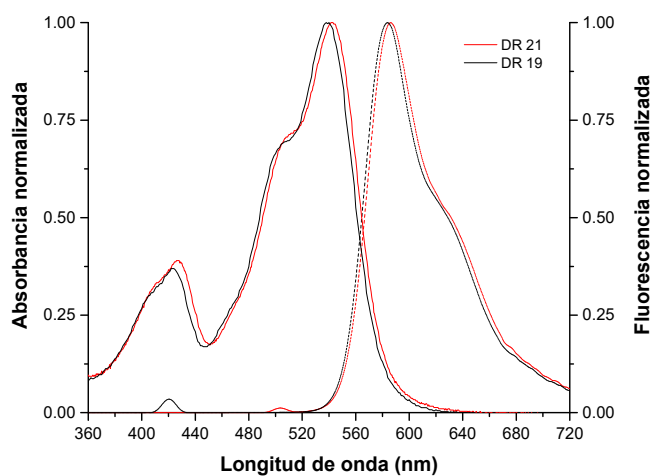


Figura 30. Espectros de absorción UV-Vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR19** ($\lambda_{exc}=420$ nm) y **DR21** ($\lambda_{exc}=505$ nm) en $CHCl_3$.

¹⁰⁸ Dinçalp, H., Kizilok, Ş., İçli, S. *Dye. Pigment.* **2010**, *86* (1), 32–41.

En cuanto a las propiedades físicas, podemos notar una disminución del rendimiento cuántico y un aumento del tiempo de vida para **DR21** (Tabla 4). Esto puede ser atribuible a que en **DR21** están presentes especies distintas que contribuyen a una transferencia de carga intramolecular que inhibe la fluorescencia y por tanto el rendimiento cuántico de la sonda. Aunque este cambio molecular contribuye a que se obtengan tiempos de vida más largos.

Tabla 4. Propiedades físicas de los compuestos **DR19** y **DR21** realizadas en CHCl₃.

Compuesto	Φ_f	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR19	0.95	5.45	>350
DR21	0.86	6.12	>350

Pruebas en células

La fluorescencia de **DR19** y **DR21** disminuye en presencia de DNA en doble hélice (ctDNA: calf thymus DNA) y en G-quadruplex (Tel22). No se ha visto plegamiento de G4 en presencia de estos compuestos ni estabilización térmica por FRET, por lo que se descarta su interacción con G-quadruplex. Debido a problemas de precipitación, visibles al microscopio a concentraciones del orden de micromolar, no se ha podido estudiar su citotoxicidad. Al intentar estudiar el uptake celular se ha observado cómo **DR19** forma un precipitado fluorescente alrededor de las células mientras que **DR21** sí parece entrar en el interior celular (Figura 31).

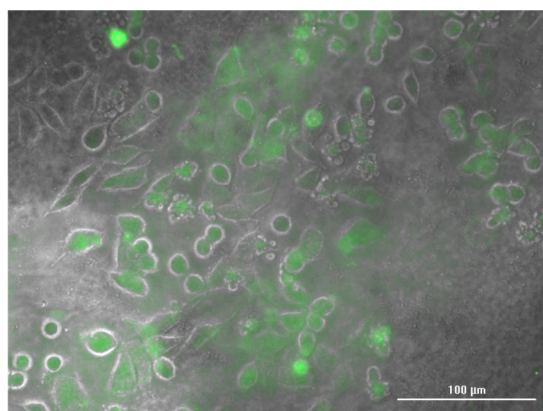


Figura 31. Imágenes de células de SW480 tratadas con 100 μM de **DR21** después de 1h de incubación. El contraste de fase se fusionó con la emisión de fluorescencia verde.

Asimismo se puede apreciar que **DR21** fue detectable dentro de las células después de 1 h de incubación a una concentración de 100 μM , demostrando una eficiente y rápida internalización. Por lo tanto, el derivado sintetizado **DR21** tiene una mayor capacidad para ser detectado en las células en comparación con **DR19**. La combinación de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en posición bahía se ha interpretado como la causa de tal diferencia en la captación por parte de las células.

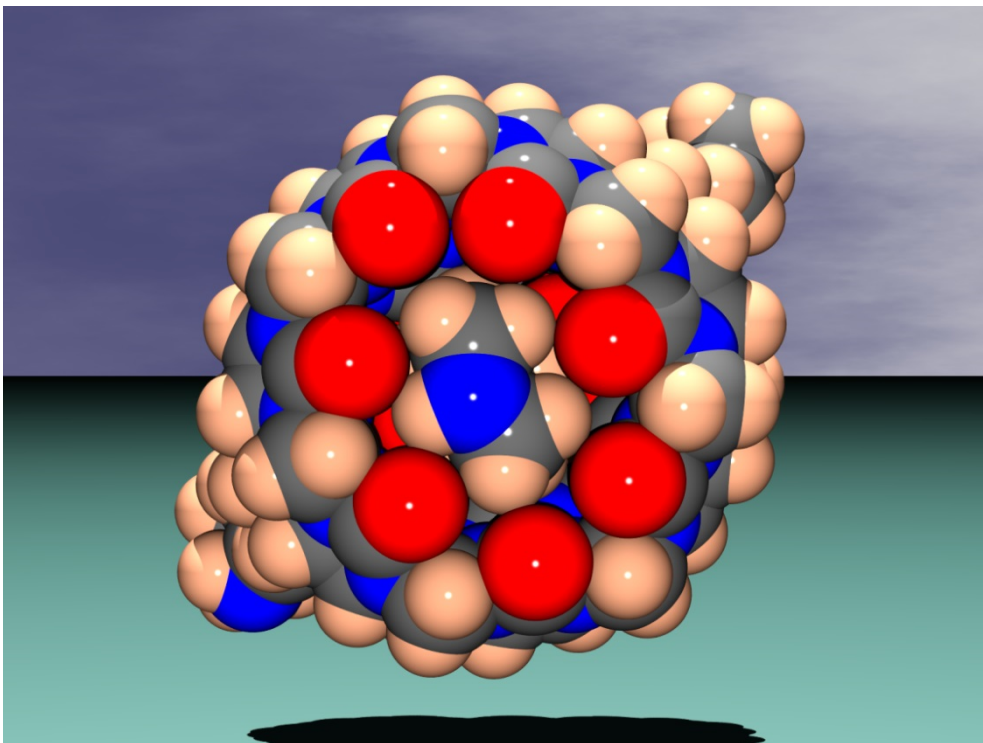
CONCLUSIONES

Se ha sintetizado con éxito una nueva familia de colorantes simétricos y disimétricos, a través de una breve ruta sintética. En ellos se aprecia un aumento en la longitud de onda de absorción y emisión mediante la introducción de grupos fenoxi hidrofílicos e hidrofóbicos en posición bahía del PDI. Estos compuestos presentan alto rendimiento cuántico, alta estabilidad fotofísica y fácil modificación en la posición peri del PDI, esta posición demostró ser una plataforma ideal para anclar diferentes tipos de moléculas orgánicas. Por las excelentes propiedades presentadas, estos compuestos pueden ser utilizados en diferentes campos de investigación.

Se ha desarrollado una nueva estrategia sintética para el diseño de derivados de perilenodiimidias disimétricas en posición bahía. La introducción de grupos hidrofílicos produce la disminución de la planaridad de la molécula y mejora de forma significativa la solubilidad de los compuestos. Los perfiles de los espectros ópticos están influenciados principalmente por los efectos electrónicos de los sustituyentes en las posiciones bahía del núcleo de perileno. Además, se observa un aumento en el rendimiento cuántico de fluorescencia.

Por otra parte, los colorantes muestran una excelente estabilidad térmica (hasta 350 °C), esto les hace idóneos para posibles aplicaciones de alta tecnología que requieren colorantes con absorción y emisión a medida en una región específica del espectro visible.

El compuesto **DR21** demostró una eficiente y rápida internalización en la célula, con una fuerte fluorescencia en verde. Por lo tanto, tiene una mayor capacidad para ser internalizado por las células. La combinación de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en posición bahía se ha interpretado como la causa de tal eficiencia.



CAPÍTULO 2.

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS EXPANDIDAS EN
EL SISTEMA CONJUGADO π DE LA POSICIÓN BAHÍA Y
ESTUDIO DE ASOCIACIÓN.**

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, una serie de compuestos con sistemas conjugados π ha atraído la atención en el área de investigación de moléculas funcionales orgánicas como candidatos para materiales optoelectrónicos. De tal forma que la creación de nuevas moléculas π -conjugadas ha sido cada vez más demandada.

Las propiedades de las moléculas con sistemas conjugados π pueden ser manipuladas a través de la extensión de este sistema. Existen principalmente dos estrategias para ello: la primera es la unión de un solo enlace entre dos compuestos que presenten un sistema conjugado π y la segunda es la unión a través de múltiples enlaces, mediante la fusión del anillo entre dos unidades que presentan un sistema conjugado π (Figura 1). El enlace simple que une las unidades conjugadas π es una de las formas más sencillas. Sin embargo, la rigidez de los sistemas conjugados π está garantizada en el caso de la estrategia de fusión del anillo, como se observa en el naftaleno. La superposición del orbital p se maximiza conduciendo a una deslocalización efectiva de electrones π sobre toda la molécula.¹⁰⁹

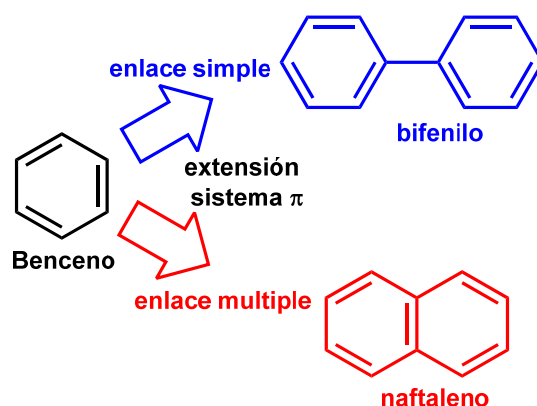


Figura 1. Dos estrategias principales para la extensión del sistema conjugado π .

En el caso de las PDIs, la extensión del núcleo se ha conseguido principalmente mediante la fusión del anillo en la posición bahía, debido a la bromación y subsiguiente anelación secuencial que permite la expansión fácil del sistema π .¹¹⁰ En estas moléculas con sistemas π -expandido en el núcleo del perileno la expansión produce cambios drásticos en las propiedades ópticas

¹⁰⁹ Pino, F., Pérez, D. Análisis de elementos trazas por espectrofotometría de absorción molecular Uv-Vis. *Universidad de Sevilla*. **1983**, 49-56.

¹¹⁰ Müller, S., Müllen, K. *Chem. Commun.* **2005**, 4045-4046.

de las PDI,¹¹¹ de allí radica el interés en el estudio de este tipo de moléculas. Además de fusionar el anillo en posición bahía se han diseñado estrategias de extensión del núcleo en la región K y región L de la PDI (Figura 2.a). Ejemplos representativos se muestran en la Figura 2.b.

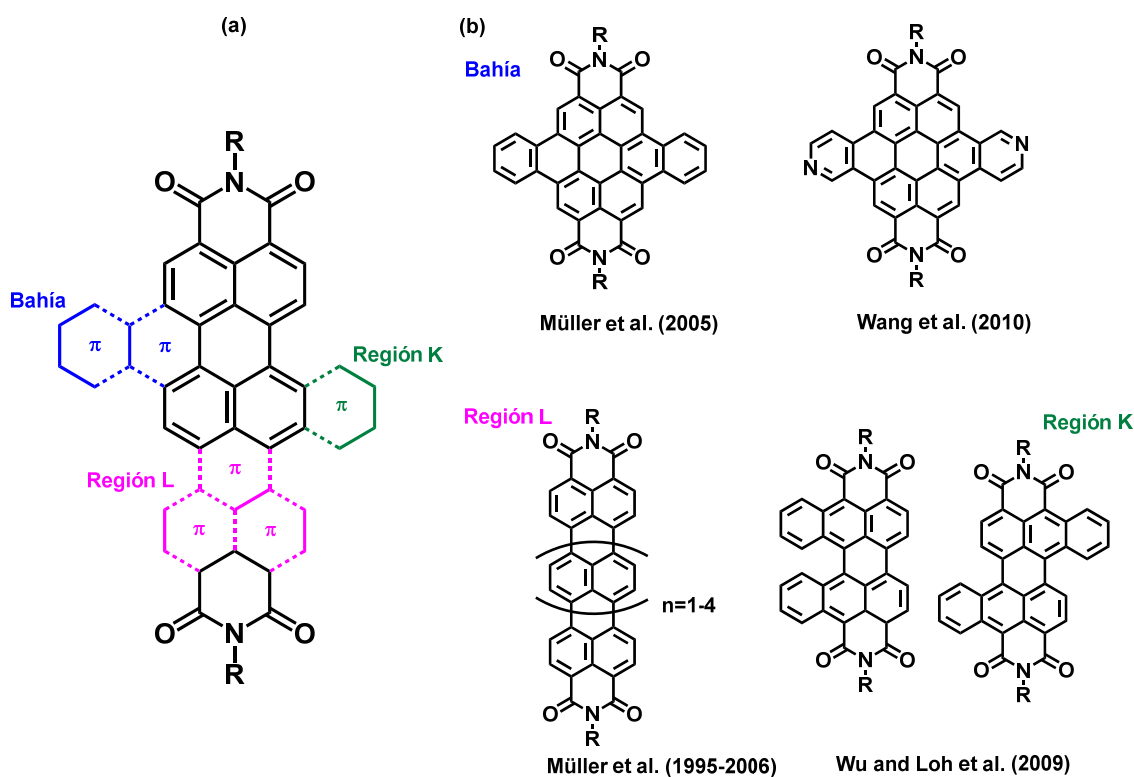


Figura 2. (a) Tipos de fusión en PDIs. (b) Ejemplos de fusión de PDIs.

La extensión del sistema conjugado π en las posiciones bahía de la PDI permite la construcción fácil del esqueleto coronénico. Para ello, se han planteado diferentes estrategias de síntesis, por ejemplo, Müllen y colaboradores han descrito la síntesis de dibenzocoroneno diimida a través de bromación y carbociclación catalizada por paladio(0).¹¹² Wang y colaboradores han sintetizado PDIs fusionadas con piridina a partir de PDIs bromadas por medio de acoplamiento Suzuki-Miyaura y subsecuente fotociclación¹¹³ (Figura 3). Las PDIs de núcleo extendido en la región K y en la región L han sido sintetizadas por Müllen et al.¹¹⁴ y Wu et al.,¹¹⁵ respectivamente. Todos estos

¹¹¹ Yan, Q., Cai, K., Zhang, C., Zhao, D. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4654-4657.

¹¹² Eversloh, C. L., Li, C., Müllen, K. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4148-4150.

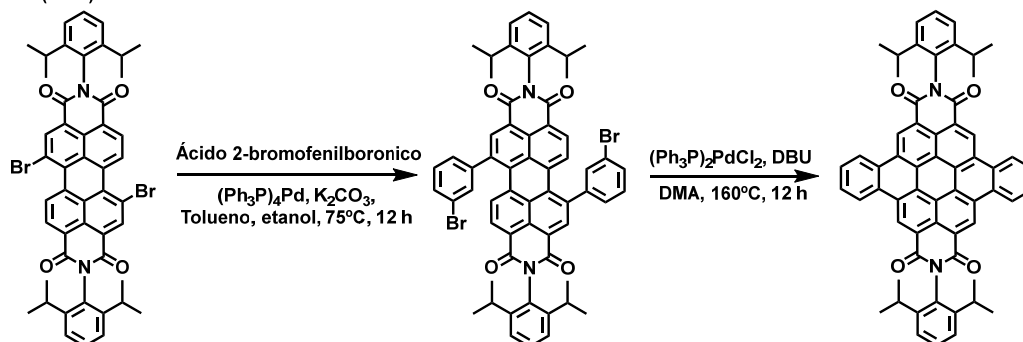
¹¹³ Jiang, W., Li, Y., Yue, W., Zhen, Y., Qu, J., Wang, Z. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 228-231.

¹¹⁴ Holtrup, F.O., Müller, G. R. J., Quante, H., De Feyter, S., De Schryver, F. C., Müllen, K. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 219-225.

¹¹⁵ Yao, J. H., Chi, C., Wu, J., Loh, K.-P. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9299-9302.

productos produjeron grandes desplazamientos batocrómicos en los espectros de absorción y emisión.

Müller et al. (2005)



Wang et al. (2010)

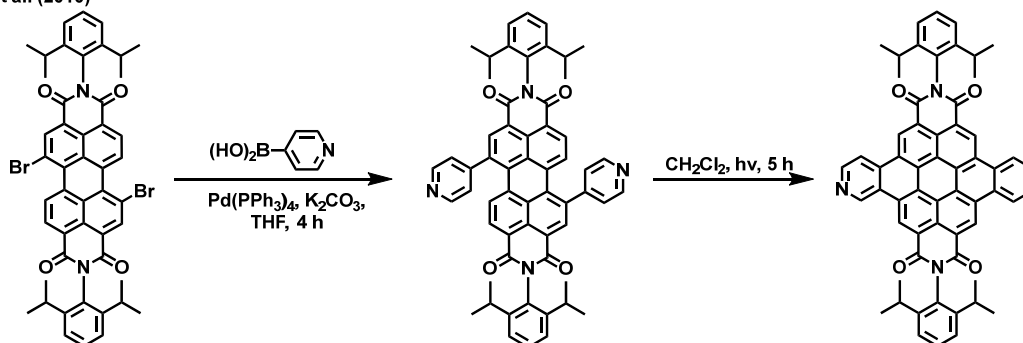


Figura 3. Ruta de síntesis para la formación de coroneno-diimidas.

La extensión del núcleo aromático de las PDIs ha surgido como uno de los temas activos de gran interés y ofrece acceso a diversas aplicaciones biológicas,¹¹⁶ así como en electrónica orgánica¹¹⁷ tales como diodos emisores de luz¹¹⁸ y transistores de efecto de campo.¹¹⁹ En particular, con los sistemas π expandidos en las regiones bahía de PDIs, una variedad de coroneno diimidas (CDIs) ha sido sintetizada, con ejemplos tales como la dibenzocoroneno diimida, dinaftalenocoroneno diimida,¹¹² heterocoroneno diimida,¹²⁰

¹¹⁶ (a) Franceschin, M., Alvino, A., Casagrande, V., Mauriello, C., Pascucci, E., Savino, M., Ortaggi, G., Bianco, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15 (4), 1848–1858. (b) Franceschin, M., Alvino, A., Ortaggi, G., Bianco, A. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45(49), 9015–9020.

¹¹⁷ (a) Herrmann, A., Müllen, K. *Chem. Lett.* **2006**, 35 (9), 978–985. (b) Samorí, P., Severin, N., Simpson, C. D., Müllen, K., Rabe, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (32), 9454–9457.

¹¹⁸ Rohr, U., Schlichting, P., Böhm, A., Gross, M., Meerholz, K., Bräuchle, C., Müllen, K., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1998**, 37 (10), 1434–1437.

¹¹⁹ a) Nolde, F., Pisula, W., Müller, S., Kohl, C., Müllen, K. *Chem. Mater.* **2006**, 18, (16), 3715–3725. (b) An, Z., Yu, J., Domercq, B., Jones, S. C., Barlow, S., Kippelen, B., Marder, S. R. *J. Mater. Chem.* **2009**, 19(37), 6688–6699.

¹²⁰ Li, Y., Li, Y., Li, J., Li, C., Liu, X., Yuan, M., Liu, H., Wang, S. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8378–8385.

pyridinocoroneno diimida,⁵ ditiofenocoroneno diimida,¹²¹ entre otras. Se observaron comportamientos ópticos y electrónicos distintivos para estas CDI como semiconductores de tipo n fusionados con diferentes unidades aromáticas.

Dado que el coroneno tiene un sistema aromático plano, altamente rígido y extendido con una deslocalización perfecta de la aromaticidad, los materiales semiconductores basados en estas estructuras serán de gran interés para aplicaciones en dispositivos electrónicos.¹²² Para el desarrollo de nuevos materiales basados en coroneno es de primordial importancia diseñar métodos sintéticos eficaces. Por ello, la construcción de estructuras de anillo fusionado no es trivial. Además, sólo se conocen unas pocas reacciones para la preparación de CDIs, que pueden considerarse como perilenodiimidas extendidas en bahía, por lo que la mayoría de las síntesis comienzan a partir de esta última.

En este capítulo la autora desarrolló nuevos derivados de perilenodiimida con el sistema extendido π en posición bahía, entre ellos un derivado de CDI, utilizando una metodología fácil, barata y respetuosa del medio ambiente.

¹²¹ Choi, H., Paek, S., Song, J., Kim, C., Cho N., Ko, J. *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 5509–5511.

¹²² Zhan, C., Jiang, Y., Yang, M., Lu, L., Xiao, S. *Chinese Chem. Lett.* **2014**, 25 (1), 65–68.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Diseño y síntesis del sistema expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.

Nuestro grupo de investigación se ha concentrado en el diseño y síntesis de colorantes de perilenodiimida con sistema π -expandido en posición bahía. La ruta de síntesis diseñada para la formación de estos derivados de PDI es mostrada en la figura 4. En primer lugar, es funcionalizada la posición imida del PDA con la ciclohexilamina; ésta es llevada a cabo en condiciones ya optimizadas en el laboratorio, con un 70% de rendimiento. En segundo lugar, las posiciones bahía del PDI fueron funcionalizadas por medio de una bromación y, posteriormente, se realizó un acoplamiento de Suzuki del éster borónico catalizado con paladio(0), procedimientos con condiciones ya optimizadas en el laboratorio, con un 50% de rendimiento para la bromación y un 78% de rendimiento para el acoplamiento vía Suzuki. Finalmente, por reacción fotoquímica, mediante la irradiación con luz visible/ultravioleta cercano, se obtienen los productos deseados **DR14** y **DR14.1**, con un rendimiento de 34 y 36%, respectivamente.

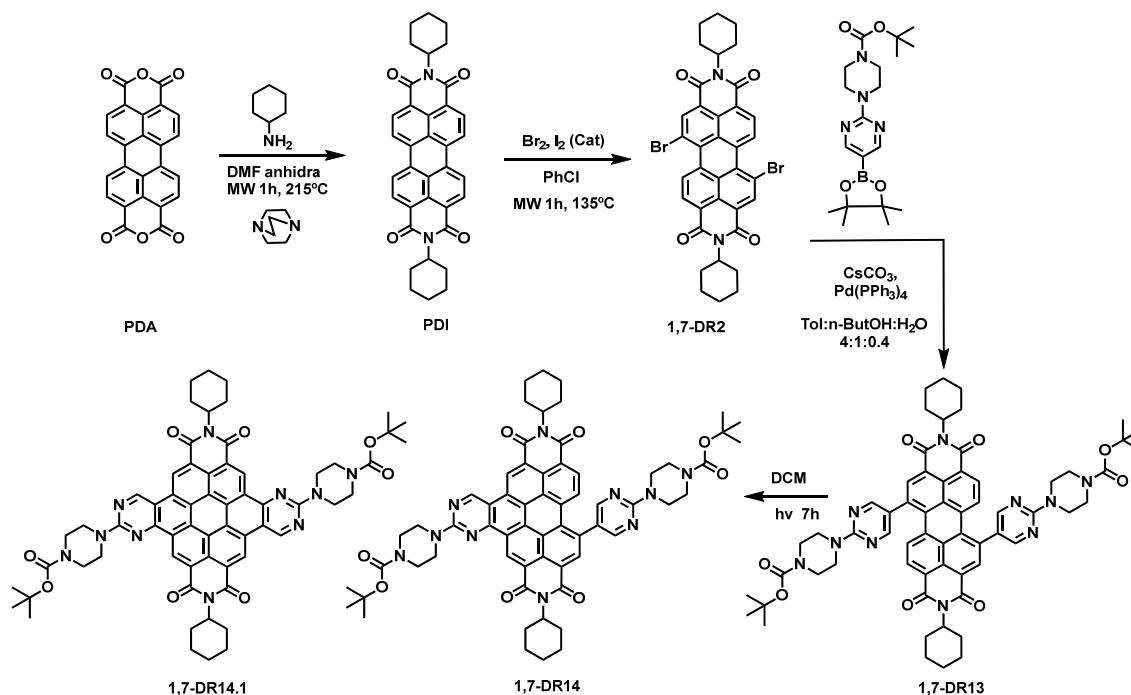


Figura 4. Ruta de síntesis para la formación de los derivados de PDI con sistema π -expandido.

La reacción de ciclación tiene lugar sin cantidades catalíticas de yodo o cualquier otro reactivo, procedimiento antes aplicado por diferentes autores.¹²³ La PDI **DR13** funcionalizada en bahía se disuelve en DCM y luego se irradia durante 7 horas con una lámpara halógena de 50 W. Por lo tanto, se trata de una ruta fácil, barata y respetuosa del medio ambiente para formar derivados de coroneno y sistemas π -expandidos del PDI.

Una mezcla de regioisómeros 1,6- y 1,7-**DR2** fue conseguida de la bromación. Estos regioisómeros no pueden ser separados por cromatografía de columna, Würthner y colaboradores¹²⁴ señalan que se forma una mezcla de regioisómeros en una proporción 60:40 del 1,7- y 1,6- que podría separarse por recristalización repetitiva de la mezcla de 1,7- y 1,6- a partir de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1:1) obteniéndose el regioisómero mayoritario 1,7-dibromo-PDI. Así que se realizó el proceso de recristalización. Éste fue monitorizado mediante espectroscopia de RMN ^1H a 300 MHz para evaluar el número de etapas de recristalización requeridas para la purificación completa. La recristalización se llevó a cabo para el compuesto **DR2** y se obtuvieron cristales rojos con un rendimiento de 32% para un total de cuatro repeticiones en el proceso de recristalización. En la figura 5 se muestran los RMN obtenidos, se observa cómo la señal entre 9.46 y 9.42 ppm se presenta como un doble doblete en la mezcla de regioisómeros, asimismo la señal entre 8.66 y 8.63 ppm. Sin embargo, a partir de la segunda recristalización dichas señales se convierten en dobletes. El procedimiento resulta tedioso por el largo tiempo invertido en las recristalizaciones sucesivas y el bajo rendimiento, pero se llega a una pureza razonable del isómero 1,7-PDI, como producto de partida para la obtención de los siguientes compuestos sintetizados.

¹²³(a) Li, Y., Zheng, H., Li, Y., Wang, S., Wu, Z., Liu, P., Gao, Z., Liu, H., Zhu, D. *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (8), 2878–2885. (b) Schmidt, C. D., Lang, N., Jux, N., Hirsch, A. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 5289–5299.

¹²⁴ Würthner, F., Stepanenko, V., Chen, Z., Saha-Möller, C. R., Kocher, N., Stalke, D. *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 7933–7939.

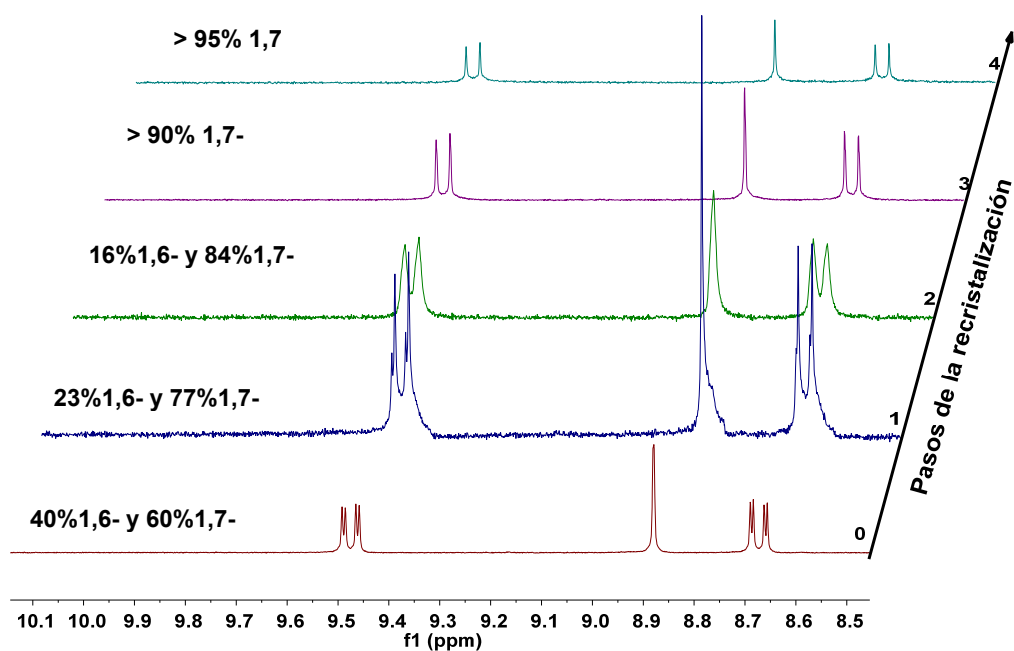


Figura 5. Espectros de ^1H RMN de los estadios de la purificación del isómero 1,7-dibromo PDI.

Caracterización de los compuestos con sistema expandido π en posición bahía de las PDI disustituidas.

Las estructuras de los compuestos **DR13**, **DR14** y **DR14.1** quedaron confirmadas mediante las técnicas habituales de caracterización en síntesis orgánica. Los espectros de RMN de protón (Figura 6) muestran las señales de los hidrógenos aromáticos para el **DR13** en la zona de campo bajo con un desplazamiento químico, entre 8.59 y 8.05 ppm. Por otro lado, se observa un apilamiento de las señales en esta zona para **DR14** debido a la restricción que le añadimos a la molécula por la extensión del sistema π , mientras para **DR14.1** se tuvo que agregar TFA deuterado para aumentar la solubilidad de la muestra en cloroformo, por lo que se observa un desplazamiento de las señales hacia la izquierda; por la simetría de este derivado de CDI se aprecian solo dos señales en 10.79 y 10.56 ppm. En campo alto se muestran las señales correspondientes a los protones del grupo imida, piperazina y ciclohexilamina, es apreciable que una de las señales de la piperazina que aparece en 4 ppm en **DR14** se desdobra en un doblete por la disimetría del PDI en la posición bahía en este derivado.

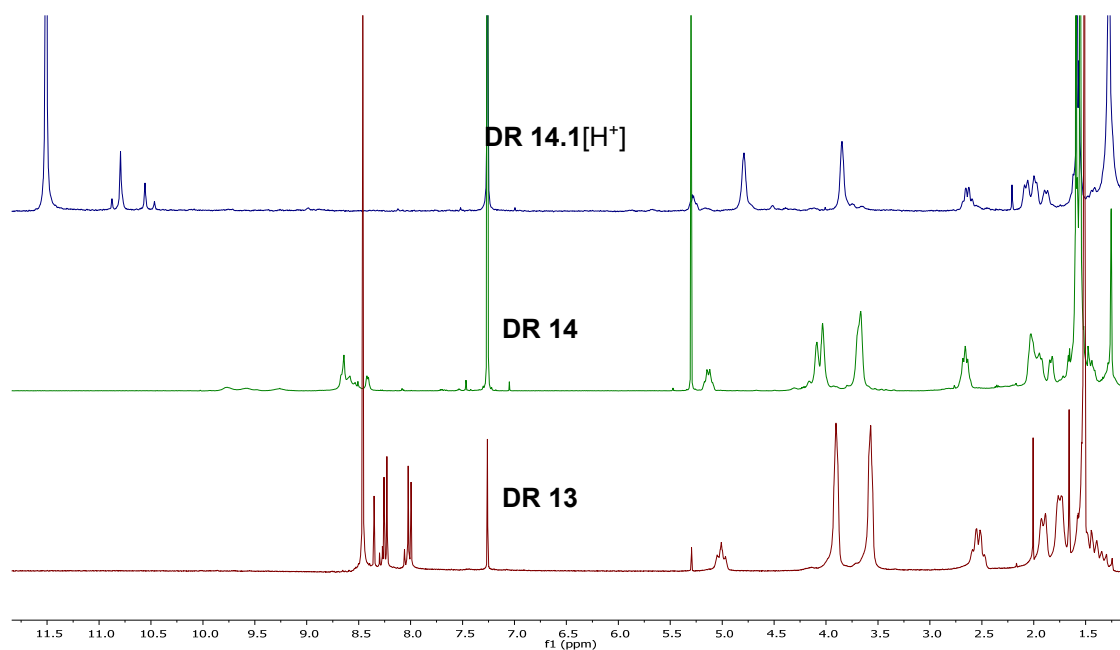


Figura 6. Espectro de RMN de protón de los compuestos **DR13**, **DR14** y **DR14.1**.

Para el compuesto **DR14** se realizó un espectro de RMN de ^1H a temperatura variable para probar si se elucidaba una mejor resolución del espectro (Figura 7). Lo que se observó fue que las señales aromáticas y alifáticas a bajas temperatura se ensanchan, posiblemente por la formación de agregados, mientras que las señales de los hidrógenos de la piperazina se mueven al unísono y se unen para formar un singulete, es posible que el par solitario del nitrógeno se conjuga con el sistema π resultando en una barrera significativa a la rotación de la piperazina de manera que el radio de rotación disminuya. La señal en 3.19 ppm correspondiente a algunos de los protones de la ciclohexilamina se intensifica a bajas temperaturas lo que pudiera señalar que los hidrógenos de la ciclohexilamina a bajas temperaturas son equivalentes.

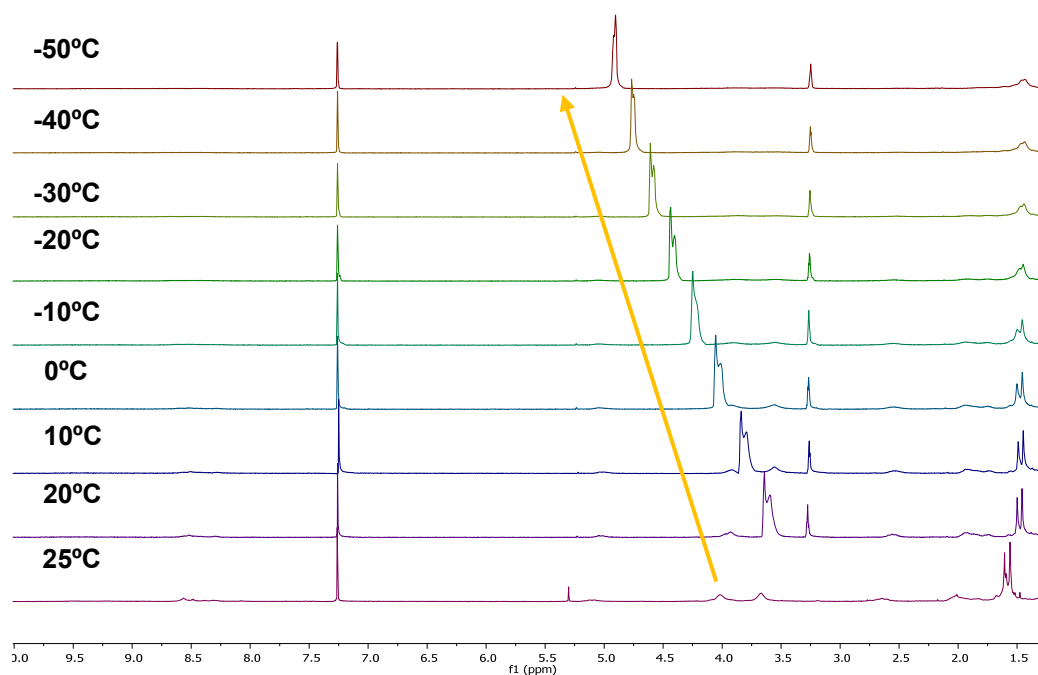


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H para el compuesto **DR14** a temperatura variable.

Los espectros RMN de carbono 13 de los compuestos **DR13**, **DR14** y **DR14.1** (Figura 8) muestran señales de baja intensidad entre 173.5 y 154.5 ppm, correspondientes a los grupos carbonilo del PDI y del grupo Boc. Entre 135.8 y 118.6 ppm se observan los carbonos Sp^2 del esqueleto de PDI, en esta zona se aprecia una disminución en la intensidad de las señales para **DR14** y **DR14.1** debido a la mayor asociación molecular, producto de la ciclación, que hace que las señales casi desaparezcan en el caso de **DR14.1** y se vean las señales de las impurezas del disolvente magnificadas. Por último, a desplazamientos bajos, de 43 a 11 ppm, se observan las señales CH_2 y CH_3 del grupo Boc, piperazina y ciclohexilamina.

Los espectros FTIR muestran las bandas características del grupo imida a 1658 cm^{-1} y la señal característica del grupo carbonilo a 1696 cm^{-1} para los tres compuestos. Finalmente, la estructura de los compuestos quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución.

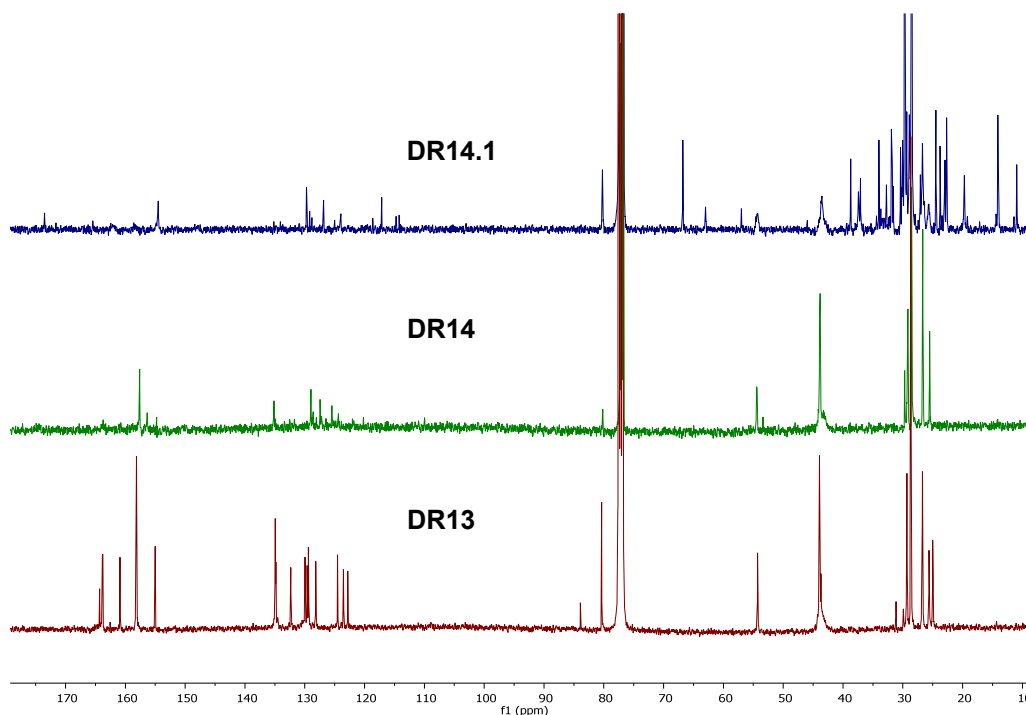


Figura 8. Espectros de RMN de ^{13}C para DR13, DR14 y DR14.1.

Propiedades ópticas de la PDI disustituidas con sistema expandido π en posición bahía.

Se registraron los espectros de absorción UV-vis de los diferentes compuestos obtenidos en la sección anterior en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de $10\ \mu\text{M}$ (Figura 9).

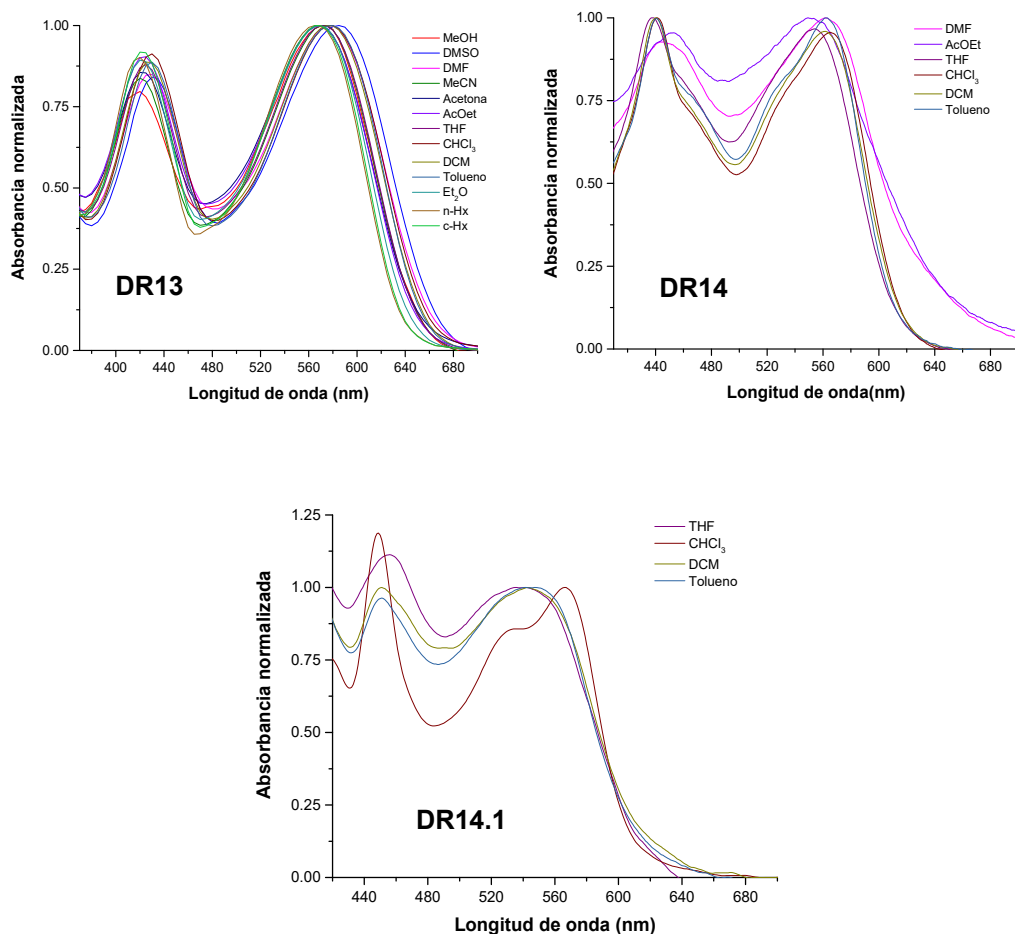


Figura 9. Espectros de absorción de los compuestos **DR13**, **DR14** y **DR14.1**.

Se aprecia una disminución de la solubilidad en los colorantes **DR14** y **DR14.1**, ambos presentan una expansión del sistema π en posición bahía del núcleo del PDI, luego de la ciclación fotoinducida, por ello muestran mayor planaridad, aumentando la simetría de los compuestos, por lo que tienden a apilarse en mayor proporción. Su solubilidad se limita a disolventes orgánicos menos polares como el cloroformo o diclorometano. Se observa un desplazamiento hipsocrómico de unos 15 y 14 nm para **DR14** y **DR14.1**, respectivamente (Figura 10) resultados similares han sido descritos por otros autores al obtener derivados de CDI.^{14b,125} Por lo general, un cambio hipsocrómico en los espectros de absorción indica la presencia de H-

¹²⁵ Xu, L., Zhang, Q. *Sci. China Mater.* **2017**, 2, 1–9.

agregados formados por apilamiento π - π , debido a la ciclación entre los grupos en posición bahía y el núcleo de la PDI.¹²⁶

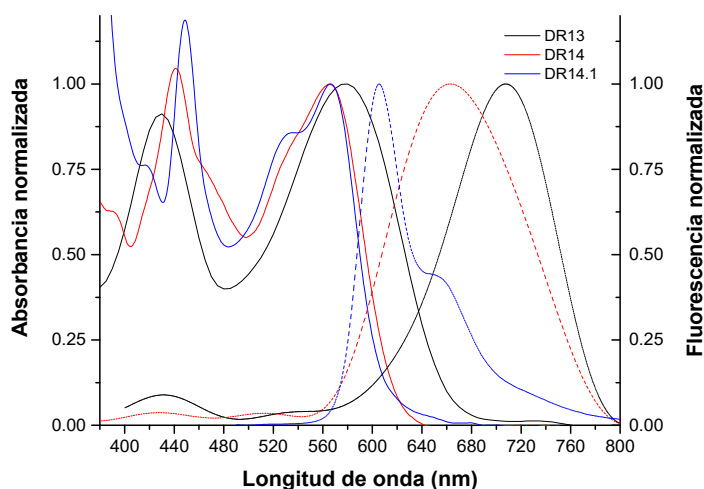


Figura 10. Espectros de absorción UV-vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR13** ($\lambda_{exc} = 418$ nm), **DR14** y **DR14.1** ($\lambda_{exc} = 450$ nm) en cloroformo.

Se puede observar que para todos los colorantes se tiene una absorción integrada en una región de longitud de onda entre 480-680 nm, así como un desplazamiento batocrómico por el aumento de la polaridad del disolvente. La absorción espectral de todos los compuestos está dominada por transiciones π - π^* características con una estructura fina vibratoria bien definida. Para todos los compuestos las bandas de absorción atribuidas a la transición electrónica S_0 - S_1 están situadas alrededor de 580, 564 y 566 nm para **DR13**, **DR14** y **DR14.1**, respectivamente, en cloroformo. Para el caso **DR14.1** presenta un hombro entre 500 y 530 nm posiblemente causado por una mayor deslocalización de electrones debido a la formación del coroneno. En cuanto a los coeficientes de absorción molar fueron de 93194, 19600 y 14700 $M^{-1} cm^{-1}$ para **DR13**, **DR14** y **DR14.1**, respectivamente.

En todos los compuestos se exhibe una banda de absorción similar alrededor de 380 y 480 nm, ésta puede atribuirse a la absorción de la unidad proveniente del éster borónico; para comprobar dicha afirmación se procedió a realizar el espectro de absorción para **DR13**, **DR1** y el éster borónico utilizado, los resultados son mostrados en la figura 11. Al superponer los espectros de absorción se observa cómo la unidad de éster borónico presenta una banda de

¹²⁶ González, D. *An. Quím*, **2011**, 107, 310–317.

absorción a 320 nm, al unirse en la posición bahía del PDI esta banda se desplaza hasta los 420 nm. Un desplazamiento similar ocurre para la banda del PDI sin sustituyente (**DR1**). Las absorciones de la unidad procedente del éster borónico, después de la ciclación en posición bahía, son desplazadas hacia el rojo en aproximadamente 20 nm.

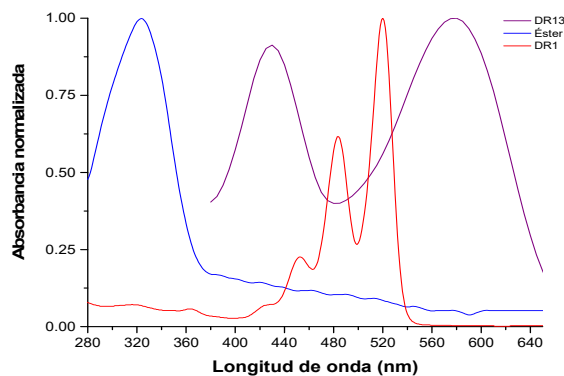


Figura 11. Espectro de absorción de **DR1**, éster borónico y **DR13**.

Los espectros de emisión de los diferentes colorantes en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y una concentración de 10 μM se muestran en la figura 12.

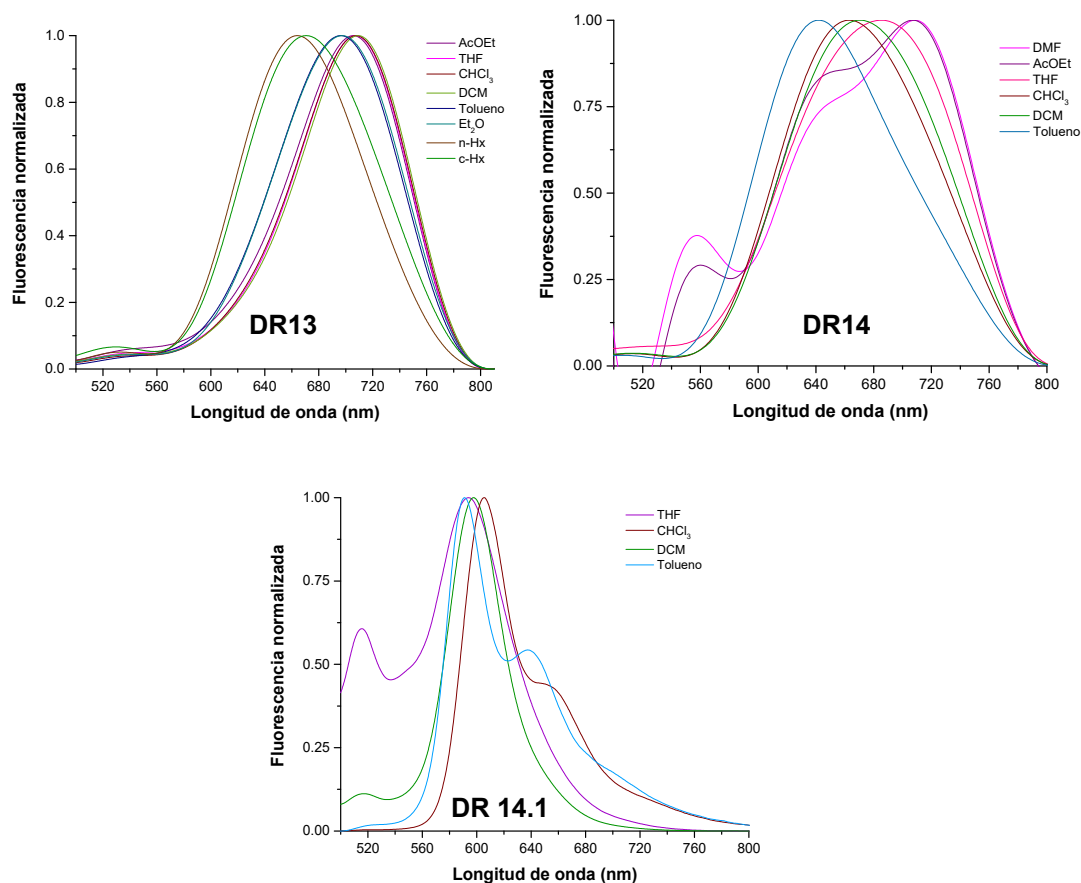


Figura 12. Espectros normalizados de emisión para **DR13** ($\lambda_{exc}= 418$ nm), **DR14** y **DR14.1** ($\lambda_{exc} = 450$ nm).

Los compuestos **DR13** y **DR14** presentan un solo pico de emisión entre 600 y 700 nm. Mientras que para **DR14.1** se observan dos picos de fluorescencia de 560 a 630 nm y 630 a 680 nm. Por la polaridad del disolvente se aprecia un cambio batocrómico para los tres compuestos, más pronunciado en **DR13** y **DR14.1** de unos 35 y 65 nm, aproximadamente, para **DR14.1** el cambio fue de solo 14 nm. Por lo que la estabilización de estas moléculas en el estado excitado es más relativa que en el fundamental. En algunos disolventes los espectros de fluorescencia no son imágenes especulares de los correspondientes espectros de absorción lo que es indicativo de que las moléculas se agregan en cierta medida a esa concentración en esos disolventes.

El desplazamiento de Stokes para los colorantes **DR13**, **DR14** y **DR14.1** fue de 127 nm, 97 nm y 39 nm, respectivamente. Esto demuestra que la ciclación en posiciones bahía del PDI disminuye el desplazamiento de Stokes.

También muestra que la ampliación del sistema de conjugación del PDI contribuye al desplazamiento en azul de las bandas de absorción y emisión, probablemente indica la presencia de H-agregados formados por apilamiento π - π , lo que no es de extrañar, pues al expandir el sistema conjugado los compuestos se vuelven más planos y simétricos favoreciendo este tipo de apilamiento.^{14b} Estos cambios en conjunto son indicativos de una conjugación π mejorada a lo largo del eje corto molecular y que presenta una estructura molecular con una planariedad/rigidez mejorada tras la fotociclización, lo cual es consistente con los informes teóricos y experimentales anteriores.¹²⁷

En cuanto a los rendimientos cuánticos de fluorescencia, se observa un aumento en los colorantes **DR14** y **DR14.1** con relación a su precursor **DR13**. Para el tiempo de vida excitado del singlete son bastante largos en todos los compuestos sintetizados (superior a 6 ns, Tabla 1). Para todos los compuestos, el tiempo de vida fue ajustado a una función bi-exponencial con un componente largo (10.1, 9.3 y 10.5 ns) y un componente corto (6.29, 7.20 y 6.78). El componente corto corresponde a las distintas fluorescencias estacionarias de PDI para cada uno de los compuestos y el componente largo puede atribuirse a la emisión de estados "similares a los excímeros", éstos muestran tiempos de vida de fluorescencia más largos que los del monómero. La presencia de excímeros es reportada también por otros autores en moléculas de perileno en solución.¹²⁸

Tabla 1. Propiedades físicas de los compuestos **DR13**, **DR14** y **DR14.1**.

Compuesto	Disolvente	Φ_f	%	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR13	CHCl ₃	0.26	44.71	6.29	>350
			55.29	10.18	
DR14	CHCl ₃	0.60	31.87	7.20	>350
			68.13	9.32	
DR14.1	CHCl ₃	0.53	35.20	6.79	>350
			64.80	10.59	

¹²⁷ (a) Adachi, M., Nagao, Y., *Chem. Mater.*, **2001**, 13, 662-669. (b) Adachi, M., Murata, Y. *J. Phys. Chem. A*. **1998**, 102, 841-845. (c) Usta, H., Newman, C., Chen, Z., Facchetti, A. *Adv. Mater.* **2012**, 3678–3684.

¹²⁸ Latterini, L., Roscini, C., Carlotti, B., Aloisi, G. G., Elisei, F. *Phys. Status Solidi Appl. Mater. Sci.* **2006**, 203 (6), 1470–1475.

Estudios de asociación

La morfología de los compuestos sintetizados fue estudiada por la técnica de microscopía de fuerza atómica (AFM por sus siglas en inglés) para comprobar la forma de asociación de los colorantes. Los compuestos fueron disueltos en cloroformo y DCM:MeOH (9:1) preparados a diferentes concentraciones. Se probaron dos tipos de disolventes, uno que disolviera la muestra, y otro una mezcla (con un buen y mal disolvente) para comprobar que la agregación de los colorantes era la misma. En la figura 13 se muestran las imágenes de AFM de los compuestos sintetizados.

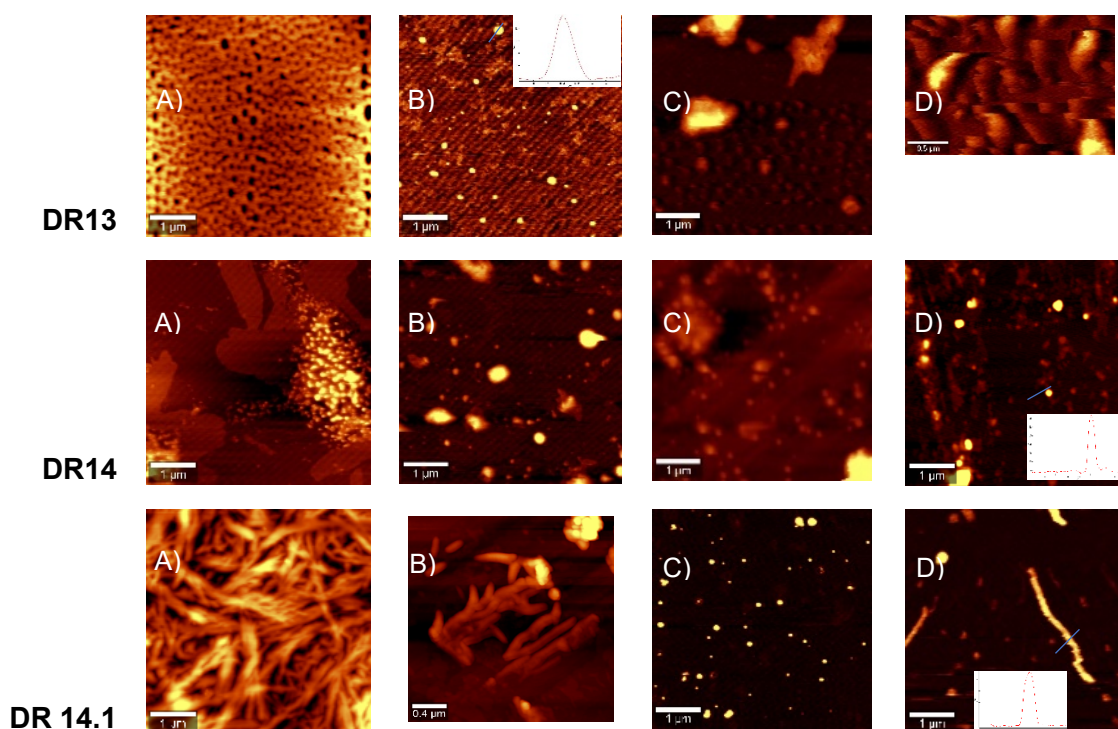


Figura 13. Imágenes de AFM de los compuestos A) 0.01 mg/mL en DCM, B) 0.5 $\mu\text{g/mL}$ en cloroformo, C) 0.5 $\mu\text{g/mL}$ en DCM:MeOH, D) 0.5 $\mu\text{g/mL}$ en DCM:MeOH

En primer lugar, la topografía de los colorantes es distinta después del proceso de ciclación, predominando las nanofibras sobre las nanoesferas (**DR13 A** y **DR14.1 A**). En segundo lugar, el tamaño de las nanopartículas varía. Para **DR13 (B)** se aprecian nanopartículas esféricas bien definidas de tamaño 2.7 nm a 15 nm en cloroformo, mientras que en la mezcla de disolvente (**DR13 C** y **D**) se observan no solo partículas amorfas de gran tamaño, sino partículas en forma de bastoncillos alargados en dirección vertical de unos

10 nm. Para los compuestos con sistema π expandido las nanopartículas esféricas presentan un aumento significativo en el tamaño de las esferas desde 3 hasta 55 nm en cloroformo (**DR14 B**) mientras que en DCM:MeOH se favorece la formación de agregados. Finalmente para el colorante **DR14.1** se muestra el mismo efecto de aumento significativo en el tamaño de la nanoesfera de unos 70 nm, pero también la formación de nanofibras de 30 nm de alto y hasta 3 μm de longitud, predominantes en la estructura de los agregados.

Diseño y síntesis de PDIs con sistema expandido π partiendo de un derivado monosustituido en posición bahía de la PDI.

La ruta de síntesis diseñada comienza con PDA que primero es funcionalizado con ciclohexilamina, descrito anteriormente. La PDI obtenida es monobromada bajo condiciones suaves siguiendo los procedimientos propios del laboratorio, se consiguió aumentar el rendimiento de 25% a 40% al disminuir los equivalentes de Br_2 a 7. Mediante el uso de un protocolo de reacción estándar con éster borónico para el acoplamiento de Suzuki, se produce la reacción para formar el colorante **DR17**, con un 67% de rendimiento. Posteriormente se procede a la ciclación con luz, la cual produce el derivado **DR18** con un 90% de rendimiento. La eliminación del grupo protector *tert*-butoxicarbonil (*t*-Boc) con ácido trifluoroacético (TFA) conduce a la formación del compuesto **DR29** con un 70% de rendimiento (Figura 14). La ciclación de la PDI **DR17**, monosustituida en posición bahía, para formar el compuesto ciclado **DR18** es notablemente más rápida (30-60 min) en comparación con la PDI **DR13** disustituida, probablemente porque la segunda ciclación que lleva al coroneno **DR14.1** sea mucho más lenta (7h).

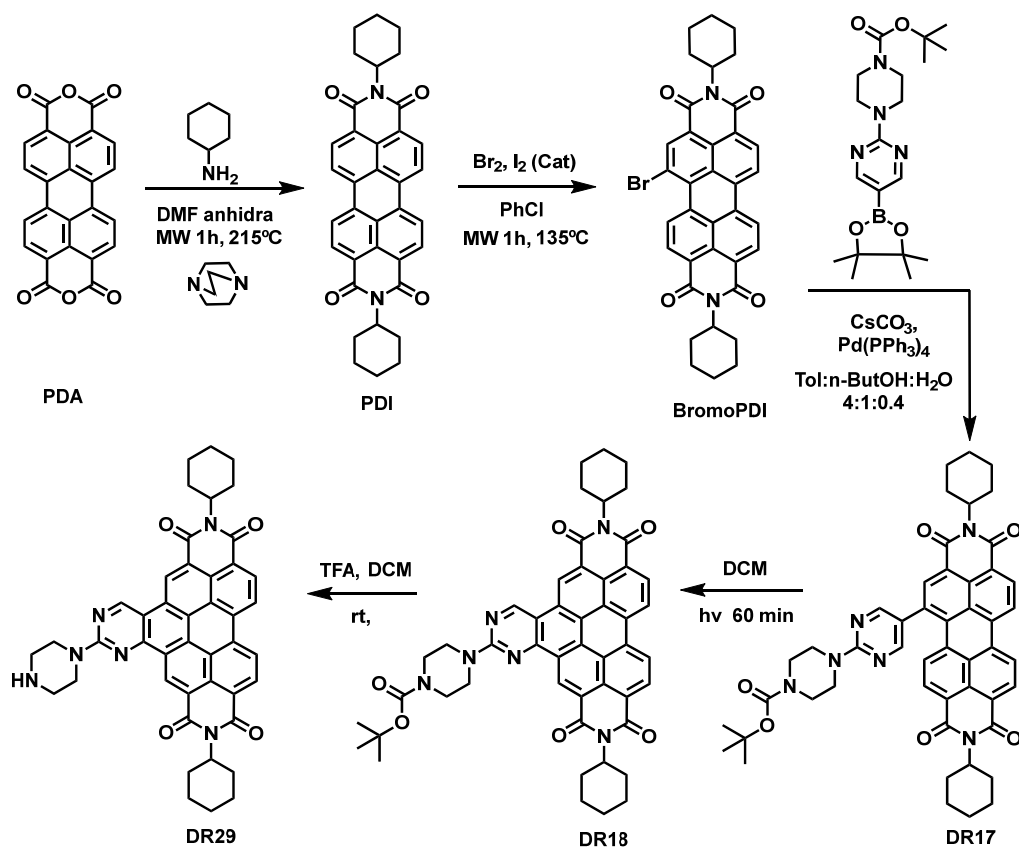


Figura 14. Ruta de síntesis de las hemicoronendiimidas **DR18** y **DR29**.

Caracterización de los compuestos monosustituídos con sistema expandido π en posición bahía del PDI.

Los compuestos fueron caracterizados por las técnicas habituales de identificación en síntesis orgánica. El espectro de RMN de protón para **DR17** (Figura 15) muestra 4 dobletes en 8.51, 8.41, 8.14 y 7.89 ppm correspondientes a los protones del núcleo del PDI, el resto de las señales aromáticas aparecen como un conjunto de singletes entre 8.31 y 8.23 ppm. En **DR18** y **DR29** estas señales son desplazadas hacia la izquierda debido a que se añadió al disolvente TFA deuterado para mejorar su solubilidad en cloroformo. Se observa en estos compuestos el desplazamiento de la señal correspondiente a la piperazina por la restricción que impide el movimiento rotatorio del brazo del sistema aromático. En **DR29** se observa la desaparición de la señal del grupo Boc en 1.56 ppm y la aparición de un singlete en 2.20 ppm correspondiente al protón de la amina secundaria, lo que indica una desprotección efectiva.

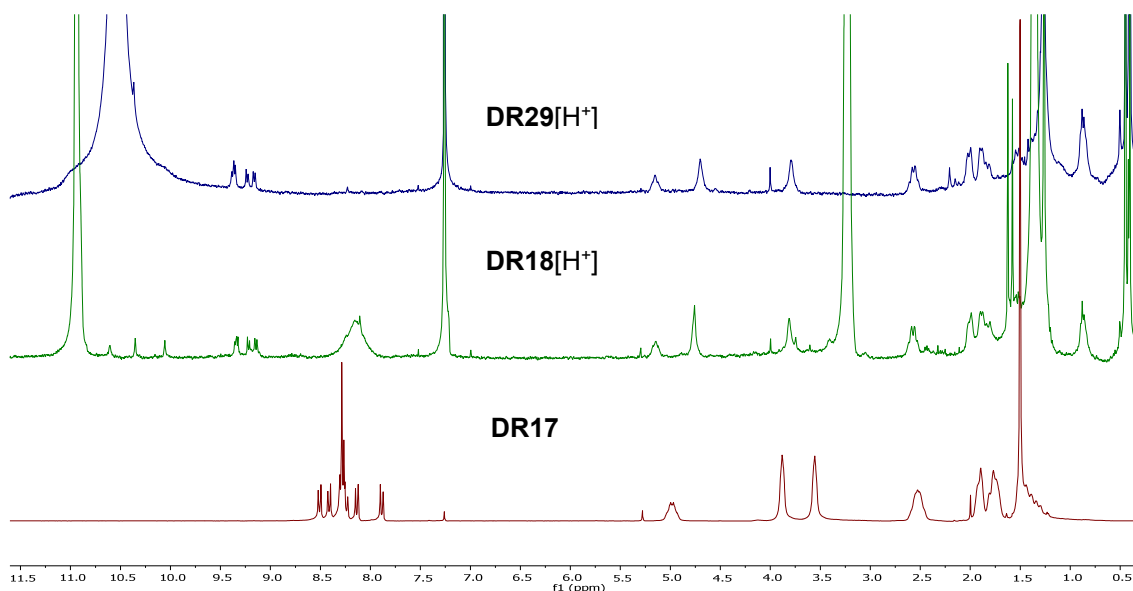


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H para **DR17**, **DR18** y **DR29**.

Los espectros FTIR muestran las bandas características del grupo imida entre 1658 cm^{-1} para **DR17** y **DR18**. En **DR29** la señal aparece en 1703 cm^{-1} y la de la amina secundaria en 3515 cm^{-1} . Con respecto al grupo carbonilo la señal aparece en 1699 cm^{-1} para los **DR17** y **DR18**. Finalmente, la estructura de los compuestos quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución (MALDI).

Propiedades ópticas de las PDI monosustituidas con sistema expandido π .

Se registraron los espectros de UV-visible en soluciones de 10 μM de los compuestos **DR17**, **DR18** y **DR29** en distintos disolventes a temperatura ambiente con el fin de estudiar su comportamiento solvatocrómico. Como se puede apreciar en la figura 16.

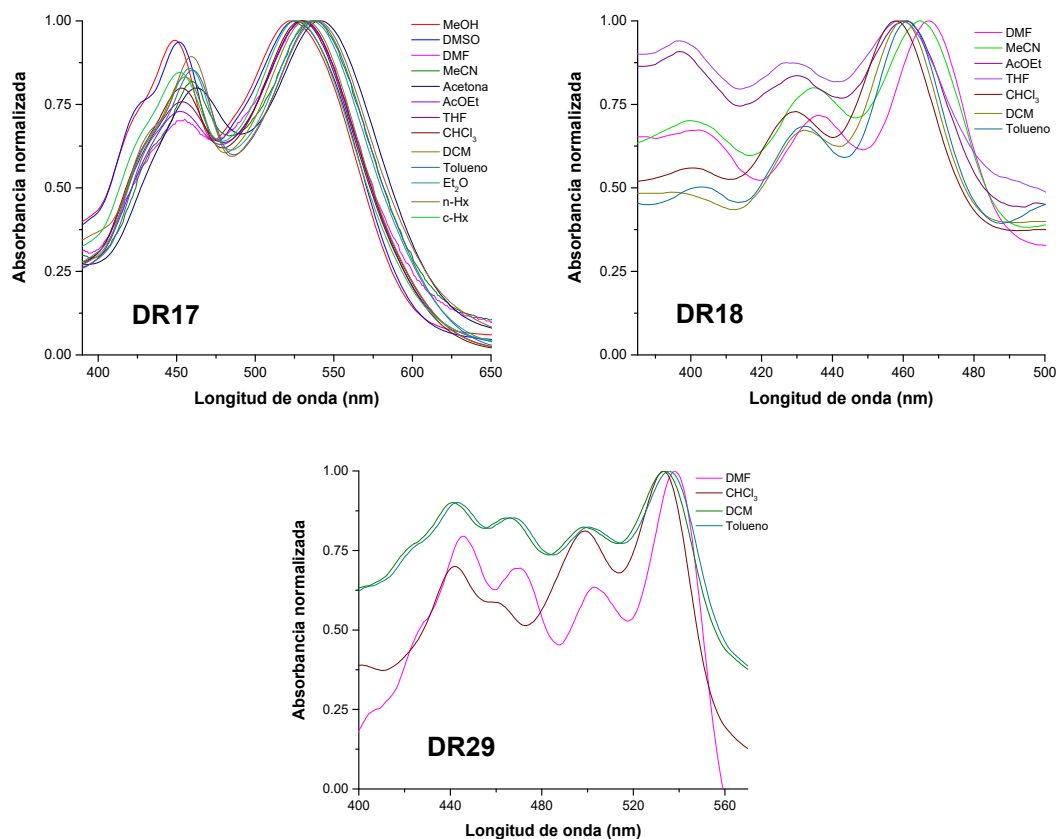


Figura 16. Espectro normalizado de absorción para los compuestos **DR17**, **DR18** y **DR29**.

El cierre del anillo intramolecular lleva a una disminución de la solubilidad del compuesto **DR18**, producto de la planariedad que presenta, por lo que el porcentaje de apilamiento y la asociación intermolecular a dímeros, trímeros o agregados superiores es mayor. Se solubiliza mejor en disolventes orgánicos menos polares como cloroformo, diclorometano y tolueno. De la misma forma que para el compuesto desprotegido **DR29**.

En general se observa un solvatocromismo positivo de unos 15 y 9 nm para **DR17** y **DR18**, respectivamente. Sin embargo, en el caso de **DR17** para

disolventes más polares como MeOH y DMSO se aprecia un desplazamiento hipsocrómico de unos 3 nm. Para **DR29** se obtuvo un cambio batocrómico de 5 nm. Se tiene una absorción integrada en una región de longitud de onda entre 500-650 nm, 420-500 nm y 480-600 nm para **DR17**, **DR18** y **DR29**, respectivamente. En el espectro de absorción igual que en el caso de los disustituidos aparece la señal de la unidad procedente del éster borónico en 434, 400 y 440 nm en los compuestos **DR17**, **DR18** y **DR29**, respectivamente.

Los máximos de absorción de los compuestos **DR17** y **DR18** resultan en un desplazamiento hacia bajas longitudes de onda (74 nm) al aumentar el tamaño del núcleo del PDI. Pero al desproteger el compuesto (**DR29**) se tiene que el máximo de absorción coincide con el del precursor (**DR17**, Figura 17). Además, para **DR18** y **DR29** el espectro de absorción presenta la estructura fina vibrónica de perileno típica, tal como se observa para la mayoría de las tetracarboxidiimidias de perileno y coroneno discutidas anteriormente.

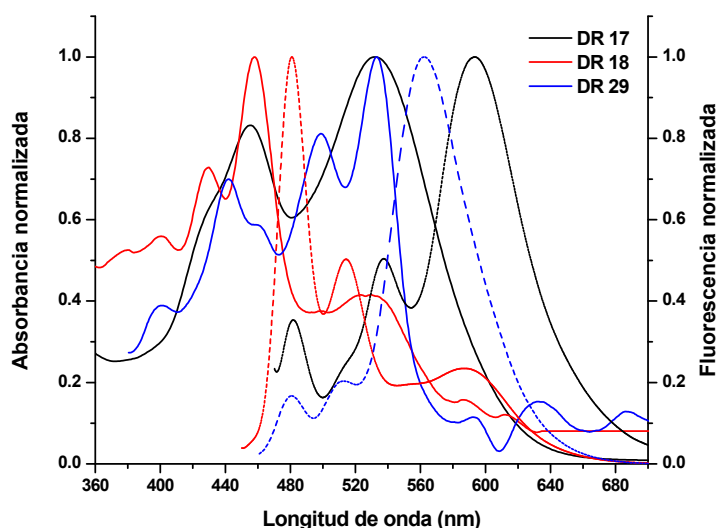


Figura 17. Espectros de absorción Uv-Vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR17**, **DR18** ($\lambda_{exc}=434$ nm) y **DR29** ($\lambda_{exc}=443$ nm) en cloroformo.

Los espectros de emisión de los diferentes colorantes obtenidos en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de 10 μ M se muestran en la figura 18.

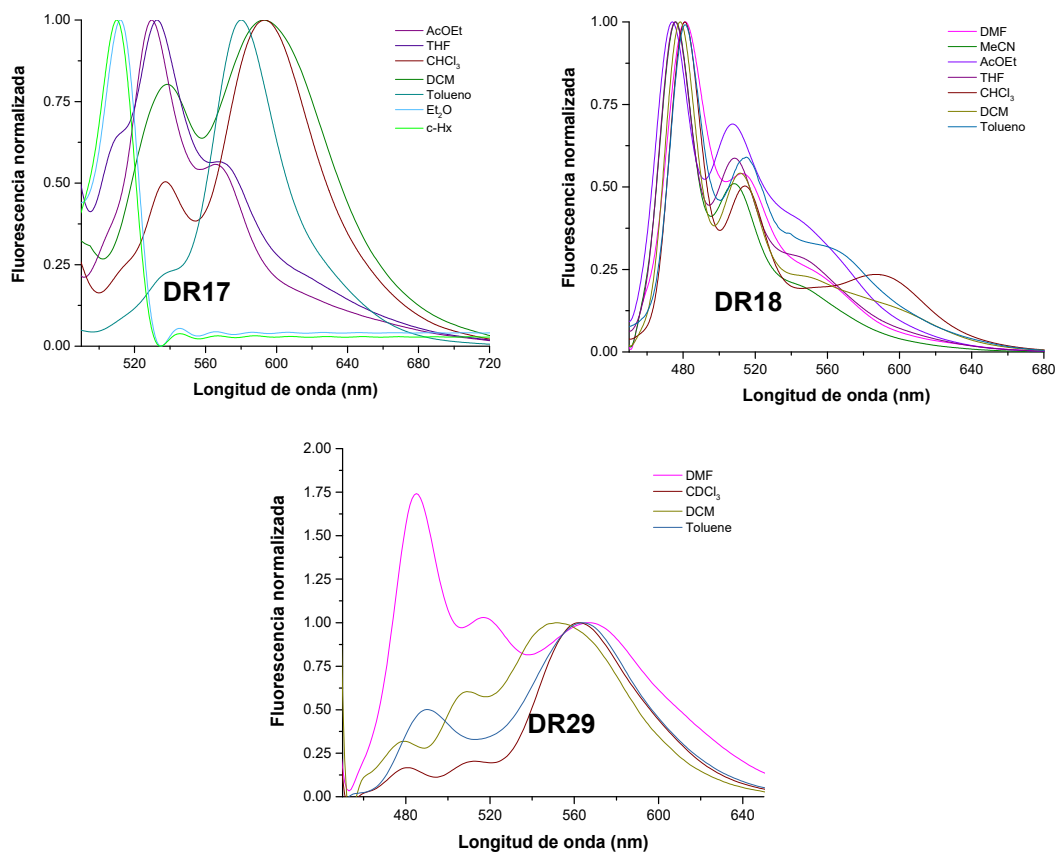


Figura 18. Espectro de emisión normalizado para DR17, DR18 y DR29.

En el caso de **DR17** se observa el efecto más pronunciado del disolvente con un desplazamiento batocrómico de 83 nm, en **DR18** fue de 14 nm y para **DR29** se tuvo un solvatocromismo negativo de 15 nm. En algunos disolventes los espectros de fluorescencia no son imágenes especulares de los correspondientes espectros de absorción lo que es indicativo que las moléculas se agregan en cierta medida a esta concentración en esos disolventes.

El desplazamiento de Stokes para los compuestos **DR17**, **DR18** y **DR29** fue de 61 nm, 23 nm y 30 nm. De manera que al expandir el sistema conjugado π disminuye el desplazamiento de Stokes. Además, el producto obtenido después de la ciclación se desplaza hacia el azul según sus bandas de absorción y emisión (Figura 17), probablemente, indica la presencia de H-agregados formados por apilamiento $\pi-\pi$, pues la estructura de la molécula cíclica de **DR18** favorece el apilamiento. Sin embargo al desproteger la molécula (**DR29**) tiene el efecto inverso presentando un desplazamiento al rojo.

Con respecto a los rendimientos cuánticos de fluorescencia, éstos aumentaron en los colorantes **DR18** y **DR29** con relación a su precursor **DR17**. El tiempo de vida aumentó en los compuestos ciclados y en mayor proporción con la desprotección del grupo Boc en **DR29** (Tabla 2). Para los compuestos **DR18** y **DR29**, el tiempo de vida fue ajustado a una función bi-exponencial con un componente largo (5.32 y 7.32 ns) y un componente corto (2.00 y 2.24), respectivamente. Esto se debe, como ya lo hemos reseñado anteriormente, a que además del compuesto, se facilite la formación de agregados debido a las relaciones intermoleculares por la planariedad que presentan estas moléculas.

Tabla 2. Propiedades físicas de los compuestos **DR17**, **DR18** y **DR29**.

Compuesto	Disolvente	Φ_f	%	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR17	CHCl ₃	0.18	100	3.89	234-236
DR18	CHCl ₃	0.30	78.62	2.00	>350
			21.38	5.32	
DR29	CHCl ₃	0.45	9.73	2.24	>350
			90.27	7.32	

Estudios de asociación

La forma de asociación de estos colorantes fue estudiada a través de su morfología usando la técnica de microscopía de fuerza atómica. Para ello, estos compuestos fueron disueltos en cloroformo y DCM:MeOH (9:1) y se prepararon diferentes concentraciones. Se probaron dos tipos de disolventes, uno que disolviera la muestra, y otro una mezcla (con un buen y mal disolvente) para comprobar que la agregación de los colorantes eran la misma. En la Figura 19 se muestran las imágenes de AFM de los compuestos sintetizados.

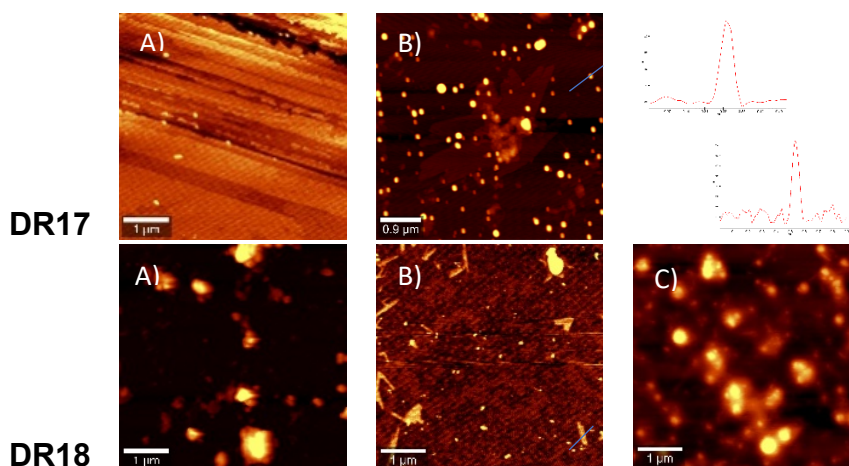


Figura 19. Imágenes de AFM de los compuestos A) 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en Cloroformo, B) 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en DCM:MeOH, C) 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en DCM:MeOH.

La topografía de los compuestos es distinta, después del proceso de ciclación, predominando la formación de agregados y la presencia de alguna nanofibra. Por otro lado, existe la variación en el tamaño de las nanopartículas. Para **DR17** (A) se aprecian nanopartículas esféricas y alargadas bien definidas con un tamaño de 4 nm a 9 nm en cloroformo, mientras que en la mezcla de disolvente (B) presenta partículas esféricas bien definidas de mayor tamaño de 5 hasta 70 nm. Para el compuesto con sistema π expandido predominan las nanopartículas más amorfas con un aumento significativo en el tamaño de 15 hasta 160 nm en cloroformo (**DR18** A) mientras que en DCM:MeOH se favorece la formación de agregados, sin embargo, se aprecian nanopartículas esféricas de 4 a 50 nm y también algunas nanofibras muy pequeñas de unos 3 nm de altura y 0.6 μm de longitud.

CONCLUSIONES

Se ha presentado un eficiente método de síntesis de tres nuevos derivados con sistema expandido π basados en perilenodiimidias por fotociclación. Estos compuestos están disponibles a través de una ruta fácil, barata y directa.

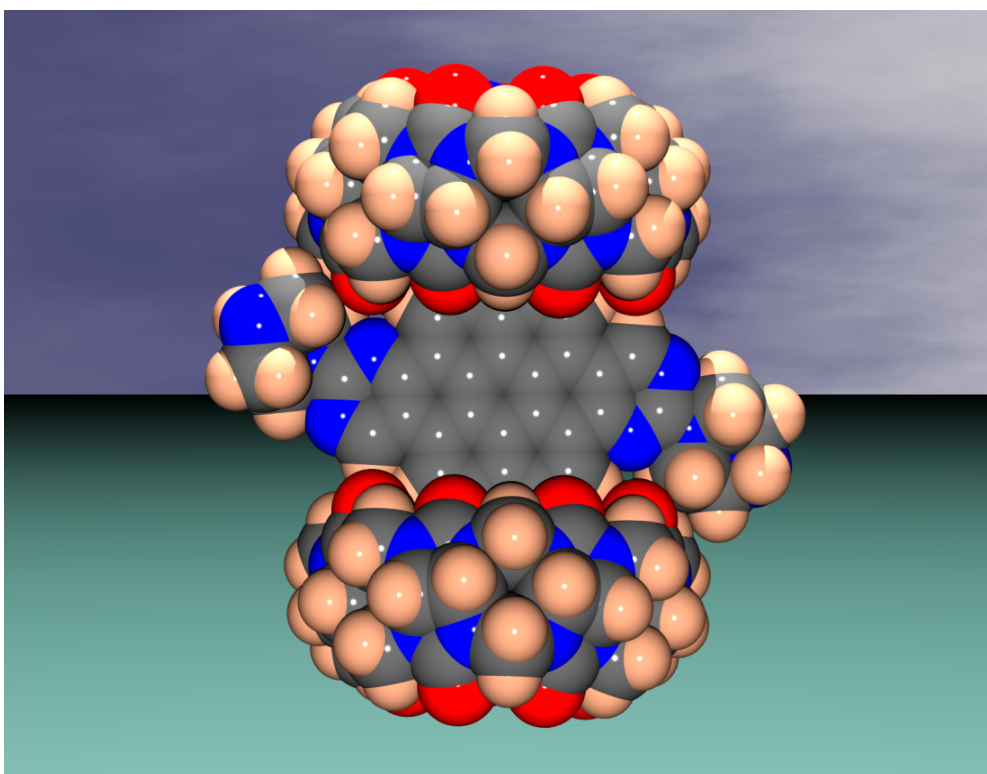
La ciclación fotoquímica del compuesto **DR17** es la más rápida, pues es la menos estéricamente exigente para formar el compuesto **DR18**. Aunque el tamaño del sustituyente tiene poca influencia en la velocidad de reacción, el número de reacciones de ciclación en el núcleo de perileno es crucial. Aparentemente, la reacción del compuesto disustituido **DR13** para formar el coroneno **DR14.1** es muy lenta, probablemente porque la segunda ciclación no esté favorecida.

Cuando se ciclan los sustituyentes en las posiciones bahía el impedimento estérico de estas moléculas agrandadas en el núcleo se debilita y promueve su tendencia a asociarse dando nanofibras uniformes mediante el apilamiento π - π de los núcleos aromáticos coplanares, efecto visto en los compuestos disustituidos y monosustituidos. Estas moléculas PDI de núcleo extendido y sus nanoestructuras autoensambladas exhiben una absorción óptica extensa, cubriendo la región visible, debido a su conjugación π expandida, además, presentan una fluorescencia más fuerte que la de sus precursores.

Las series presentadas son estables y solubles en disolventes orgánicos comunes que muestran un comportamiento de absorción y emisión versátil con altos rendimientos cuánticos de fluorescencia y tiempo de vida bastante largos. Especialmente **DR14**, **DR14.1** y **DR29** ofrecen propiedades ópticas interesantes, ya que su espectro de absorción cubre una amplia gama de la región visible lo que hace que estos compuestos sean unos colorantes prometedores para la fotovoltaica orgánica. De manera análoga a los colorantes de perileno conocidos, se puede prever además su uso como colorantes emisores en rojo para diodos emisores de luz orgánicos debido a su fuerte fluorescencia después de los 560 nm.

La disposición definida de los cromóforos y la estructura altamente ordenada de las nanopartículas multicromofóricas presentes en las superficies puede dar lugar a aplicaciones como materiales electroactivos o fotoactivos en los que dichas partículas pueden abordarse individualmente.

El aumento del apilamiento π exige mayores grupos de solubilización que impidan el empaquetamiento molecular, con esto en mente, ahora somos capaces de afinar las propiedades de perilenodiimida y coroneno tetracarboxidiimida para la creación de compuestos que sean solubles en agua, para su aplicación biológica.



CAPÍTULO 3.

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS EXPANDIDAS EN
EL SISTEMA CONJUGADO π DE LA POSICIÓN BAHÍA
SOLUBLES EN AGUA.**

INTRODUCCIÓN

Nuestro grupo de investigación se ha interesado por el desarrollo de metodologías adecuadas para la síntesis de compuestos basados en PDI que puedan disolverse en agua. En este capítulo se explicará el diseño, síntesis, caracterización y propiedades ópticas de derivados del perilenotetracarboxil-3,4:9,10-diimida funcionalizados con sistema expandido π solubles en agua.

La fluorescencia es ideal para la observación y localización de las interacciones que se pueden apreciar en sondas biológicamente activas in vivo, ya que es no invasiva y puede ser detectada con alta sensibilidad y especificidad de la señal.¹²⁹ En este particular, es necesario el diseño de cromóforos que proporcionen rendimientos cuánticos de fluorescencia elevados en agua y que muestren máximos de absorción y emisión en un área que no interfiera con la longitud de onda de autoabsorción de la célula: por encima de 500 nm.¹³⁰

En los últimos años, la investigación de macromoléculas biológicamente activas individuales, como el ADN y las proteínas, se ha vuelto muy popular, por lo que es necesario el uso de cromóforos que posean las propiedades antes señaladas. A pesar de la gran variedad de cromóforos solubles en agua disponibles actualmente,¹³¹ prácticamente no hay cromóforos que cumplan con los siguientes criterios: i) solubilidad en agua, ii) intensidades de fluorescencia elevadas, iii) máximos de absorción y emisión superior a 500 nm, iv) ninguna toxicidad, y v) alta fotoestabilidad.

Está comprobado el uso de sistemas basados en derivados de PDI como materiales de tinción biocompatibles y biodegradables para células,¹³² así como intercaladores de ADN cuádruple de guanina. Sin embargo, la mayoría de los PDI no son solubles en agua pura debido a su naturaleza altamente lipofílica o exhiben propiedades fluorescentes desfavorables debidos a la formación de agregados en un entorno polar.⁵⁶

¹²⁹ Bastiaens, P., Squire A. *Trends Cell Biol.* **1999**, 9, 48–52.

¹³⁰ (a) Hope-Ross, M., Yannuzzi, L. A., Gragoudas, E. S., Guyer, D. R., Slakter, J. S., Sorenson, A. *Ophthalmology* **1994**, 101, 529–533. (b) Mordon, S., Devoisselle, J. M., Soulie-Begu, S., Desmettre, T. *Micro-vasc. Res.* **1998**, 55, 146–152.

¹³¹ Haugland, R. P. *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, Molecular probes Inc., Eugene, **1989**.

¹³² Weil, T., Abdalla, M., Jatzke, C., Hengstler, J., Müllen, K. *Biomacromolecules*, **2005**, 6, 68–79.

Para hacer frente a estas deficiencias, se han introducidos grupos cargados en la posición imida que exhibían una fluorescencia intensa en agua¹³³ (Figura 1), no obstante Ford mostró que la PDI a) ($n = 1$, Figura 1.a) que contiene dos restos de glicina forma agregados en soluciones acuosas básicas cuya fluorescencia se apaga casi completamente en comparación con la de los monómeros respectivos (rendimiento cuántico de fluorescencia 100%).¹³² Además, se han creado cargas positivas permanentes en la posición de imida por alquilación de grupos amino o heterociclos que contienen nitrógeno¹³⁴ (Figura 1.b).

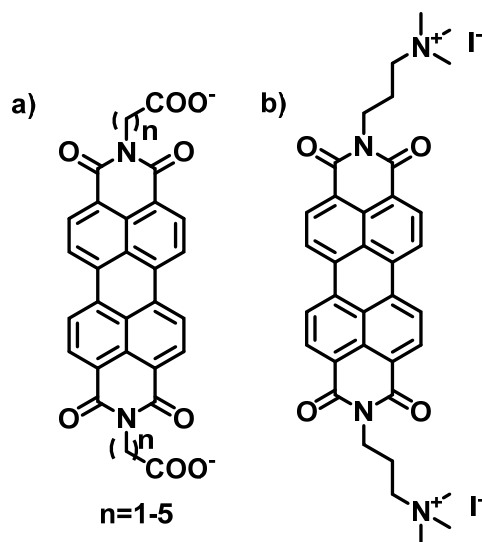


Figura 1. Ejemplos de derivados de PDI cargados en posición imida.

Müllen y colaboradores ampliaron el potencial de las PDI solubles en agua introduciendo grupos iónicos en las posiciones bahía, lo que efectivamente evita la agregación incluso en el agua mediante el blindaje electrostático y el impedimento estérico, como resultado los rendimientos cuánticos de fluorescencia fueron apreciables incluso en agua (Figura 2a).¹³⁵ La introducción de grupos dendriméricos en posición bahía resultaba en una emisión más intensa (Figura 2.b).

¹³³ (a) Ford, W. E. *J. Photochem.* **1986**, 34, 43-54; (b) Ford, W. E. *J. Photochem.* **1987**, 37, 189-204; (c) Langhals, H. Deutsche Patentanmeldung, DE 3703513, 1987; (d) Schnurpfeil, G., Stark, J., Wçhrle, D. *Dyes Pigm.* **1995**, 27, 339-350.

¹³⁴ Kohl, C., Weil, T., Qu, J., Müllen, K. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 5297-5310.

¹³⁵ (a) Tang, T., Herrmann, A., Peneva, K., Müllen, K., Webber, S. E. *Langmuir*, **2007**, 23, 4623-4628. (b) Qu, J., Kohl, C., Pottek, M., Müllen, K. *Angew. Chem.* **2004**, 116, 1554-1557; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1528-1531.

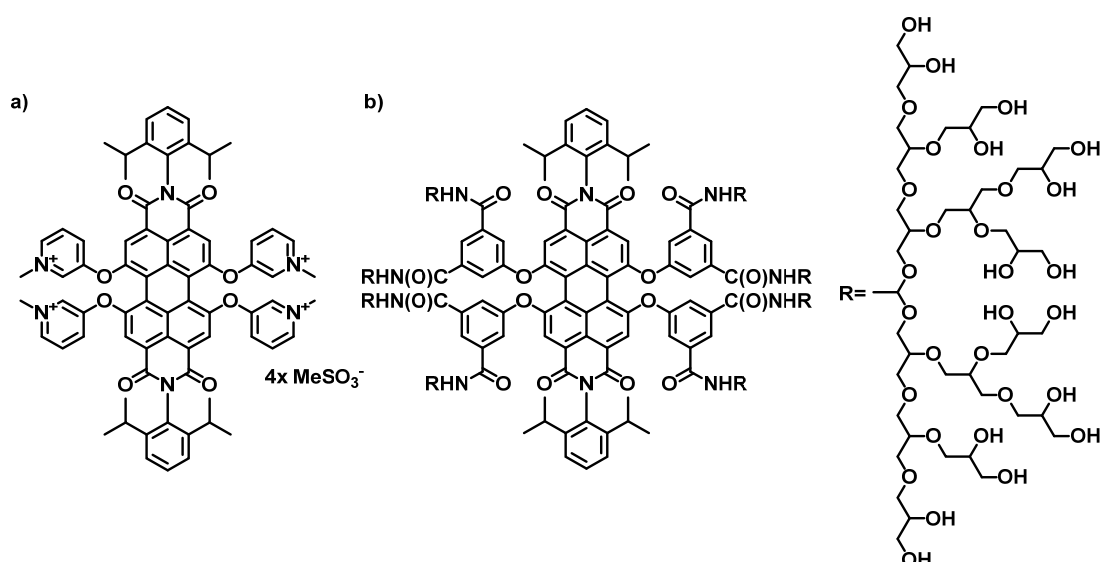


Figura 2. Ejemplos de derivados de PDI cargados en posición bahía (a) e introducción de dendrímeros (b).

Las excelentes propiedades ópticas del cromóforo PDI con una solubilidad en agua mejorada se han utilizado para la espectroscopía de una sola molécula en sistemas biológicos, por ejemplo para rastrear experimentos de biopartículas en células vivas.¹³⁶

Aquellos colorantes de PDI que presentan un sistema expandido en posición bahía y solubles en agua los hace interesante para los experimentos de intercalación, en particular con el ADN rico en guanina debido a que estos sistemas mantienen la estructura plana del núcleo de perileno.¹³⁷ En otros estudios se describen coronenos como inhibidores de la telomelasa y que tienen una capacidad mucho más alta de unión al G-quadruplex del ADN.¹³⁸ Además si estos PDI presentan un núcleo hidrofóbico grande y cuatro cadenas hidrofílicas flexibles da lugar a propiedades fisicoquímicas muy interesantes, por ejemplo, que sea soluble en disolventes orgánicos en forma básica y en solución acuosa como hidrocioruro.

¹³⁶ Peneva, K., Mihov, G., Nolde, F., Rocha, S., Hotta, J.-I., Braeckmanns, K., Hofkens, J., Uji-i, H., Herrmann, A., Müllen, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3372-3375.

¹³⁷ Rehm, S., Stepanenko, V., Zhang, X., Rehm, T. H., Würthner, F. *Chem. Eur. J.* **2010**, 16 (11), 3372-3382.

¹³⁸ (a) Rosu, F., De Pauw, E., Gabelica, V. *Biochimie*, **2008**, 90, 1074-1087; (b) Mazzitelli, C. L., Brodbelt, J. S., Kern, J. T., Rodriguez, M., Kerwin, S. M. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, 17, 593-604; (c) Rosu, F., Gabelica, V., Houssier, C., Colson, P., Pauw, E. D. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, 16, 1729-1736; (d) Casagrande, V., Alvino, A., Bianco, A., Ortaggi, G., Franceschin, M. *J. Mass Spectrom.* **2009**, 44, 530-540.

Asimismo se ha descrito que estos sistemas con núcleo expandido π favorecen la formación de nanoestructuras autoensambladas causadas por las pronunciadas interacciones π - π -stacking de estos cromóforos.¹³⁹ Estas nanoestructuras 1D poseen un gran potencial para el desarrollo de nanodispositivos electrónicos y optoelectrónicos de última generación,¹³⁹ debido a su pequeño tamaño (esencial para la miniaturización del dispositivo), gran área superficial (propicio para la modificación de la superficie), difusión de excitones mediada por apilamiento π - π y transporte de carga. En consecuencia, el autoensamblaje de moléculas orgánicas conjugadas en π en las nanoestructuras 1D ha sido un campo activo y de rápido desarrollo, tal como se describe en algunas investigaciones.¹⁴⁰ Las nanoestructuras 1D de las PDIs presentan un comportamiento óptico uniaxial y propiedades electrónicas a lo largo de la dirección de apilamiento π - π 1D, lo que proporciona un gran potencial para la aplicación en dispositivos optoelectrónicos, especialmente a nanoescala.^{5,141}

Aquí se presenta la síntesis de una serie de derivados de PDI con sistema expandido π , los cuales son altamente solubles en agua. Diferentes estudios espectroscópicos en solución acuosa (UV/Vis y espectroscopia de fluorescencia) y asociación [microscopía de fuerza atómica (AFM)] revelaron el comportamiento de agregación de estos sistemas, con el propósito de estudiar su potencial como estabilizador de G-quadruplex.

¹³⁹ a) Nguyen, T., Martel, R., Bushey, M., Avouris, P., Carlsen, A., Nuckolls, C., Brus, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, 9, 1515–1532. b) Kim, F., Ren, G., Jenekhe, S. *Chem. Mater.* **2011**, 23, 682–732.

¹⁴⁰ a) Schenning, A. P., Meijer, E. W. *Chem. Commun.*, **2005**, 3245–3258. b) Kim, F. S., Ren, G. Q., Jenekhe, S. A. *Chem. Mater.* **2011**, 23, 682–732. c) Meijer, E. W., Schenning, A. P. *Nature*, **2002**, 419, 353–354. d) Wang, X., Li, Y. D. *Inorg. Chem.*, **2006**, 45, 7522–7534. (e) Zang, L., Che, Y. K., Moore, J. S. *Chem. Res.*, **2008**, 41, 1596–1608. (f) Zhao, Y. S., Fu, H. B., Peng, A. D., Ma, Y., Liao, Q., Yao, J. N. *Chem. Res.*, **2010**, 43, 409–418. (g) Su, B., Wu, Y. C., Jiang, L. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 7832–7856. (h) Dasgupta, N. P., Sun, J. W., Liu, C., Brittman, S., Andrews, S. C., Lim, J., Gao, H. W., Yan, R. X., Yang, P. D. *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 2137–2184.

¹⁴¹ Görl, D.; Zhang, X., Würthner, F. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, 51, 6328–6348. d) Supura, M., Fukuzumi, S. *J. Solid State Sci. Technol.*, **2013**, 2, M3051–M3062.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Diseño y síntesis de un sistema expandido π en posición bahía de derivados de PDI solubles en agua.

La ruta de síntesis diseñada para la formación de nuevos derivados de PDI con sistema π -expandido en posición bahía, solubles en agua, es mostrada en la figura 3. En primer lugar, se decide trabajar con el 1,7-dibromo-PDA comercial para evitar una purificación larga y tediosa. El 1,7-dibromo-PDA comercial es funcionalizado en la posición imida con 4-Boc-aminopiperidina, con un 57% de rendimiento. En segundo lugar se realizó un acoplamiento de Suzuki del éster borónico catalizado con paladio(0), procedimiento con un 60% de rendimiento. En tercer lugar, por reacción fotoquímica, mediante la irradiación con luz ultravioleta, se obtienen los productos **DR30** y **DR30.1**, con un rendimiento de 61 y 60%, respectivamente. En cuarto lugar, la eliminación del grupo protector *tert*-butoxicarbonilo (*t*-Boc) con ácido trifluoroacético (TFA) conduce a la formación de los colorantes **DR34**, **DR37** y **DR36** con un 99% de rendimiento para todos los compuestos.

También es sintetizada una sonda **DR35** donde es anclado un grupo con una cadena alquílica mayor para probar su solubilidad en agua. Para ello se conecta el grupo carboxilo (C-terminal) del ácido seleccionado con el grupo amino (N-terminal) del PDI. El acoplamiento peptídico se realizó mediante condiciones clásicas, utilizando el PyBOP como agente acoplante, DIPEA como base en el seno de DMF, durante 2 horas, para obtener un rendimiento de 55%.

Los compuestos que resultaron solubles en agua fueron **DR34**, **DR36**, y **DR37**.

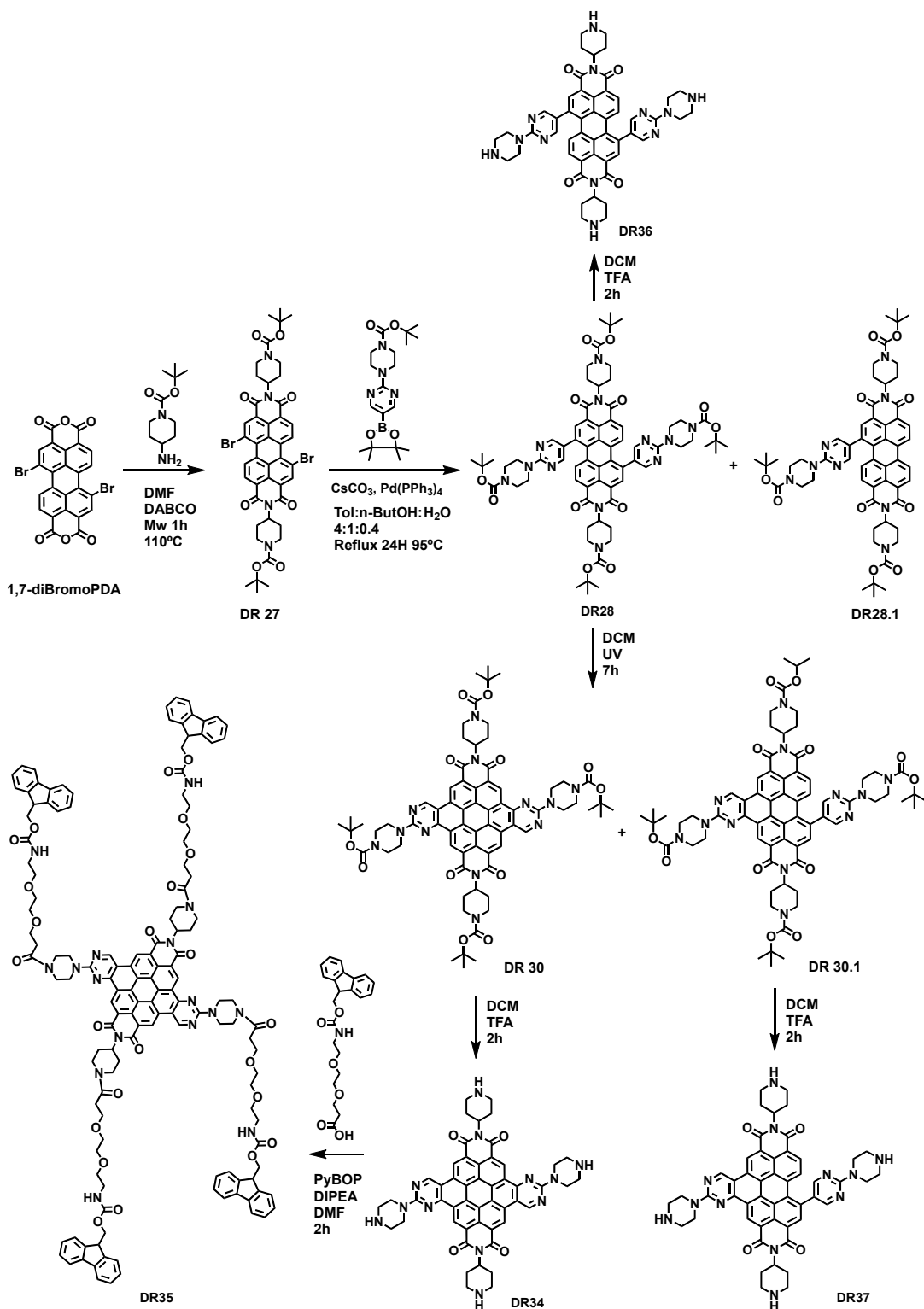


Figura 3. Ruta de síntesis para los derivados de PDI disustituidos con sistemas expandidos π solubles en agua.

El producto monosustituido derivado de la reacción de Suzuki (**DR28.1**) es un subproducto obtenido con un bajo rendimiento del 13%, sin embargo es aprovechado para conseguir el producto ciclado monosustituido, por fotociclación (**DR43**) con un 51% de rendimiento. Por último, a este producto y al precursor se eliminan los grupos protectores *tert*-butoxicarbonilo (*t*-Boc) con ácido trifluoroacético (TFA), para así obtener los colorantes solubles en agua **DR41** y **DR44** con un 95 y 71% de rendimiento, respectivamente (Figura 4).

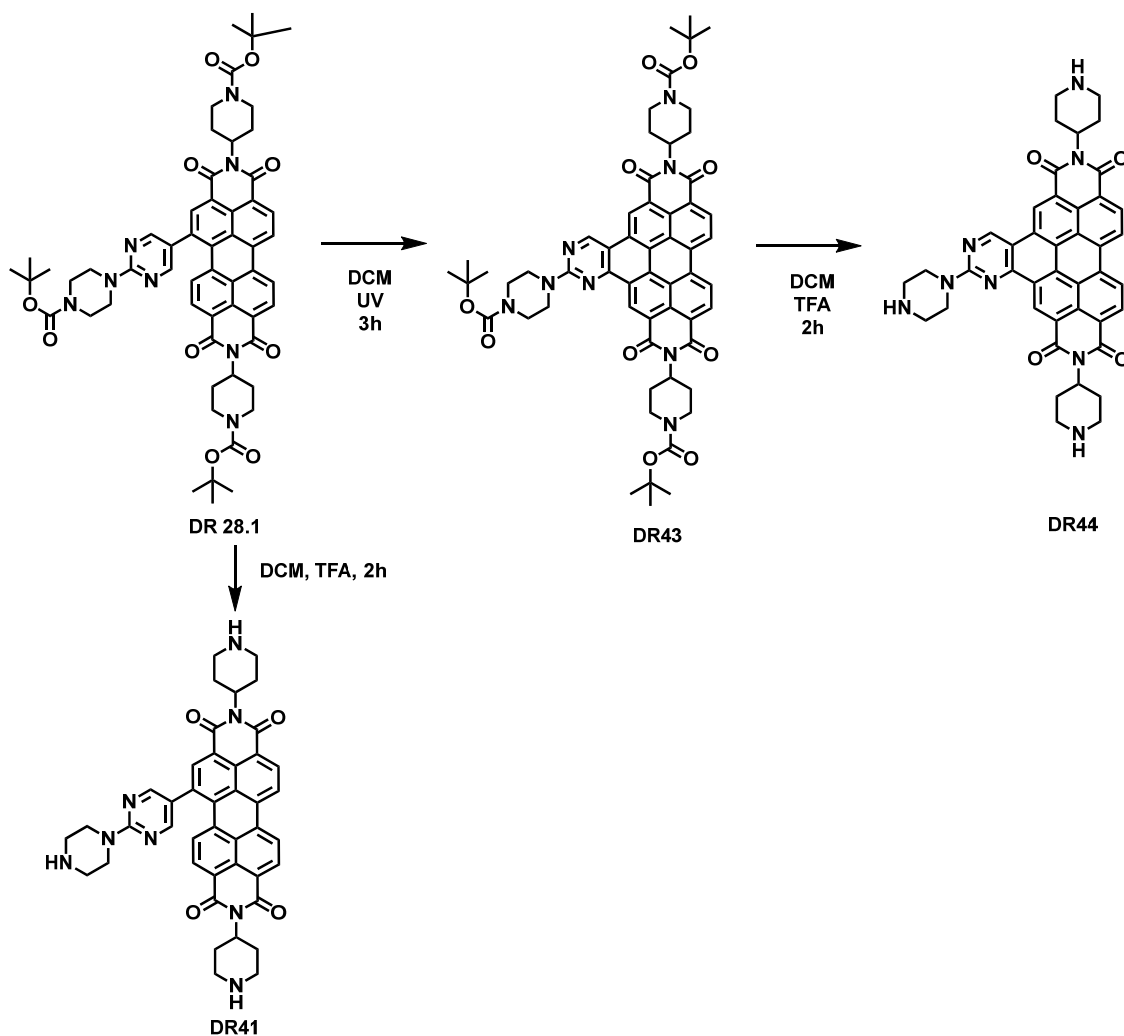


Figura 4. Ruta de síntesis para los derivados de PDI monosustituidos con sistemas expandido π solubles en agua.

En el proceso de ciclación se observa que el compuesto disustituido **DR28** es más fotoestable en solución que el monosustituido **DR28.1** y la reacción de ciclación es mucho más lenta para **DR28** comparado con **DR28.1**.

Caracterización de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.

Todos los compuestos obtenidos en la sección anterior fueron caracterizados por las técnicas habituales de identificación en síntesis orgánica.

En el espectro de RMN de protón para el compuesto **DR27** (Figura 5) se observan dos dobletes en 9.47, 8.67 ppm y un singulete en 8.68 ppm correspondiente a los protones aromáticos del núcleo del PDI. Seguidamente para **DR28** obtenemos el acoplamiento del éster borónico, como lo muestran las señales en forma de singulete en 3.92 y 3.56 ppm que representan a los protones de la piperazina, también aparecen en forma de dobletes en 8.29, 8.12 ppm los protones de la pirimidina y en 1.51 ppm los del grupo Boc. Para **DR30** y **DR30.1** se observa un apilamiento y ensanchamiento de las señales aromáticas, más notorio para **DR30** donde la ciclación es completa y es obvio este efecto para las señales alifáticas también, mostrando así un mayor grado de asociación y agregación.

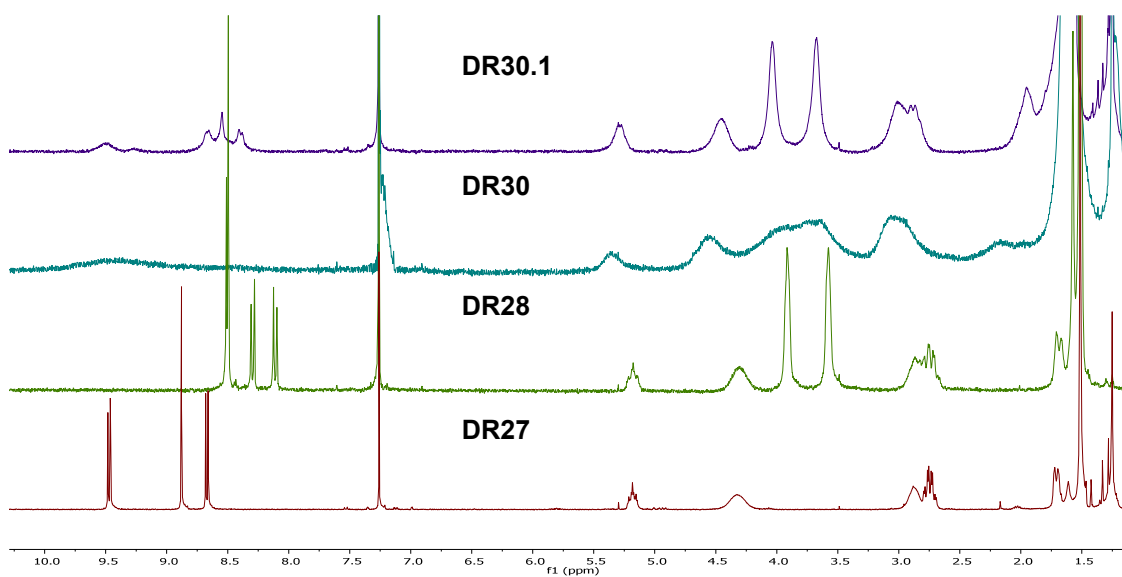


Figura 5. Espectro RMN de protón para **DR27**, **DR28**, **DR30** y **DR30.1**.

En cuanto al espectro RMN de carbono 13 (Figura 6) de los compuestos **DR27**, **DR28**, **DR30** y **DR30.1** muestra señales de baja intensidad entre 163 y 154 ppm correspondientes al grupo carbonilo del PDI y del grupo Boc. Entre 138 y 120 ppm se observan los carbonos Sp^2 del esqueleto de PDI, en esta zona se aprecia una disminución en la intensidad de las señales para **DR30**

debido a la mayor asociación, producto de la ciclación completa, además entre 80 y 79 ppm se encuentran las señales de los carbonos cuaternarios. Por último, a desplazamientos bajos, de 52 ppm a 28 ppm, se obtienen las señales CH_2 y CH_3 del grupo Boc, piperazina y piperidina.

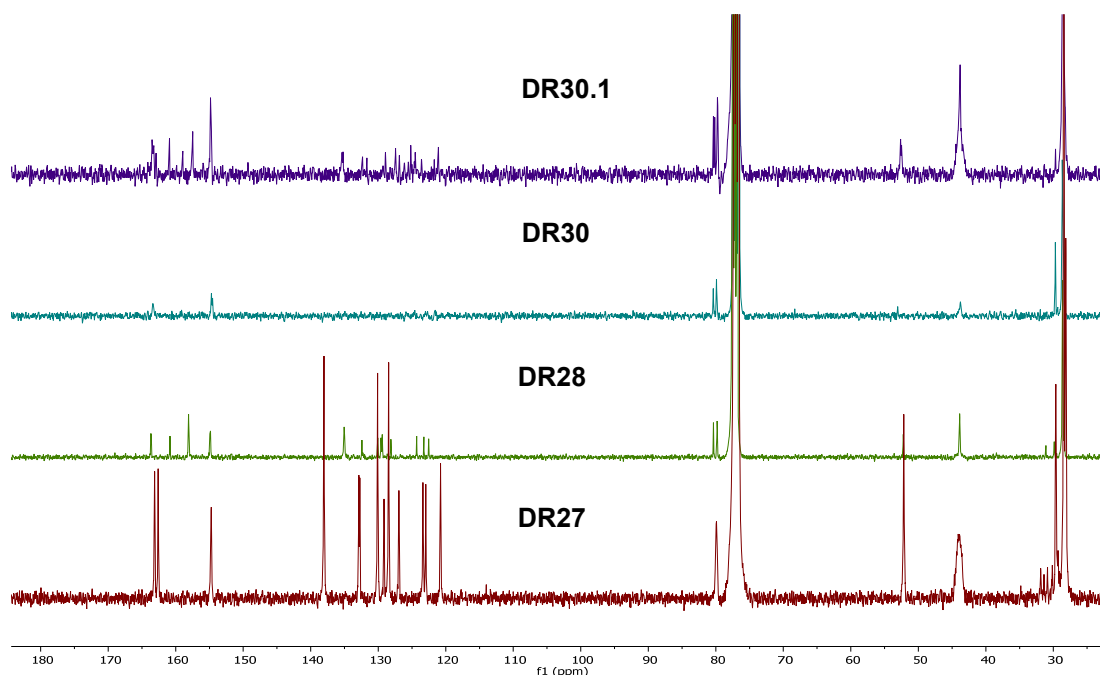


Figura 6. Espectro RMN de carbono para **DR27**, **DR28**, **DR30** y **DR 30.1**.

Los espectros FTIR muestran las bandas características del grupo imida a 1658 cm^{-1} y las señales características del grupo carbonilo a 1699 cm^{-1} para todos los compuestos. Finalmente, la estructura de los colorantes quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución.

Para los compuestos solubles en agua **DR34**, **DR36** y **DR37** en el espectro de protón (Figura 7) se observan señales apiladas, débiles, ruidosas y ensanchadas lo que muestra que los anillos aromáticos del PDI están muy agregados. Este efecto es mayor después de producirse la ciclación completa en posición bahía (**DR34**), debido a la planaridad del núcleo. Para **DR36** las señales se encuentran desplazadas hacia la derecha pues el disolvente usado para el RMN es el D_2O en vez de TFA.

Los espectros FTIR muestran las bandas características del grupo imida a 1685 cm^{-1} para **DR34** y **DR37**, mientras que para **DR36** aparece la señal en 1678 cm^{-1} . Para la amina secundaria la señal característica sale en 3438 cm^{-1} para **DR34** y **DR36**, pero para **DR37** en 3452 cm^{-1} . Finalmente, la estructura de

los compuestos quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución.

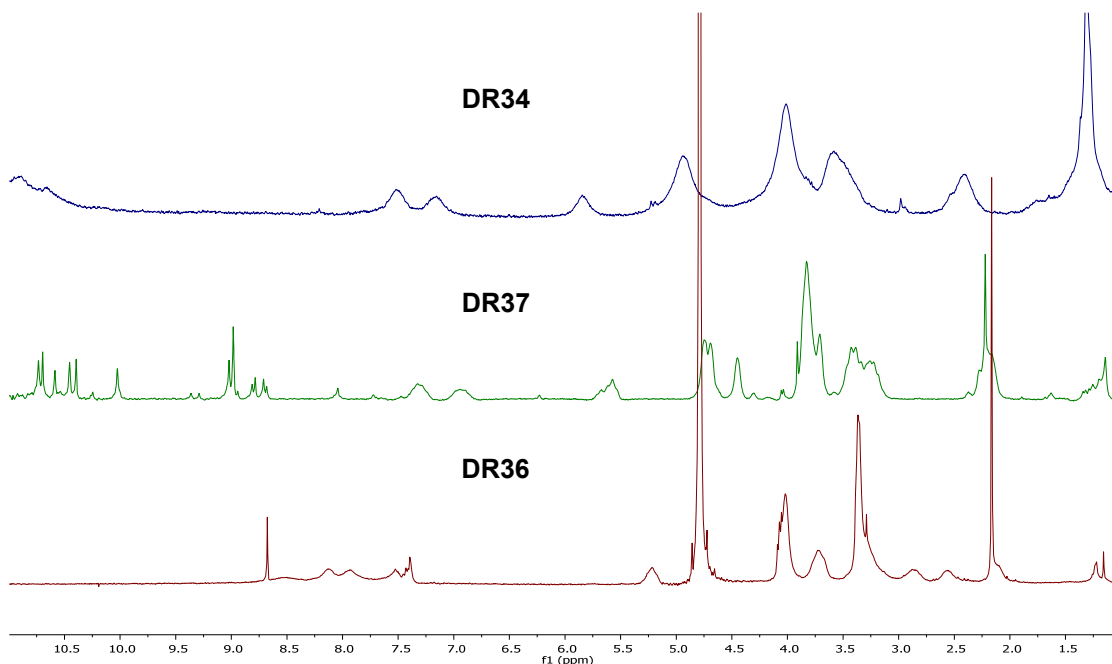


Figura 7. Espectro de RMN de protón de **DR34**, **DR36** y **DR37**.

En cuanto al colorante **DR35** el espectro de protón muestra un apilamiento de señales aromáticas en la zona de desplazamiento entre 7.77-7.24 ppm mostrando hasta 5 multipletes. De la misma forma, se observa un apilamiento de las señales alifáticas representadas por 4 multipletes en 5.66-5.64ppm, 3.10-3.06 ppm, 1.79-1.76 ppm y 1.40-1.32 ppm. El espectro de carbono muestra señales de baja intensidad entre 171 y 157 ppm correspondiente al grupo carbonilo del PDI, del grupo Fmoc y del grupo lateral. Entre 144 y 111 ppm se observan los carbonos Sp^2 del esqueleto de PDI y del grupo Fmoc. Por último, a desplazamientos bajos, de 70 ppm a 26 ppm, se obtienen las señales CH_2 del grupo Fmoc, grupo lateral y piperidina (Figura 8).

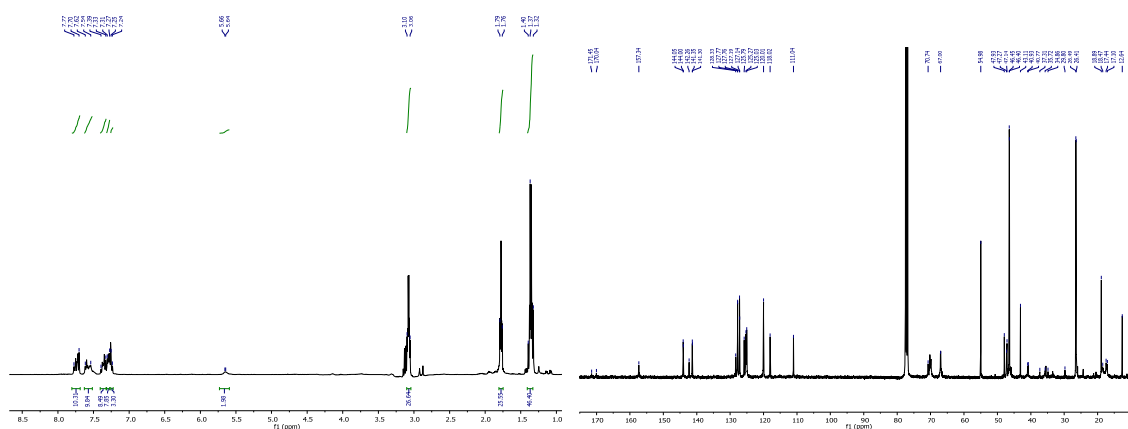


Figura 8. Espectro de RMN de protón (izquierda) y carbono (derecha) para el **DR35**.

El espectro de FTIR presenta la banda característica del grupo imida a 1630 cm^{-1} y la señal del grupo carbonilo a 1710 cm^{-1} . Finalmente, la estructura del compuesto quedó confirmada mediante espectrometría de masas.

En la figura 9 se muestra el espectro de protón para el **DR 28.1**, donde las señales de los hidrógenos aromáticos en la zona de campo bajo aparecen con un desplazamiento químico entre 8.68 y 8.09 ppm. Sin embargo, en el caso de **DR43** se observa un apilamiento de las señales y un desplazamiento de las mismas hacia la izquierda, debido a la restricción que le añadimos a la molécula por la extensión del sistema π . En campo alto se observan las señales correspondientes a los protones del grupo imida, piperazina, piperidina y grupo Boc. Para el caso de los colorantes solubles en agua **DR41** y **DR44** las señales son desplazadas, producto de los disolventes usados. Sin embargo se observa una eliminación de los grupos Boc pues no aparece la señal característica en la zona entre 1.80 y 1.40 ppm, y existe una mejor resolución de las señales aromáticas.

Los espectros FTIR muestran la banda característica del grupo imida a 1654 cm^{-1} para **DR28.1**, mientras que para **DR43** aparece en 1659 cm^{-1} . La señal característica del grupo carbonilo del Boc aparece en 1696 cm^{-1} para **DR28.1** y **DR43**. Para el caso de los compuestos solubles en agua **DR41** y **DR44**, la banda característica de la amina secundaria se muestra a 3438 cm^{-1} y la del grupo imida a 1658 cm^{-1} . Finalmente, la estructura de los compuestos quedó confirmada mediante espectrometría de masas de alta resolución.

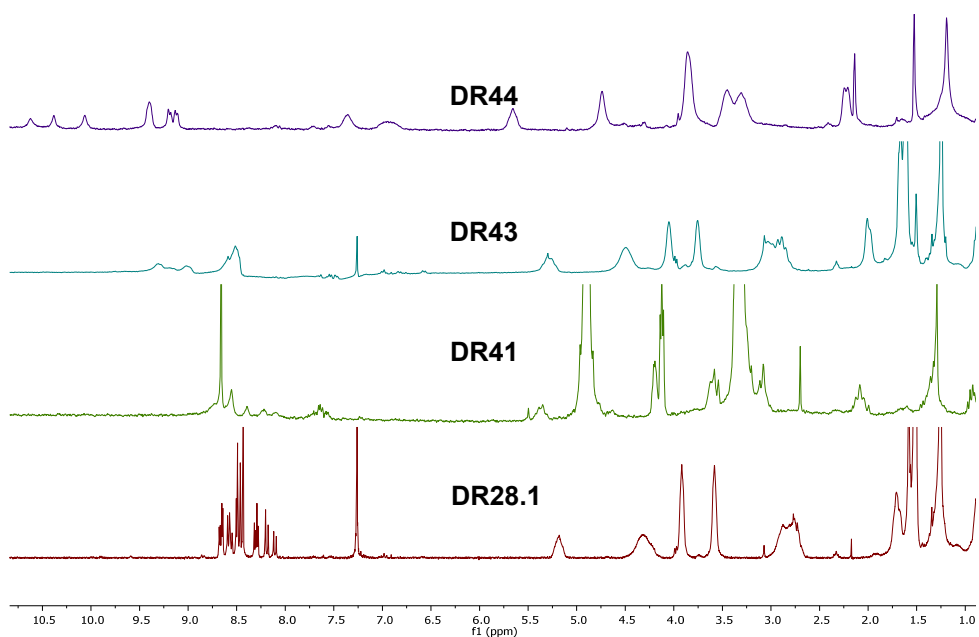


Figura 9. Espectro de RMN de protón para los compuestos DR28.1, DR41, DR43 y DR44.

Propiedades ópticas de los compuesto di- y monosustituidos derivados de PDI.

Se registraron los espectros de absorción UV-vis de los compuestos DR27, DR28, DR30 y DR30.1 en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de 10 μ M (Figura 10).

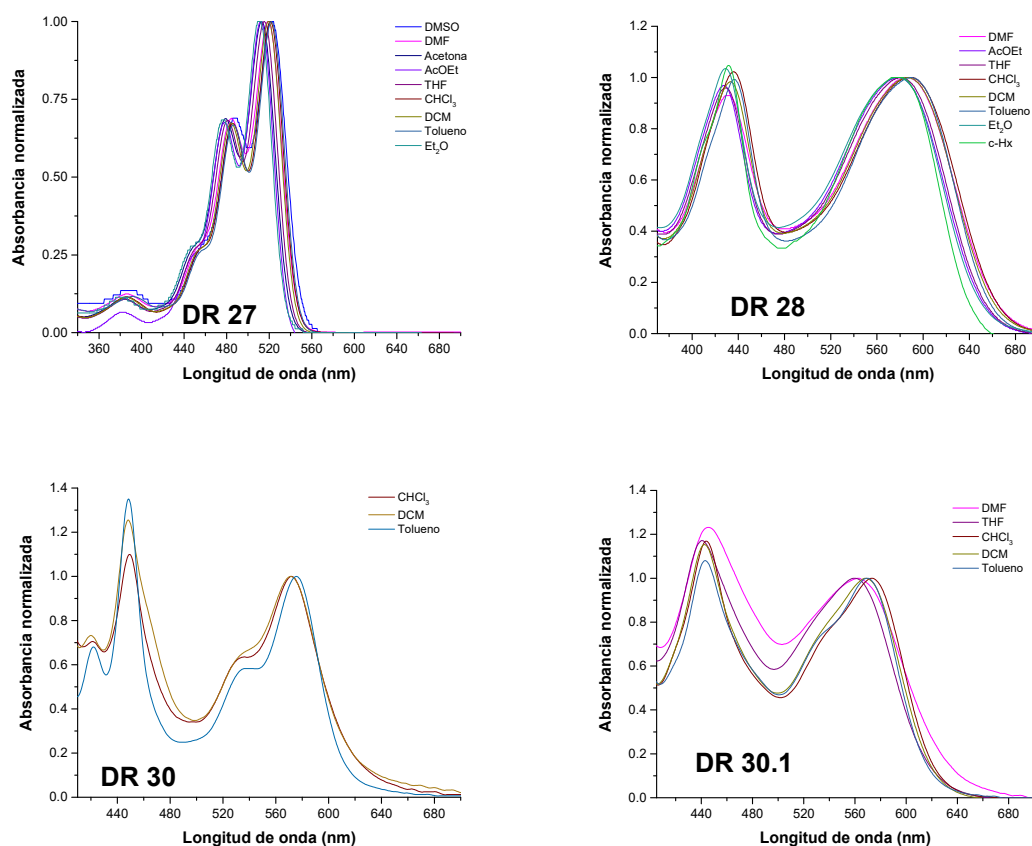


Figura 10. Espectro de absorción de los compuestos DR27, DR28, DR30 y DR30.1.

En primer lugar, se aprecia que al introducir el grupo procedente del éster borónico (**DR28**) en las posiciones bahía del PDI da un desplazamiento batocrómico de 67 nm. En segundo lugar, se observa una disminución de la solubilidad en los colorantes **DR30** y **DR30.1**, ambos presentan una expansión del sistema π en posición bahía del núcleo del PDI, luego de la ciclación fotoinducida, por ello, muestran mayor planaridad, aumentando la simetría de los compuestos, por lo que tienden a apilarse en mayor proporción. Su solubilidad se limita a disolventes orgánicos menos polares como el cloroformo, diclorometano o tolueno. En tercer lugar, los compuestos **DR30** y **DR30.1** presentan un desplazamiento hipsocrómico de unos 16 y 14 nm, respectivamente (Figura 11). González (2011)¹²⁶ señaló que un cambio hipsocrómico en los espectros de absorción indica la presencia de H-agregados formados por apilamiento π - π , lo que explica la disminución de la solubilidad en disolventes más polares al ocurrir la ciclación en las posiciones

bahía del núcleo del PDI. Resultados similares han sido reportados por otros autores al obtener derivados de CDI.¹⁴²

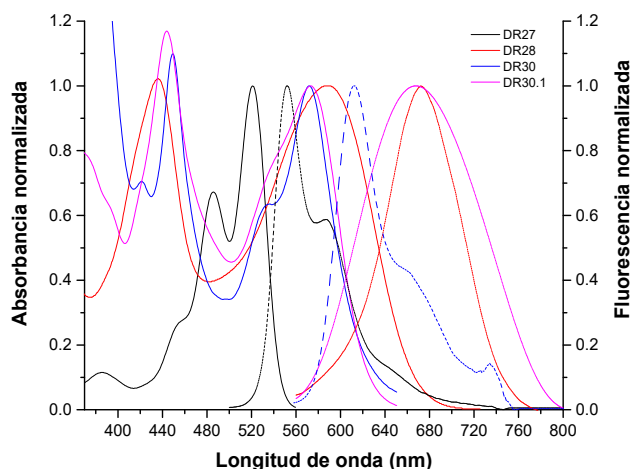


Figura 11. Espectros de absorción Uv-Vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR27** y **DR30** ($\lambda_{exc} = 455$ nm), **DR28** ($\lambda_{exc} = 434$ nm) y **DR30.1** ($\lambda_{exc} = 440$ nm) en cloroformo.

Por la introducción del grupo procedente del éster borónico en el núcleo de la PDI se amplía la región de absorción de 350-550 nm a 480-700 nm, el aumento de la polaridad del disolvente ocasiona un desplazamiento batocrómico, para los compuestos **DR27** y **DR28**, e hipsocrómico, para los colorantes **DR30** y **DR30.1**. Para todos los compuestos las bandas de absorción atribuidas a la transición electrónica S_0-S_1 están situadas alrededor de 521, 588, 572 y 573 nm para **DR27**, **DR28**, **DR30** y **DR30.1**, respectivamente, en cloroformo. Para el caso de **DR30** presenta un hombro entre 500 y 550 nm, posiblemente, causado por una mayor deslocalización de electrones debido a la formación del coroneno.

En los espectros de los compuestos **DR28**, **DR30** y **DR30.1** se muestra una banda de absorción similar alrededor de 380 y 480 nm, ésta puede atribuirse a la absorción de la unidad proveniente del éster borónico, para comprobar dicha afirmación como se hizo en el capítulo 2 se procedió a realizar el espectro de absorción para **DR28**, el éster borónico utilizado y la PDI sin sustituyentes en posición bahía, los resultados son mostrados en la figura 12. Al superponer los espectros de absorción se observa cómo la unidad de éster borónico presenta una banda de absorción a 320 nm, al unirse en la posición

¹⁴² Zhan, C.; Jiang, Y.; Yang, M.; Lu, L.; Xiao, S. *Chinese Chem. Lett.* **2014**, 25 (1), 65–68.

bahía del PDI esta banda se desplaza hasta los 434 nm. Un desplazamiento similar ocurre para la banda del PDI sin sustituyente.

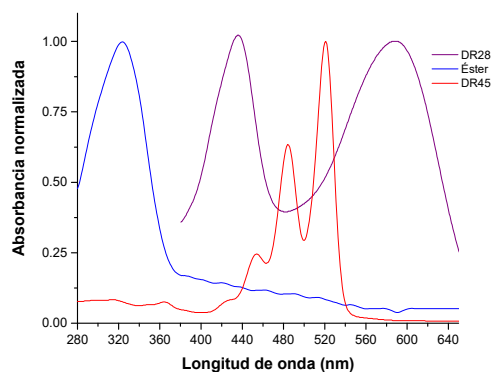


Figura 12. Espectro de absorción de **DR28**, éster borónico y **DR45**.

Los espectros de emisión de los diferentes colorantes en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y una concentración de 10 μM se muestran en la figura 13.

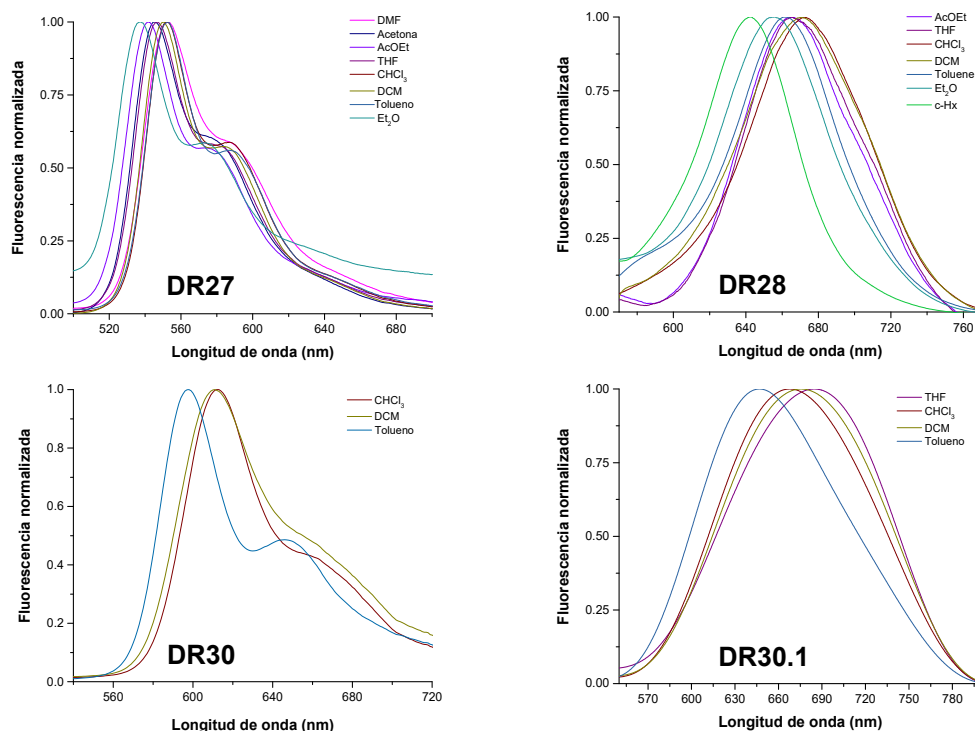


Figura 13. Espectros de emisión de los compuestos **DR27** ($\lambda_{\text{exc}} = 455 \text{ nm}$), **DR28** ($\lambda_{\text{exc}} = 434 \text{ nm}$), **DR30** ($\lambda_{\text{exc}} = 455 \text{ nm}$) y **DR30.1** ($\lambda_{\text{exc}} = 440 \text{ nm}$).

La introducción del grupo procedente del éster borónico en posición bahía del PDI supuso un cambio batocrómico en la banda de emisión de unos

120 nm (cloroformo). Mientras que el cierre del anillo aromático para la formación de los sistemas expandidos π - π muestra un desplazamiento hipsocrómico más pronunciado en **DR30** (59 nm) que en **DR30.1** (5 nm). Para **DR27** y **DR30** aparecen dos bandas de emisión en 552, 613 nm y 587, 653 nm, respectivamente. Mientras que para **DR28** y **DR30.1** aparece una sola banda de emisión entre 640-680 nm. Por el cambio de polaridad del disolvente es apreciable el cambio batocrómico para todos los colorantes, lo que indica que la estabilización de estas moléculas ocurre en el estado excitado de las mismas.

El desplazamiento de Stokes para los colorantes **DR28**, **DR30** y **DR30.1** fue de 84, 41 nm y 94 nm, respectivamente (Figura 11). En este caso es la ciclación de las dos posiciones bahía del PDI la que disminuye el desplazamiento de Stokes. La formación del derivado de coroneno provoca el desplazamiento hacia el azul de las bandas de absorción y emisión, debido a que se vuelve más simétrico favoreciendo el apilamiento π - π . Estos cambios en conjunto son indicativos de una conjugación π mejorada a lo largo del eje corto "molecular x", en consecuencia, presenta una estructura molecular con una planaridad/rigidez mejorada tras la fotociclización, lo cual es consistente con los informes teóricos y experimentales de la bibliografía.^{113,143}

Para los precursores monosustituídos **DR28.1** y **DR43** se muestran los espectros de absorción UV-vis, en la figura 14, en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de 10 μ M.

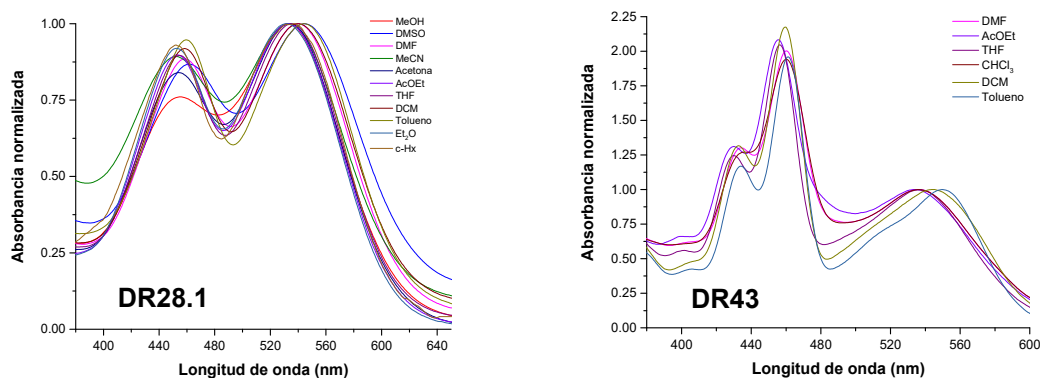


Figura 14. Espectros de absorción de los compuestos **DR28.1** y **DR43**.

¹⁴³ Chen, L.; Li, C.; Müllen, K. *J. Mater. Chem.*, **2014**, 2, 1938–1956.

El cierre del anillo intramolecular lleva a una disminución de la solubilidad del compuesto **DR43**, producto de la planaridad del núcleo del PDI, por lo que el porcentaje de apilamiento y la asociación intermolecular en agregados es mayor. Se solubiliza mejor en disolventes orgánicos menos polares como cloroformo, diclorometano y tolueno, aunque muestra buena solubilidad en DMF. El solvatocromismo es negativo, para ambos colorantes. **DR28.1** y **DR43** exhiben una absorción mayor en una región de longitud de onda entre 500-650 nm. Además, registra una sola banda de absorción correspondiente al tipo de transición electrónica S_0-S_1 entre 540-550 nm. También observamos una banda entre 400 y 480 nm, que pertenece a la absorción del grupo procedente del éster borónico demostrado anteriormente.

Los espectros de emisión de los colorantes **DR28.1** y **DR43** en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y una concentración de 10 μM se muestran en la figura 15.

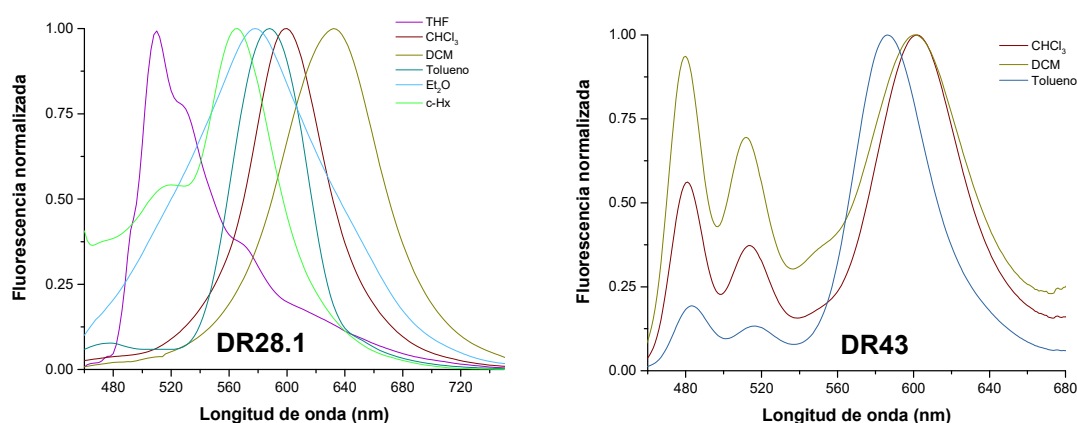


Figura 15. Espectro de emisión de los compuestos **DR28.1** ($\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$) y **DR43** ($\lambda_{\text{exc}} = 434 \text{ nm}$).

Para **DR28.1** se observa el efecto más pronunciado del disolvente con un desplazamiento batocrómico de 90 nm, en **DR43** fue de 15 nm. Después de la ciclación tan solo se observa fluorescencia en disolventes no polares como DCM y tolueno, en DMF la fluorescencia se apaga posiblemente por la formación de agregados.

El desplazamiento de Stokes para los compuestos **DR28.1** y **DR43** fue de 66 y 37 nm. De manera que al expandir el sistema conjugado π disminuye el desplazamiento de Stokes. Además, el producto obtenido después de la

ciclación se desplaza hacia el rojo según sus bandas de absorción y emisión (Figura 16).

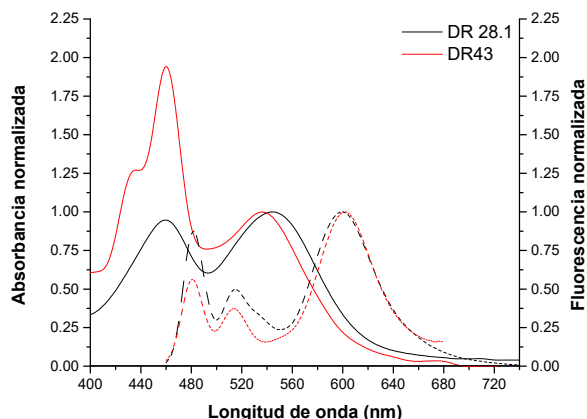


Figura 16. Espectros de absorción UV-Vis (línea sólida) y emisión (línea punteada) normalizados para los compuestos **DR28.1** ($\lambda_{\text{exci}}=450$ nm) y **DR43** ($\lambda_{\text{excit}}=434$ nm) en cloroformo.

Para los colorantes solubles en agua **DR34**, **DR36** y **DR37** los espectros de absorción se muestran en la figura 17 a temperatura ambiente y concentración de 10 μM .

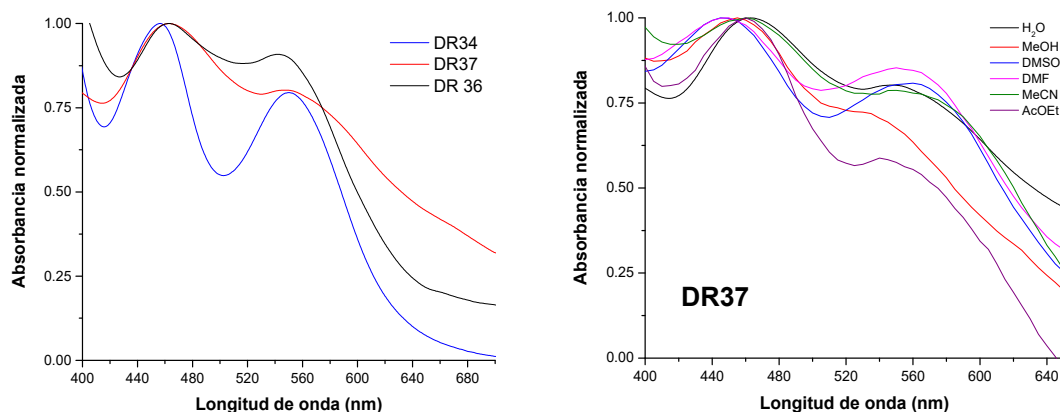


Figura 17. Espectro de absorción normalizado para los compuestos **DR34**, **DR36** y **DR37** en agua (izquierda), espectro de absorción para el colorante **DR37** (derecha).

Los colorantes **DR36** y **DR34** presentan un espectro de absorción solo en agua, mientras que para **DR37** se muestra el espectro de absorción en agua y en otros disolventes polares. En este último compuesto la forma espectral es similar en los disolventes, lo que indica que el cambio espectral no depende directamente de su polaridad. Sin embargo, se observa un solvatocromismo

positivo y coeficiente de extinción en agua mayor que en el resto de los disolventes. Con respecto al cierre del anillo se muestra que el coeficiente de extinción molar aumenta: 258, 329 y 1819 $M^{-1}cm^{-1}$ para **DR36**, **DR37** y **DR34**, respectivamente. Aunque permanecen bajos con respecto a los de sus precursores, por lo que a concentraciones bajas estos compuestos son incoloros. El espectro de absorción muestra la banda de transición π - π monomérica típica con dos picos pronunciados entre 456-465 nm y 540-550 nm, que corresponden a las transiciones electrónicas 0-1 y 0-0, respectivamente.

Los espectros de fluorescencia (Figura 18) presentan un desplazamiento hipsocrómico con respecto a sus precursores, además de un desplazamiento de Stokes de unos 39, 60 y 66 nm, para **DR36**, **DR37** y **DR34**, respectivamente. Este aumento del desplazamiento de Stokes con el cierre del anillo es consistente con el de los colorantes de perileno que presentan un sistema expandido π a lo largo del eje molecular corto x.¹⁴⁴ Para **DR36** se observa la "inversión de pico" en fluorescencia lo que es clara evidencia que en medio acuoso las moléculas se autoagregan en cierta medida a pesar de su solubilidad en agua, fenómeno también observado por otros autores.¹⁴⁵

¹⁴⁴ Lin, Z.; Li, C.; Meng, D.; Li, Y.; Wang, Z. *Chem. Asian J.* **2016**, *11* (19), 2695–2699.

¹⁴⁵ Boobalan, G.; Imran, P. M.; Nagarajan, S. *Chinese Chem. Lett.* **2012**, *23* (2), 149–153.

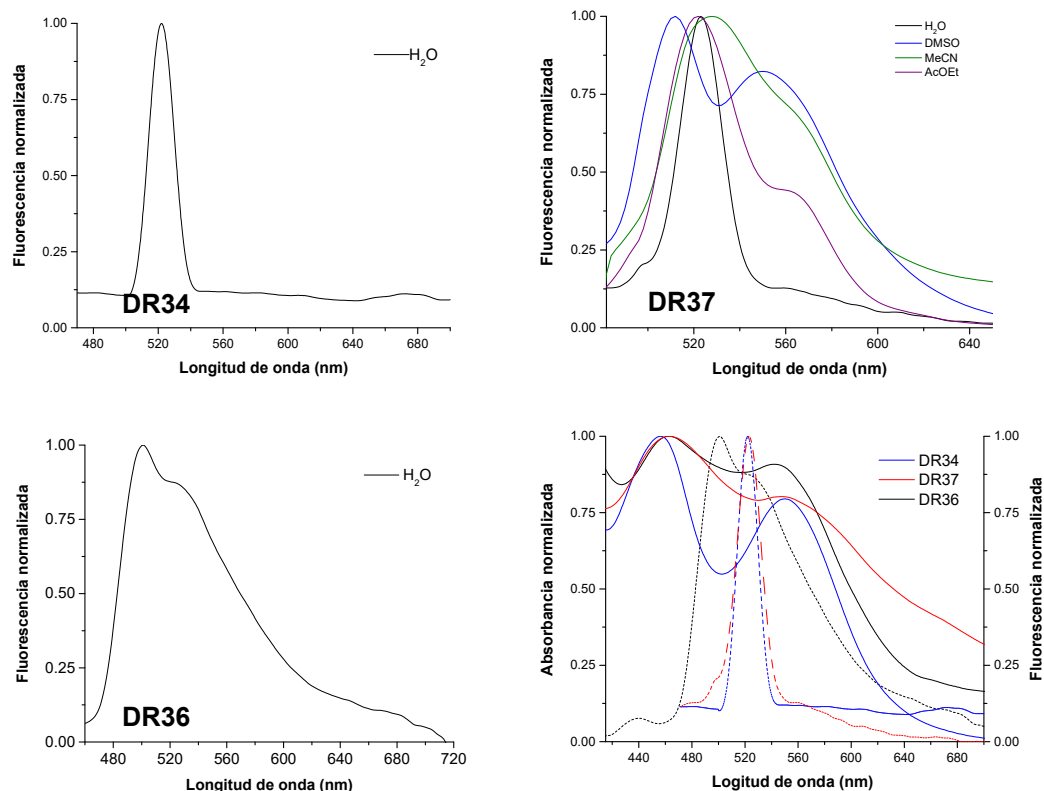


Figura 18. Espectro de emisión para los compuestos **DR34** ($\lambda_{exc} = 450$ nm), **DR37** ($\lambda_{exc} = 450$ nm) y **DR36** ($\lambda_{exc} = 381$ nm). Abajo-Izquierda espectro de absorción y emisión de los colorantes **DR36**, **DR37** y **DR34** en agua.

Los compuestos **DR34** y **DR37** son prácticamente no fluorescentes, debido a la agregación de los colorantes en agua y el espectro de emisión residual es atribuido a una fracción de moléculas de colorante no agregadas, tiene su máximo a 520 nm para ambos compuestos y un hombro más débil a aproximadamente en 570 y 675 nm, para **DR37** y **DR34**, respectivamente. La naturaleza no fluorescente del colorante agregado se interpreta en términos de una desactivación no radiativa eficaz de dímeros o agregados de orden superior. El compuesto **DR37**, además del agua, presenta un espectro de emisión residual para DMSO, MeCN y AcOEt, observándose un solvatocromismo positivo. No obstante, para **DR36**, sí presenta fluorescencia ya que aparecieron dos bandas de emisión a 501 y 523 nm, pero en agua solamente, por lo que se puede inferir que el tipo de agregados formados entre los compuestos son diferentes.

Gadde y cols (2008)¹⁴⁶ señalaron diferencias entre los tipos de agregados: en contraste con los agregados J, los agregados H dan lugar al desplazamiento de la banda de absorción al azul. Una segunda diferencia importante entre estas dos clases de agregados es que los agregados H son generalmente emisores pobres, mientras que los agregados J típicamente muestran una luminiscencia eficiente. Es ampliamente aceptado que ambos tipos de agregados resultan del apilamiento paralelo de moléculas de colorante. Mientras que en los agregados H las moléculas de colorante se alinean cara a cara dando lugar a una disposición tipo “sándwich”, los agregados J están compuestos de moléculas de colorante escalonadas en una configuración de borde a borde. En este momento, la comprensión del tamaño de agregado o el número medio de moléculas de colorante asociadas en los agregados J o H es muy limitada. Por estas características presentadas podemos decir que, es posible que **DR37** y **DR34**, a causa de la planaridad que tiene en el núcleo, favorezca la formación de agregados tipo H, en mayor proporción que los tipo J, y en **DR36**, por la distorsión que presenta el núcleo aromático del PDI, facilite la formación de agregados tipo J, en mayor proporción que los tipo H (Figura 19).

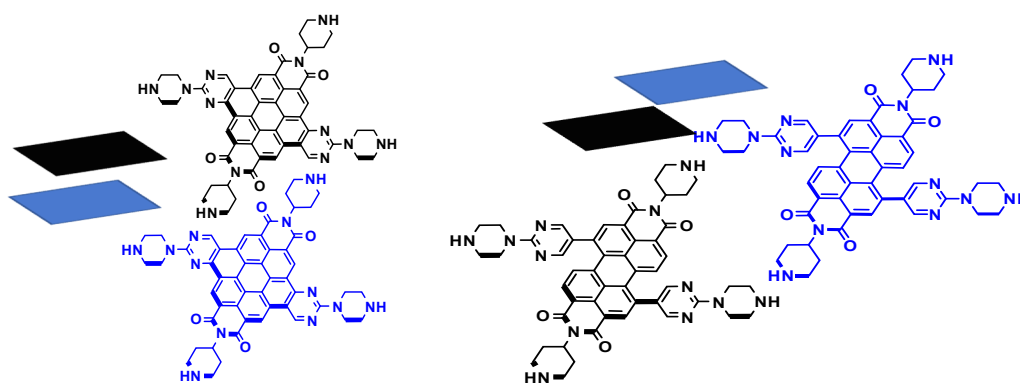


Figura 19. Agregados H (izquierda) y agregados J (derecha).

En el caso de los derivados monosustituidos solubles en agua, **DR41** y **DR44**, se registraron los espectros de absorción UV-vis en una variedad de disolventes con polaridad variable a temperatura ambiente y concentración de 10 μM (Figura 20).

¹⁴⁶ Gadde, S.; Batchelor, E. K.; Weiss, J. P.; Ling, Y.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 17114–17119.

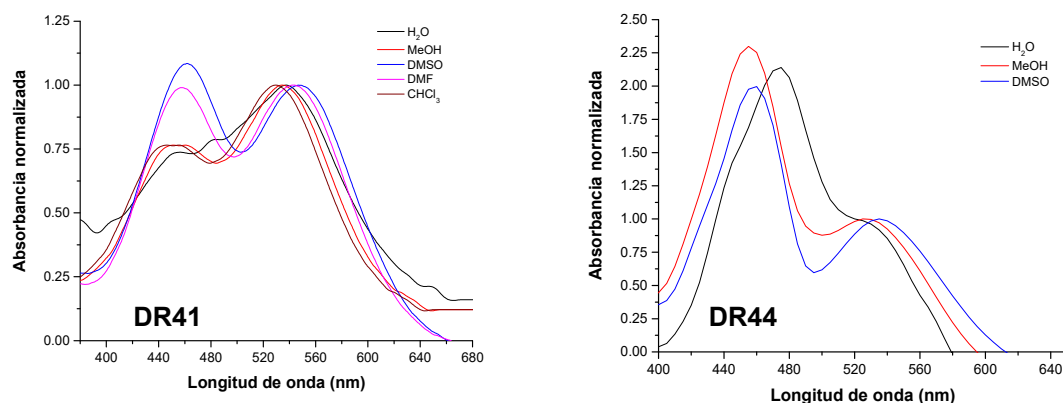


Figura 20. Espectro de absorción de los compuestos DR41 y DR44.

Los colorantes **DR41** y **DR44** presentan solubilidad en los disolventes más polares como H₂O, MeOH y DMSO. Luego de la ciclación en **DR44** el espectro de absorción muestra un desplazamiento hipsocrómico de más de 17 nm, lo que pudiera indicar mayor formación de agregados de tipo H en **DR44** que en **DR41** (favorece la formación de agregados tipo J). Ambos presentan una amplia región de absorción de 480-680 nm y el aumento de la polaridad del disolvente ocasiona un desplazamiento hipsocrómico para **DR41** y batocrómico para **DR44**. Las bandas de absorción atribuidas a la transición electrónica S₀-S₁ están situadas alrededor 532-547 nm y 520-535 nm para **DR41** y **DR44**, respectivamente. Además en ambos compuestos está presente la banda correspondiente al grupo procedente de éster borónico entre 400 y 480 nm.

Los espectros de emisión a temperatura ambiente y una concentración de 10 μM se muestran en la figura 21.

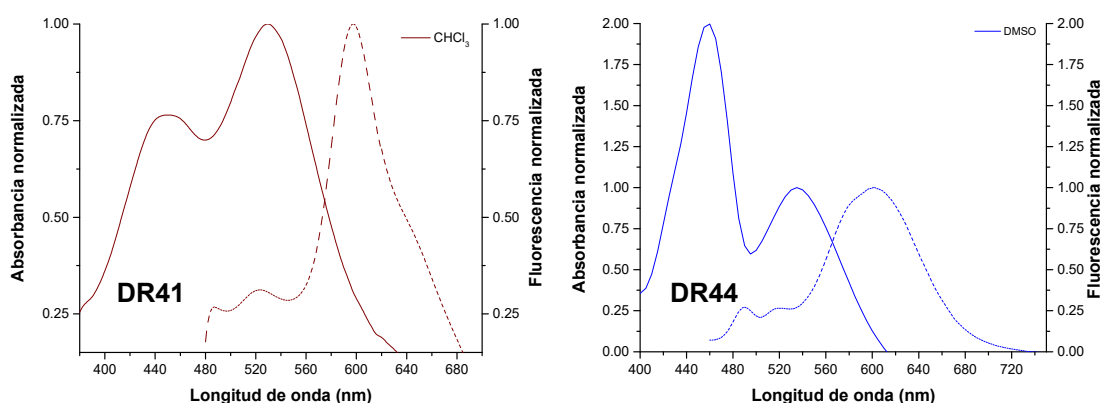


Figura 21. Espectro de absorción (línea sólida) y emisión (línea punteada) para los compuestos **DR41** ($\lambda_{exc} = 435$ nm, CHCl₃) y **DR44** ($\lambda_{exc} = 450$ nm, DMSO).

Para **DR41** y **DR44** se muestra un solo pico de emisión a 591 y 646 nm respectivamente. El desplazamiento de Stokes para los colorantes **DR41** y **DR44** fue de 62 y 66 nm, respectivamente. Presumiblemente, la participación de las moléculas de disolvente en enlaces de hidrógeno redujo significativamente la propensión a la agregación en disolvente polar como DMSO, por eso la aparición de fluorescencia en **DR44** de forma análoga a otros grupos en bibliografía.¹⁶

Las propiedades físicas de todos los compuestos sintetizados se muestran en la tabla 1. El rendimiento cuántico disminuyó con la introducción del grupo procedente del éster borónico en las posiciones 1,7-bahía del núcleo de la PDI, ésto podría atribuirse a la mayor flexibilidad de la molécula después de la introducción de grupos laterales, lo que indujo una desintegración masiva no radiativa para sus estados excitados.¹⁰⁷ Sin embargo, se observa que el proceso de ciclación es positivo, pues aumenta el rendimiento cuántico, tanto para las especies di- y monosustituidas, lo que se atribuye a una estructura molecular más rígida ocasionada por la expansión del sistema π , reduciendo así la desintegración no radiativa de la fase excitada.¹⁵

Para los colorantes solubles en agua se aprecia un mayor rendimiento cuántico en aquellos compuestos monosustituidos que para los disustituidos, esto es importante ya que demuestra que las especies con tres aminas desprotegidas presenta una menor tendencia a formar agregados con respecto a las especies disustituidas que poseen cuatro aminas desprotegidas¹⁴⁷. El compuesto **DR35** presenta un bajo rendimiento cuántico en DCM, probablemente debido al proceso de conversión interna causado por las interacciones entre enlaces de hidrógeno intermoleculares¹⁴⁸. El rendimiento cuántico medido para **DR34** y **DR37** es menor al límite de detección del equipo (LD < 0.01). La naturaleza no fluorescente de estos colorantes agregados se interpreta en términos de una desactivación no radiativa eficaz de dímeros o agregados de orden superior.

¹⁴⁷ Kohl, C.; Weil, T.; Qu, J.; Müllen, K. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 5297–5310.

¹⁴⁸ Aleshinloye, A. O., Bodapati, J. B., Icil, H. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2015**, 300, 27–37.

Tabla 1. Propiedades físicas de los compuestos estudiados.

Compuesto	Disolvente	Φ_f	%	τ_f (ns)	Pf (°C)
DR27	DCM	0.93	100	4.94	>350
DR28	DCM	0.33	39.60 60.40	3.28 8.08	>350
DR30	CHCl ₃	0.34	100	8.18	>350
DR30.1	CHCl ₃	0.46	100	9.00	>350
DR35	DCM	0.02	81.96 18.04	1.32 6.91	>350
DR36	H ₂ O	0.01	32.48 67.52	2.35 7.71	>350
DR37	H ₂ O	<LD	100	6.27	>350
DR34	H ₂ O	<LD	44.89 55.11	1.66 6.27	>350
DR28.1	DCM	0.34	100	4.90	>350
DR41	CHCl ₃	0.12	100	4.30	>350
DR43	CHCl ₃	0.62	57.56 42.44	5.29 9.99	>350
DR44	DMSO	0.03	47.45 52.54	4.96 1.45	>350

Los tiempos de vida excitados del estado singlete son largos en todos los compuestos sintetizados (entre 4 y 9 ns). Para los compuestos **DR28**, **DR34**, **DR35**, **DR36**, **DR43** y **DR44** el tiempo de vida fue ajustado por una función bi-exponencial. Los componentes de decaimiento rápido 1.32, 3.28 y 2.35 ns (**DR28**, **DR35** y **DR36**) pueden atribuirse al proceso de salto de energía fotoinducido entre las diferentes conformaciones de la PDI generadas debido a la deformación de la planariedad molecular de los compuestos. Los componentes largos 8.08, 6.92, 7.71 y 4.96 ns (**DR28**, **DR35**, **DR36** y **DR44**) corresponden a las distintas fluorescencias estacionarias de PDI para cada uno de los compuestos. Para **DR34** y **DR44** el componente corto de 1.66 y 1.45 ns puede ser debido a los diferentes agregados que pueden formarse en solución acuosa y el componente largo (6.27 y 4.96 ns) puede atribuirse a la formación del estado excitado con una conjugación más extensa por la expansión del núcleo de la PDI. En el caso de **DR43** el componente corto (5.29 ns) es del cromóforo mientras que el componente largo de 9.99 ns puede atribuirse a la emisión de estados "similares a los excímeros". Los estados "similares a excímeros" de PDIs siempre muestran tiempos de vida de fluorescencia que son más largos que los del monómero. El tiempo de vida más largo registrado

hasta ahora es de 28 ns, que fue obtenido para un dímero de PDI cíclico con una estructura relativamente rígida.¹⁴⁹ La estructura rígida con el modelo apilado estrictamente cara a cara conducirá a un mayor tiempo de vida de fluorescencia para los estados "similares a excímero" de PDI.¹⁵⁰

Estudios de asociación

La morfología de los compuestos fue estudiada por la técnica de microscopia de fuerza atómica (AFM por sus siglas en inglés) para comprobar la forma de asociación de los colorantes. Para los compuestos **DR28**, **DR30** y **DR30.1** fueron disueltos en cloroformo y DCM:MeOH (9:1) preparados a diferentes concentraciones. Se probaron dos tipos de disolventes, uno que disolviera la muestra y otro una mezcla (con un buen y mal disolvente) para comprobar que la agregación de los colorantes era la misma (Figura 22).

La topografía de los colorantes disueltos es distinta después del proceso de ciclación, así en el compuesto **DR28** se muestran solo nanoesferas, no obstante, para **DR30** y **DR30.1** se observa la presencia de nanoesferas y nanofibras. Por otro lado, el tamaño de las nanopartículas varía. Para **DR28** (A) se aprecian nanopartículas esféricas bien definidas de tamaño 2 nm a 12 nm en cloroformo, aunque en A.1 presenta partículas de mayor tamaño de unos 200 nm en menor proporción. En la mezcla de disolvente (**DR28** B) se observan nanopartículas esféricas y amorfas de tamaño entre 2 y 24 nm. Para los compuestos con sistema π expandidos las nanopartículas esféricas presentan aumento en el tamaño de la esfera de 2 hasta 35 nm en cloroformo (**DR30** A.1), además se consiguen observar nanofibras muy estrechas de tan solo 1 nm de alto y 0,8 μm de longitud. Mientras que en DCM:MeOH se favorece la formación de nanopartículas esféricas uniformes de 1 hasta 8 nm de espesor (**DR30** B). Finalmente para el colorante **DR30.1** se observa el mismo efecto de aumento significativo en el tamaño de las nanoesferas a 41 nm, se logra observar una nanoesfera de tamaño 20 nm (**DR30.1** B), también, se aprecian nanopartículas amorfas (**DR30.1** A) y la formación de nanofibras muy finas, 2 nm de alto y hasta 4 μm de longitud. En la mezcla de disolventes se observan nanoesferas uniformes de tamaño de 2 hasta 18 nm y nanofibras de 2 nm de alto y 0.3 μm de longitud.

¹⁴⁹ Feng, J. Q., Zhang, Y. X., Zhao, C. T., Li, R. J., Xu, W., Li, X. Y., Jiang, J. Z. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7000–7010.

¹⁵⁰ Wang, Y. F. Chen, Y. L. Li, R. J., Wang, S. Q., Su, W., Ma, P., Wasielewski, M. R., Li, X. Y., Jiang, J. Z. *Langmuir* **2007**, *23*, 5836–5842.

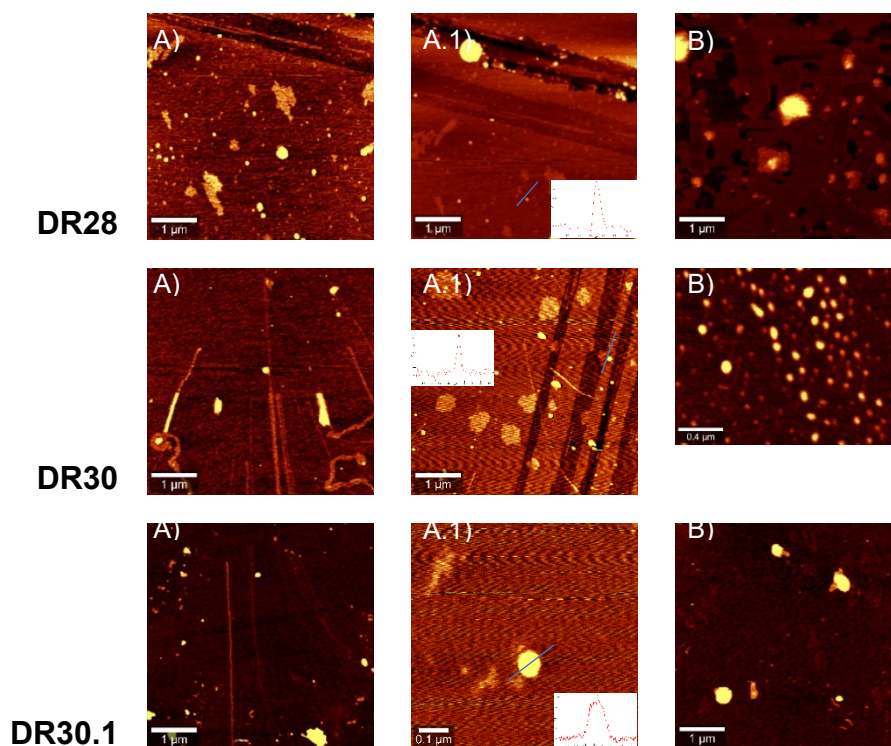


Figura 22. Imágenes de AFM de los compuestos A, A.1) 0.5 μg/mL en Cloroformo y B) 0.5 μg/mL en DCM:MeOH (9:1).

Debido a que para los disustituidos se observaron los mejores resultados en cloroformo y a una concentración de 0,5 μg/mL, para la serie de monosustituidos se registró la morfología solo para estos parámetros (Figura 23).

En este caso, los monosustituidos no experimentan cambios en la morfología de sus moléculas después de la ciclación. Predominan nanopartículas esféricas pequeñas de 2 a 8 nm (**DR28.1 A.1**; **DR43 A.1**), aunque existen en menor proporción nanopartículas de mayor tamaño entre 40 y 53 nm (**DR28.1 A**; **DR43 A**).

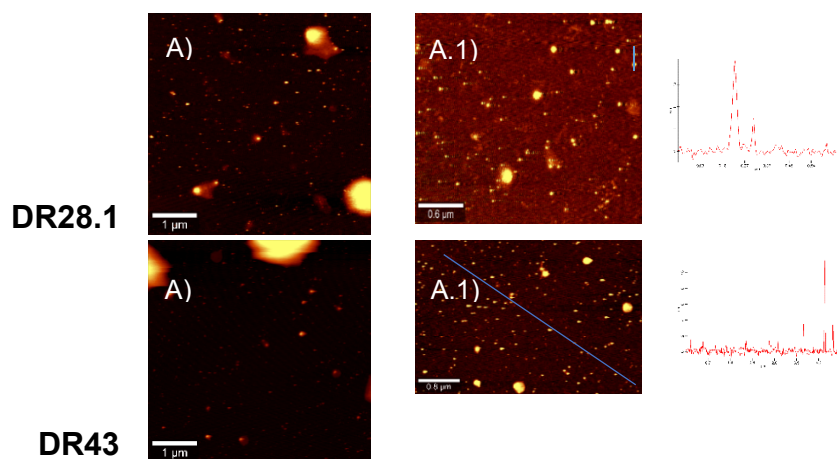


Figura 23. Imágenes de AFM de los compuestos A, A.1) a 0.5 μg/mL en cloroformo

Para los compuestos disustituidos, **DR34**, **DR36** y **DR37**, se muestra el estudio morfológico en agua a una concentración de 0.1 y 1 μg/mL, como **DR36** presentaba un efecto cinético en agua (ver Información suplementaria), se realizó un estudio con soluciones recién preparadas y luego de 5 días se tomó otra muestra para ver si existían diferencias entre ellas (Figura 24).

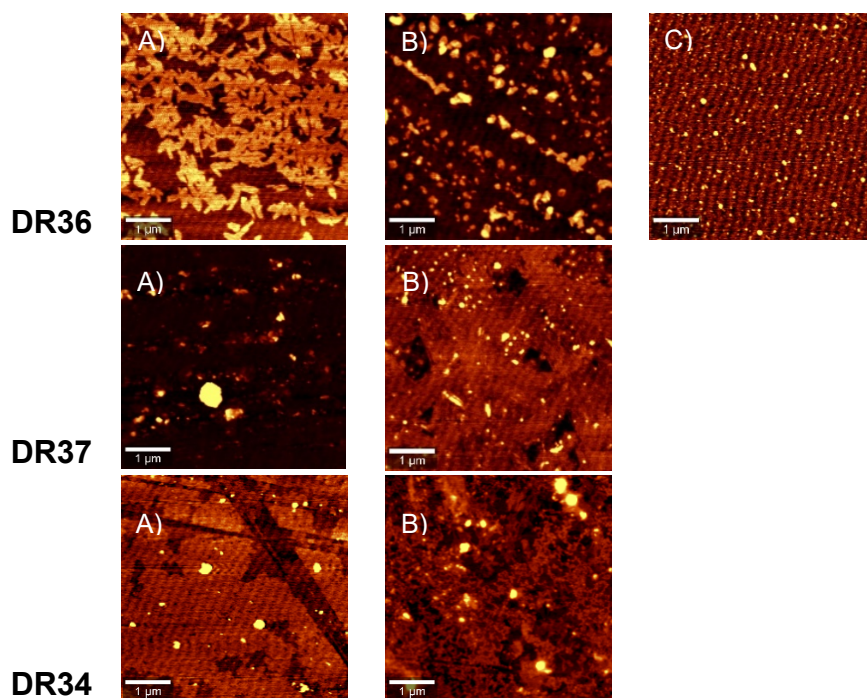


Figura 24. Imágenes de AFM de los compuestos A) 0.1 μg/mL en H₂O solución reciente B y C) 0.1 μg/mL en H₂O solución añeja.

La composición de los colorantes solubles en agua presenta un comportamiento diferente en solución reciente y añeja. En el caso de **DR36** en solución reciente se observan nanofibras irregulares que con el tiempo estas se desagregan hasta el punto de observarse luego de 1 mes nanoesferas de tamaño entre 1,5 y 7 nm (**DR36 C**). En cambio para las especies con sistema expandido π en solución reciente se observan partículas esféricas y amorfas, aunque después de un tiempo predominan las nanofibras bien empaquetadas, altamente interconectadas y bien definidas formando una red tejida para **DR37**, las longitudes de las nanofibras no se pueden determinar con precisión, debido al patrón entretejido en la superficie, en el caso de **DR34** estas redes son más amorfas.

Lo anterior demuestra un proceso de formación de nanofibras en solución, para **DR34** y **DR37**, y un proceso de desagregación para **DR36**. El primero depende del número de monómeros que forman los agregados mediante interacciones de apilamiento π - π que se encuentran en mayor proporción por la expansión del núcleo de PDI, luego de la fotociclación, de forma análoga a ejemplos de la bibliografía.¹³⁷ En el segundo caso la existencia de grupos en la posición bahía del PDI impide la agregación y las interacciones de apilamiento favoreciendo la solvatación de la molécula en agua.

En el caso de los compuestos solubles en agua monosustituidos no se observó efecto cinético en solución acuosa, las muestras fueron preparadas a una solución de 0.1 $\mu\text{g/mL}$ en agua (Figura 25).

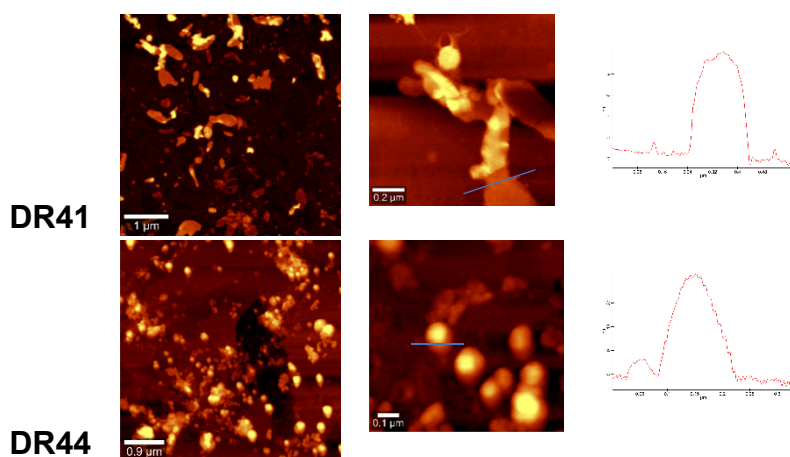


Figura 25. Imágenes de AFM de los compuestos **DR41** y **DR44** a 0.1 $\mu\text{g/mL}$ en H_2O solución reciente.

El caso de los compuestos monosustituídos la morfología cambia después de la ciclación, así para **DR41** se observan nanopartículas esféricas, amorfas y fibrosas predominando diámetros de 10 a 25 nm, pero, para **DR44** se observa la formación de conglomerados y nanopartículas con forma de globo de un tamaño mayor entre 40 y 55 nm de diámetro.

Ensamblaje supramolecular con CB[07]

Como se ha estado discutiendo en este capítulo, los compuestos solubles en agua presentan agregados, lo que ocasiona el “quenching” o enfriamiento de la fluorescencia en la mayoría de ellos. Para tratar de evitar este problema se ha probado la estabilización y desagregación de estos colorantes orgánicos en solución mediante la encapsulación en el macrociclo de CB,¹⁵¹ de hecho el interés en la familia de los hospedadores de cucurbituril (CBn, ver Figura 26) ha aumentado rápidamente en los últimos tiempos.¹⁵² Como ejemplo de ello, Halterman y colaboradores prepararon dímeros de rodamina B y han demostrado que la agregación del dímero podría disminuirse por la encapsulación con CB[7].¹⁵³ Otros trabajos demostraron la desagregación reversible de colorantes de cianina,¹³⁵ porfirinas¹⁵⁴ y bis(benzoimidazoles)¹⁵⁵ por encapsulación en CB[7]. También cabe destacar que los colorantes de perilenodiimida pueden desagregarse por encapsulación en el homólogo mayor CB[8].¹⁵⁶ En este capítulo se muestra cómo los colorantes solubles en agua son encapsulados en CB y disminuyen el grado de agregación de estas moléculas en agua.

¹⁵¹ (a) Koner, A. L., Nau, W. M. *Supramol. Chem.*, **2007**, 19, 55. (b) Arunkumar, E., Forbes, C. C., Smith, B. D. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 4051–4059. (c) Bhasikuttan, A. C., Mohanty, J., Nau, W. M., Pal, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 4120–4122. (d) Nau, W. M., Mohanty, J. *Intern. J. Photoenergy*, **2005**, 7, 133–141. (e) Mohanty, J., Nau, W. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 3750–3754.

¹⁵² (a) Lee, J. W., Samal, S., Selvapalam, N., Kim, H.-J., Kim, K. *Acc. Chem. Res.* **2003**, 36, 621–630. (b) Lagona, J.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Isaacs, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 4844–4870. (c) Sindelar, V., Silvi, S., Parker, S. E., Sobransingh, D., Kaifer, A. E. *Adv. Funct. Mater.*, **2007**, 17, 694–701. (d) Rekharsky, M. V., Mori, T., Yang, C., Ko, Y. H., Selvapalam, N., Kim, H., Sobransingh, D.; Kaifer, A. E.; Liu, S.; Isaacs, L.; Chen, W.; Moghaddam, S.; Gilson, M. K.; Kim, K.; Inoue, Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, 104, 20737–20742. (e) Liu, S., Shukla, A. D.; Gadde, S., Wagner, B. D., Kaifer, A. E., Isaacs, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 2657–2660.

¹⁵³ Halterman, R. L.; Moore, J. L.; Mannel, L. M. *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 3266–3269.

¹⁵⁴ Liu, K., Liu, Y., Yao, Y., Yuan, H., Wang, S., Wang, Z., Zhang, X. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 8285–8289

¹⁵⁵ Parente-Carvalho, C., Uzunova, V.D., DaSilva, J.P., Nau, W.M., Pischel, U. *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 8793–8795.

¹⁵⁶ Biedermann, F., Elmaleh, E., Ghosh, I., Nau, W.M., Scherman, O.A. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, 51, 7739–7743.

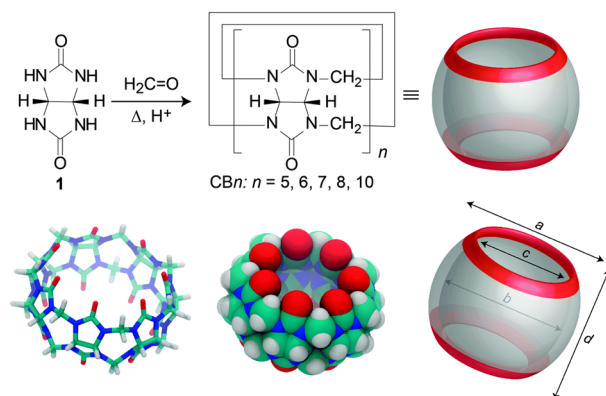


Figura 26. Estructura de la familia de CBs.

A continuación realizamos pruebas con una serie de compuestos de curcubituril de diferentes tamaños CB[n] [$n = 5-8$], con el propósito de evitar que los colorantes de PDI se agreguen en solución acuosa, mediante la formación de un fuerte complejo anfitrión-huésped. Las pruebas resultaron positivas para el CB[7] en los colorantes **DR34**, **DR37**, **DR41** y **DR44**, lo que sugiere que las disposiciones de empaquetamiento de los cromóforos de PDI en conjunto han cambiado con la presencia de CB[7] e indican una interacción diferente de los sistemas π .

Primeramente se analizó el comportamiento de los colorantes en las condiciones experimentales específicas y se determinó que esta autoagregación es significativamente mayor cuando se trabaja a concentraciones por encima de $75 \mu\text{M}$. Esto se confirmó por la linealidad del gráfico de Lambert-Beer en la concentración correspondiente a pH 7 (ver información suplementaria, IS). Además se observa el enfriamiento de la fluorescencia a partir de esa misma concentración para todos los colorantes. De manera que las valoraciones realizadas con CBs se realizaron a una concentración de $10 \mu\text{M}$.

En segundo lugar se realizó un estudio cinético entre los compuestos y el CB[7], resultando positivo para **DR37**. Por lo que su valoración para la determinación del complejo anfitrión-huésped no pudo ser evaluada (ver IS).

Por último, se estudió mediante titulaciones de absorción UV-vis, fluorescencia, espectroscopia de RMN y espectrometría de masas la formación del complejo.

Para el compuesto **DR34** en solución $10\ \mu\text{M}$, la adición de hasta $0.91\ \text{mg/mL}$ de CB[7] en agua neutra causa cambios drásticos en el espectro de absorción y emisión (Figura 27). Este compuesto posee un límite de detección de $3.74\ \mu\text{M}$ para CB[7].

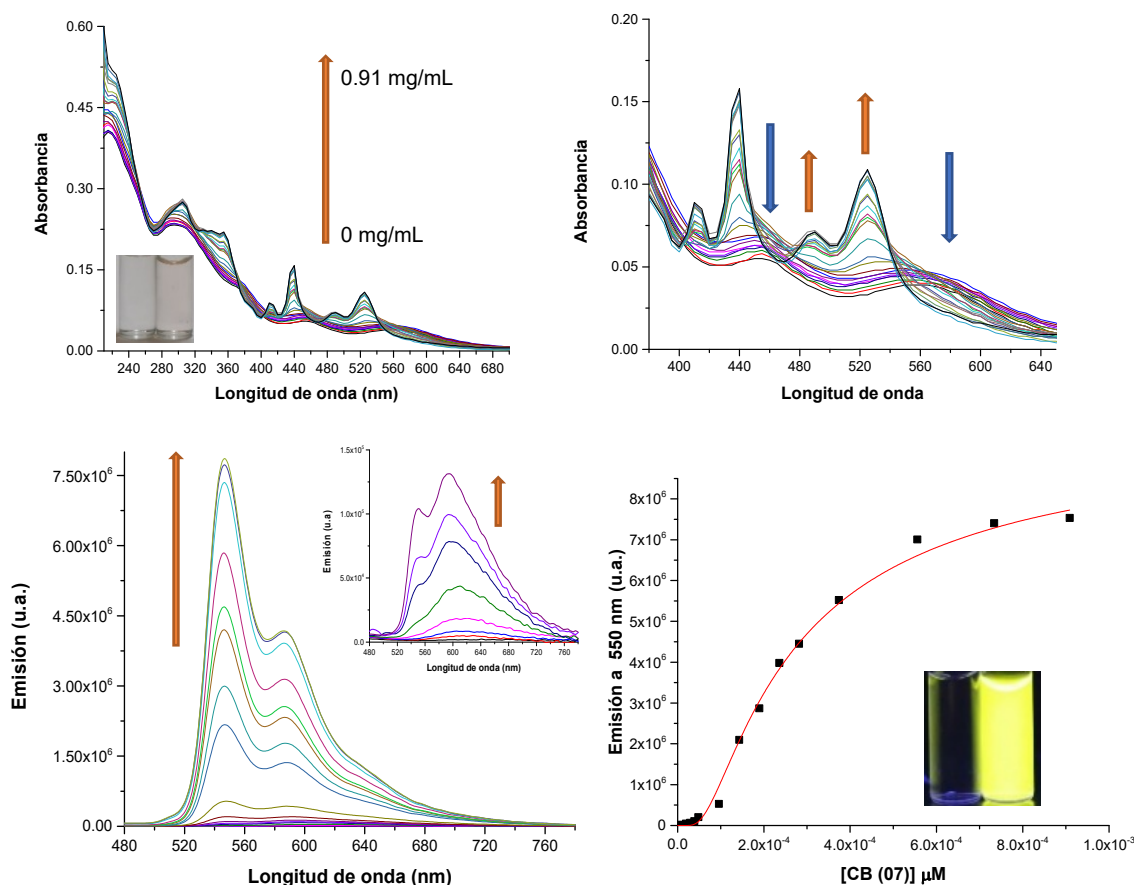


Figura 27. Curva de titulación de absorción completa y ampliación de la zona de 400 a 640 nm (arriba); curva completa de titulación de fluorescencia y detalle de las primeras adiciones de la valoración, mostrando la variación de las bandas de fluorescencia (abajo izquierda); gráfico de titulación (abajo derecha) entre **DR34** y CB[7] en agua ($10\ \mu\text{M}$ **DR34**, 0 a $0.91\ \text{mg/mL}$ de CB[7]). Imágenes de inserción: absorción del **DR34** ($10\ \mu\text{M}$, arriba izquierda) y después de la adición de $0.91\ \text{mg/mL}$ de CB[7] (arriba derecha), fluorescencia de **DR34** ($10\ \mu\text{M}$, abajo izquierda), y después de la adición de $0.91\ \text{mg/mL}$ de CB [7] (abajo derecha).

Para el colorante libre de CB[7] se muestran dos bandas de absorción entre 456 y 550 nm, sin embargo, al agregar el CB[7] disminuyen estas bandas y aumentan las bandas en torno a 520 y 490 nm, obteniéndose una estructura fina vibracional. La aparición de estas últimas bandas en el espectro de absorción es muestra de una huella óptica del colorante no agregado

acompañado de un desplazamiento hipsocrómico, lo que señala un proceso de desagregación.

En cuanto al espectro de emisión inicial del colorante solo muestra una banda en 522 nm que sería la emisión del monómero no agregado, sin embargo, al añadir CB[7] aparece un pico amplio alrededor de 650 nm. Esta nueva banda de emisión tiene un desplazamiento de Stokes muy grande (alrededor de 240 nm) y puede atribuirse a la formación del estado de excímero, posiblemente formado por los agregados tipo J.¹⁵⁷ Después de agregar 0.048 mg/mL de CB[7] aparece la banda en 550 y 585 nm correspondiente al colorante desagregado. Pasa de no tener fluorescencia a una fluorescencia intensa (QY = 20%) para el aducto **DR34-CB[7]**. El tiempo de vida media fue de 6.20 ns, muy similar al tiempo de vida que se obtuvo para la pequeña fracción de colorante no agregado en ausencia de CB[7]. Esto también es señalado por Taylor y colaboradores,¹⁵⁸ quienes muestran cómo el CB desagrega un complejo de Zn que tiende a la agregación en solución acuosa. Por alguna causa el CB[7] forma complejos con agregados tipo J, primero, y posteriormente con los agregados tipo H. De manera que suponemos que en solución tendremos el compuesto de tres formas diferentes en forma de agregados (tipo H y J) y en forma de monómero, esto explicaría la formación de tres puntos isobésticos en el espectro de absorción y las diferentes fluorescencias presentadas en solución (Figura 28).

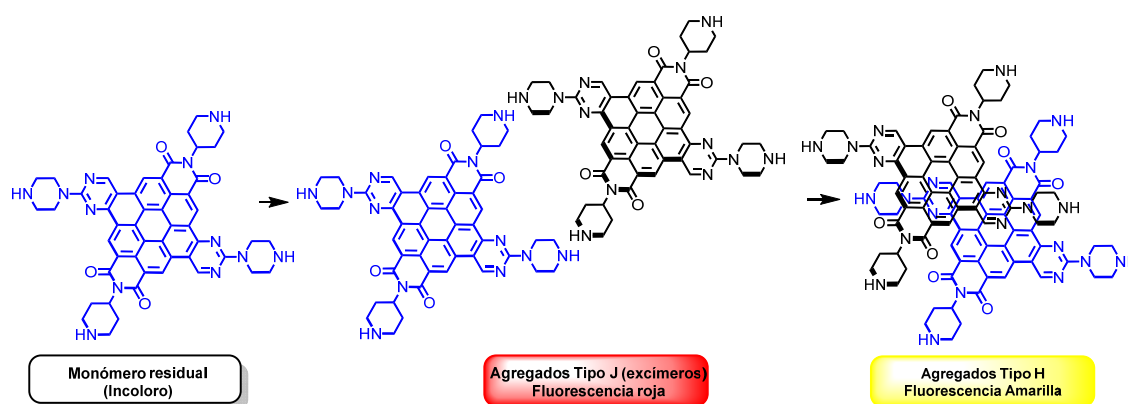


Figura 28. Diferentes formas que se encuentra el compuesto en solución.

¹⁵⁷ (a) Heek, T., Fasting, C., Rest, C., Zhang, X., Würthner, F., Haag, R. *Chem. Commun.*, **2010**, 46 (11), 1884-1886. (b) Tam, J.P., Wu, C.R., Liu, W., Zhang, J.W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113(1) 6657-6662. (c) Son, M., Park, K.H., Shao, C., Würthner, F., Kim, D. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, 5(20), 3601-3607.

¹⁵⁸ Taylor, P., Pais, V., Carvalho, E., Tomé, J. *Supramol. Chem.*, **2014**, 26, 642-647.

Desafortunadamente, la baja solubilidad del compuesto **DR34** en agua obstaculizó el esfuerzo de obtener la complejación anfitrión-huésped mediante espectroscopia de RMN, sin embargo sí se obtuvieron datos de la espectrometría de masas que daban como resultado la aparición de picos correspondientes a la formación de complejos 1:1 y 2:1 entre el CB[7] y el colorante **DR34**.

Con el fin de determinar los puntos de unión en las estructuras del colorante y CB[7] hemos utilizado métodos computacionales. La estructura más estable es aquella en que dos moléculas de cucurbituril[7] se colocan en las posiciones apicales del coroneno (Figura 29 A), seguida de la estructura en que se colocan en las posiciones ecuatoriales, 2.84 kcal/mol (Figura 29 B).

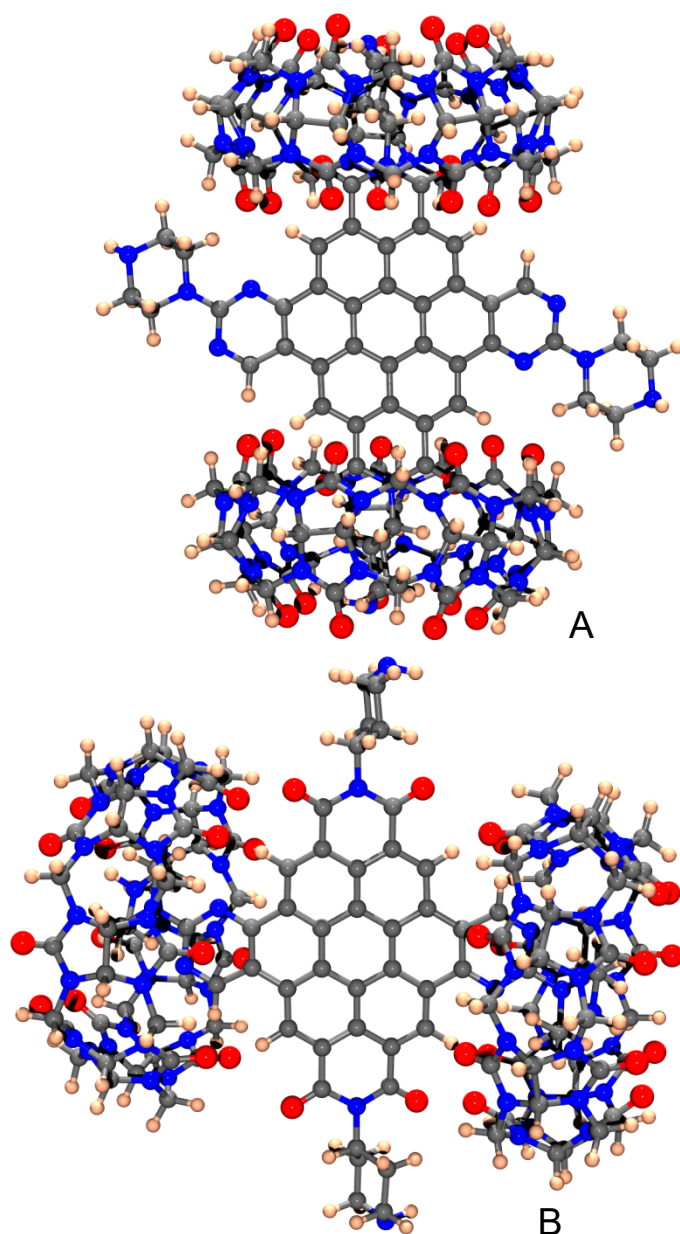


Figura 29. Estructuras calculadas de los complejos DR34+2CB[7], energías relativas: (A) DR34+2CB[7] (0 kcal/mol), (B) DR34+2CB[7] (2.84 kcal/mol).

También se calculó la estructura agregada más simple, el dímero de agregación de **DR34** (Figura 30).

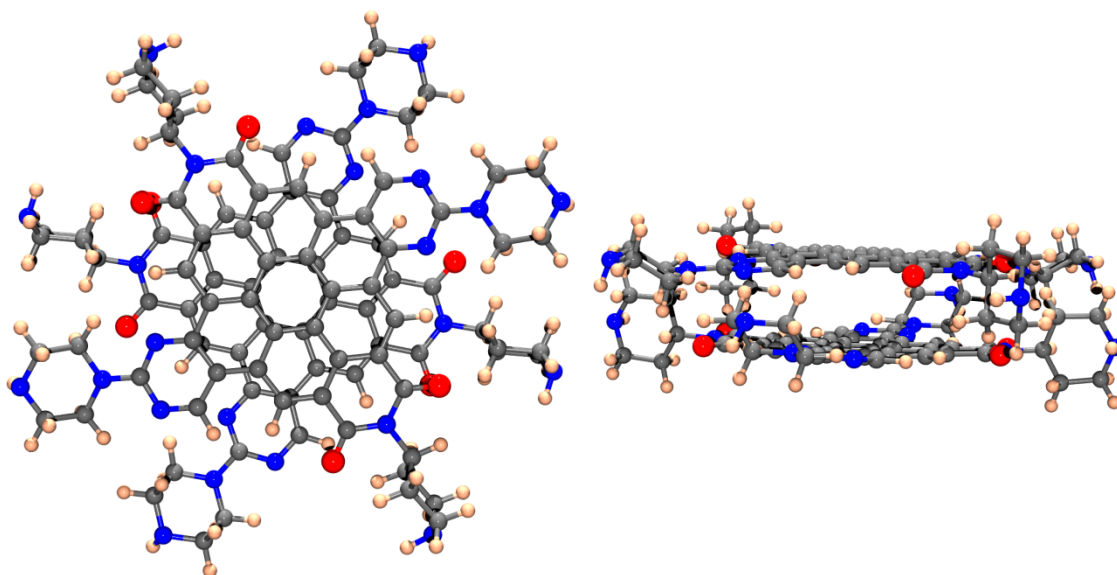


Figura 30. Estructura calculada del dímero de agregación de **DR34** vista desde el plano paralelo a la estructura aromática y desde un plano perpendicular, energía de estabilización del dímero de agregación = -52.24 kcal/mol.

Los efectos observados están relacionados con una verdadera interacción supramolecular entre CB[7] y los grupos amina en la periferia del colorante (Figura 31).

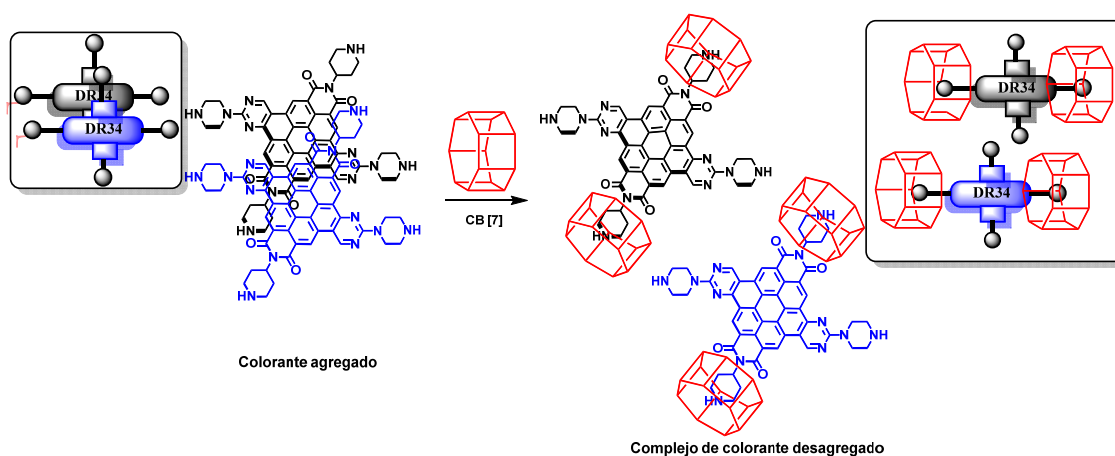


Figura 31. Desagregación del colorante **DR34** por complejación con CB[7].

Además, se ha explorado la capacidad del complejo **DR34-CB[7]** como un sensor supramolecular de algunos cationes de forma cualitativa. Es posible

que sirva como sensor ON-OFF, para los cationes Au^{3+} , Pd^{2+} e Ir^{3+} , que con una proporción molar 1:5 logran que la solución de **DR34** vuelva a su forma original no fluorescente (Figura 32).

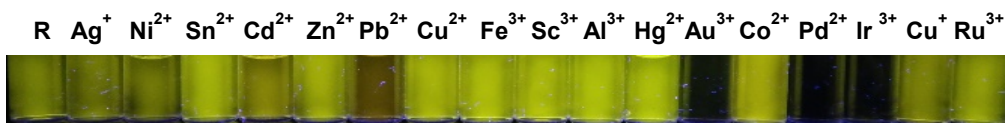


Figura 32. Fluorescencia de cada disolución 10 μM de **DR34** en H_2O con una proporción molar 1:5 de cada catión ($\lambda_{\text{exc}} = 366 \text{ nm}$).

También fue evaluado el colorante **DR41** en solución 10 μM con CB[7], la adición de hasta 0.87 mg/mL de CB[7] en agua neutra causa cambios drásticos en el espectro de absorción y el de emisión (Figura 33). Este compuesto presenta un límite de detección de 3.72 μM para CB[7].

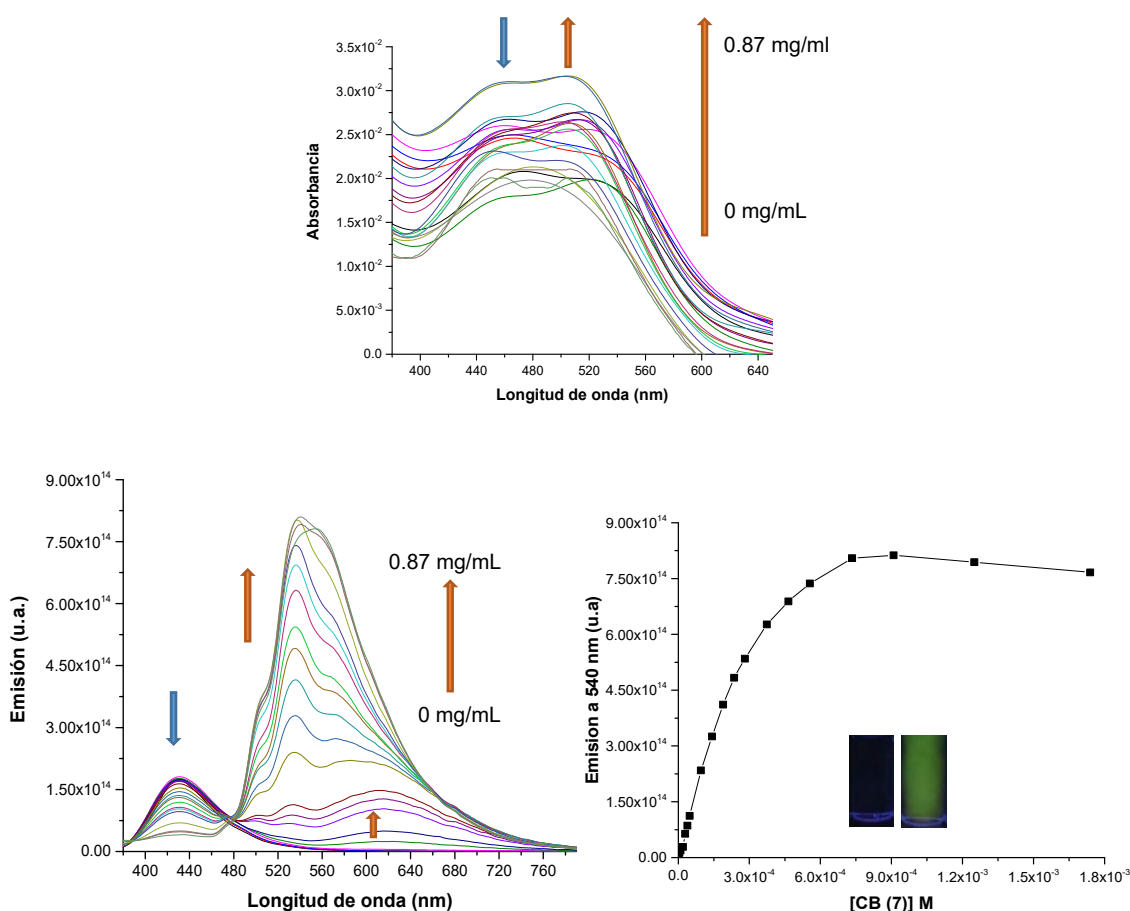


Figura 33. Curvas de titulación de absorción (arriba), fluorescencia (abajo izquierda) y gráfico de titulación (abajo derecha) entre **DR41** y CB[7] en agua (10 μM **DR41**, 0 a 0.87mg/mL de CB[7]). Imágenes de inserción: Fluorescencia de **DR41** (10 μM) (izquierda) y después de la adición de 0.87 mg/mL de CB[7] (derecha).

El compuesto **DR41** sin CB[7] presenta dos bandas de absorción entre 474 y 515 nm, sin embargo al agregar el CB[7] disminuye la banda de 474 nm y es desplazada a 464 nm, además aumenta la banda en torno a 515 nm y es desplazada a 502 nm, cambiando así la estructura vibracional. Esto puede indicar la huella óptica del colorante no agregado acompañado de un desplazamiento hipsocrómico, lo que indica también la desagregación del compuesto.

En cuanto al espectro de emisión inicial del colorante, solo muestra una banda en 430 nm que sería la emisión del monómero, sin embargo, al añadir CB[7] un nuevo pico centrado aparece alrededor de 614 nm, esta nueva banda de emisión tiene un desplazamiento de Stokes muy grande (alrededor de 180 nm) y puede atribuirse a la formación del estado de excímero con agregados tipo J. Posteriormente se observan las bandas en 540 y 570 nm, el rendimiento cuántico de fluorescencia pasa de 12% a 25%, indicando un aumento (QY = 25%) para el compuesto **DR41**-CB[7]. El tiempo de vida media fue de 4.59 ns, similar al tiempo de vida que se obtuvo para la pequeña fracción de colorante no agregado en ausencia de CB[7]. Sin embargo, se observa una presencia importante de excímeros pues el complejo presenta una segunda componente, en el tiempo de vida de 9.54 ns. Igual que en el caso anterior, el CB[7] forma complejos con agregados tipo J, primero, y posteriormente con los agregados tipo H, esto explicaría las diferentes fluorescencias presentadas en solución en la titulación con CB[7].

Desafortunadamente la baja solubilidad del compuesto **DR41** en agua obstaculizó nuestros esfuerzos para obtener la complejación anfitrión-huésped mediante espectroscopia de RMN, sin embargo sí se obtuvieron datos de la espectrometría de masas que daba como resultado la aparición de picos correspondientes a la formación de complejos 1:1 y 2:1 entre el CB[7] y el colorante **DR41**.

Por último, el colorante **DR44** fue evaluado con CB[7] en solución 10 μM , la adición de hasta 1.03 mg/mL de CB[7] en agua neutra causa cambios drásticos en el espectro de absorción y emisión (Figura 34). Este compuesto presenta un límite de detección para el CB [7] de 3.74 μM .

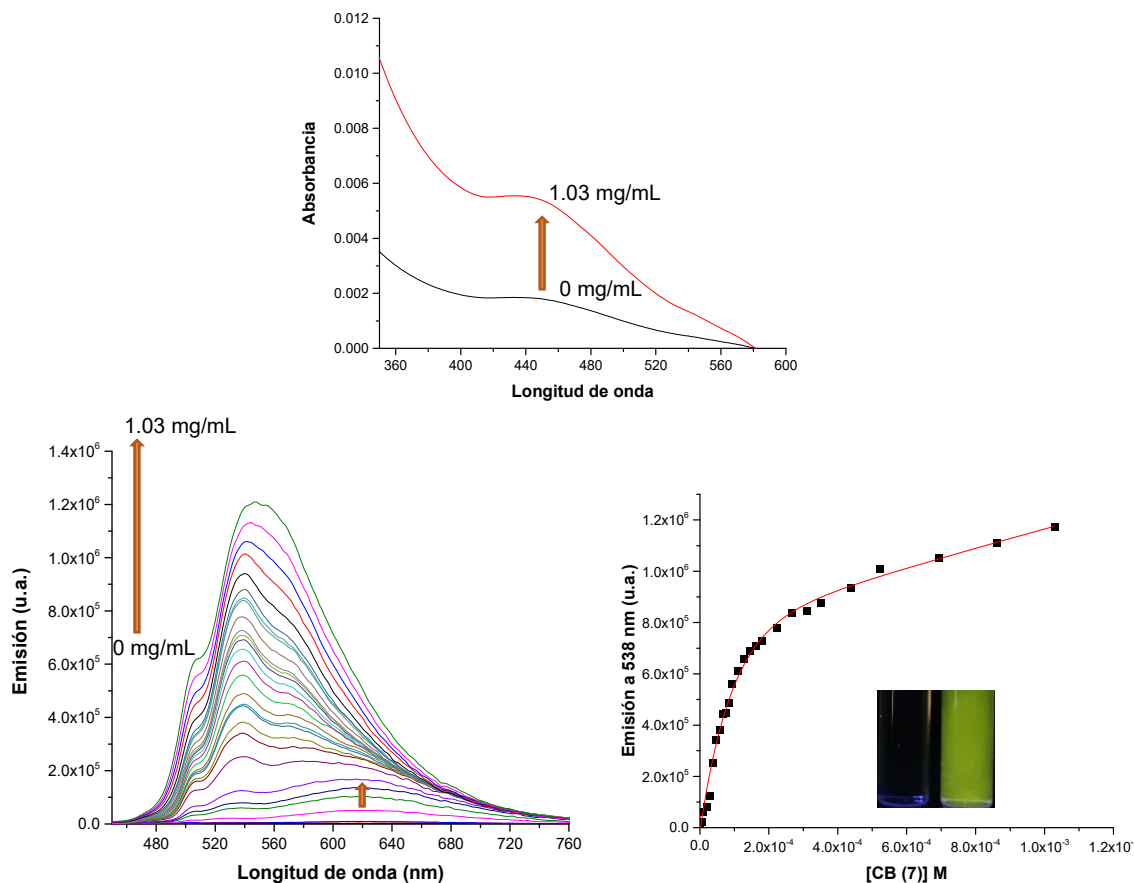


Figura 34. Curvas de titulación de absorción (arriba), fluorescencia (abajo izquierda) y gráfico de titulación (abajo derecha) entre **DR44** y CB[7] en agua (10 μM **DR44**, 0 a 1.03 mg/mL de CB [7]). Imágenes de inserción: Fluorescencia de **DR44** (10 μM) (izquierda), y después de la adición de 1.03 mg/mL de CB [7] (derecha).

El compuesto **DR44** sin CB[7] presenta una banda de absorción en 432 nm, sin embargo al agregar el CB[7] aumenta el coeficiente de absortividad molar de 185 a 646 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Esto puede indicar la huella óptica del colorante no agregado, lo que señala también la desagregación del compuesto. En cuanto al espectro de emisión inicial del colorante, solo muestra una banda en 500 nm que sería la emisión del monómero, sin embargo, al añadir CB[7] aparece un nuevo pico alrededor de 620 nm. Esta nueva banda de emisión tiene un desplazamiento de Stokes muy grande (alrededor de 120 nm) y puede atribuirse a la formación del estado de excímero. Posteriormente, aparece la

banda en 538 nm correspondiente al complejo. El rendimiento cuántico pasa de 3 a 30%, lo que refleja un aumento de la fluorescencia en el compuesto DR44-CB[7]. El tiempo de vida media fue de 4.41 ns, similar al tiempo de vida que se obtuvo para la pequeña fracción de colorante no agregado en ausencia de CB[7]. Además el complejo presentó una importante presencia de excímero pues se registró un componente largo de 10.25 ns.

Desafortunadamente, la baja solubilidad del compuesto **DR44** en agua obstaculizó nuestros esfuerzos para obtener la complejación anfitrión-huésped mediante espectroscopia de RMN.

La adición de CB[7] parece suprimir la agregación de los colorantes **DR34**, **DR41** y **DR44**, mediante la formación selectiva de complejos que contienen sólo una sola molécula de colorante; en los tres casos fue observada la presencia residual de monómeros y de complejos entre los colorantes y CB[7], primero con agregados tipo J y luego con agregados tipo H. Por lo tanto, CB[7] desempeña un papel importante en la fragmentación de los agregados de colorantes fluorescentes, proporcionando así una alternativa atractiva al uso de disolventes orgánicos o soluciones micelares, cuyo uso se desaconseja, por ejemplo, para los láseres de colorantes debido a su reducida fotoestabilidad, bajo rendimiento termo-óptico y otras consideraciones económicas y ambientales.¹⁵⁹

¹⁵⁹ a) Mialocq, J. C., Meyer, M., Höbert, P., Armand, X., Lambert, D. *Opt. Commun.* **1990**, *77*, 185-191. b) Mialocq, J. C., Höbert, P., Armand, X., Bonneau, R., Morand, J. P. *J. Photochem. Photobiol. A*, **1991**, *56*, 323 – 338. c) Sinha, S., Ray, A. K., Kundu, S., Sasikumar, S. Dasgupta, K. *Appl. Phys. B*, **2002**, *75*, 85 – 90.

Detección de explosivos (TNB y TNT)

De los colorantes solubles en agua, **DR34** presenta una notable selectividad con respecto al TNB y luego al TNT, por lo que se ha estudiado en detalle. Se realizaron valoraciones de absorbancia y fluorescencia para evaluar su efecto como sensor (Figura 35).

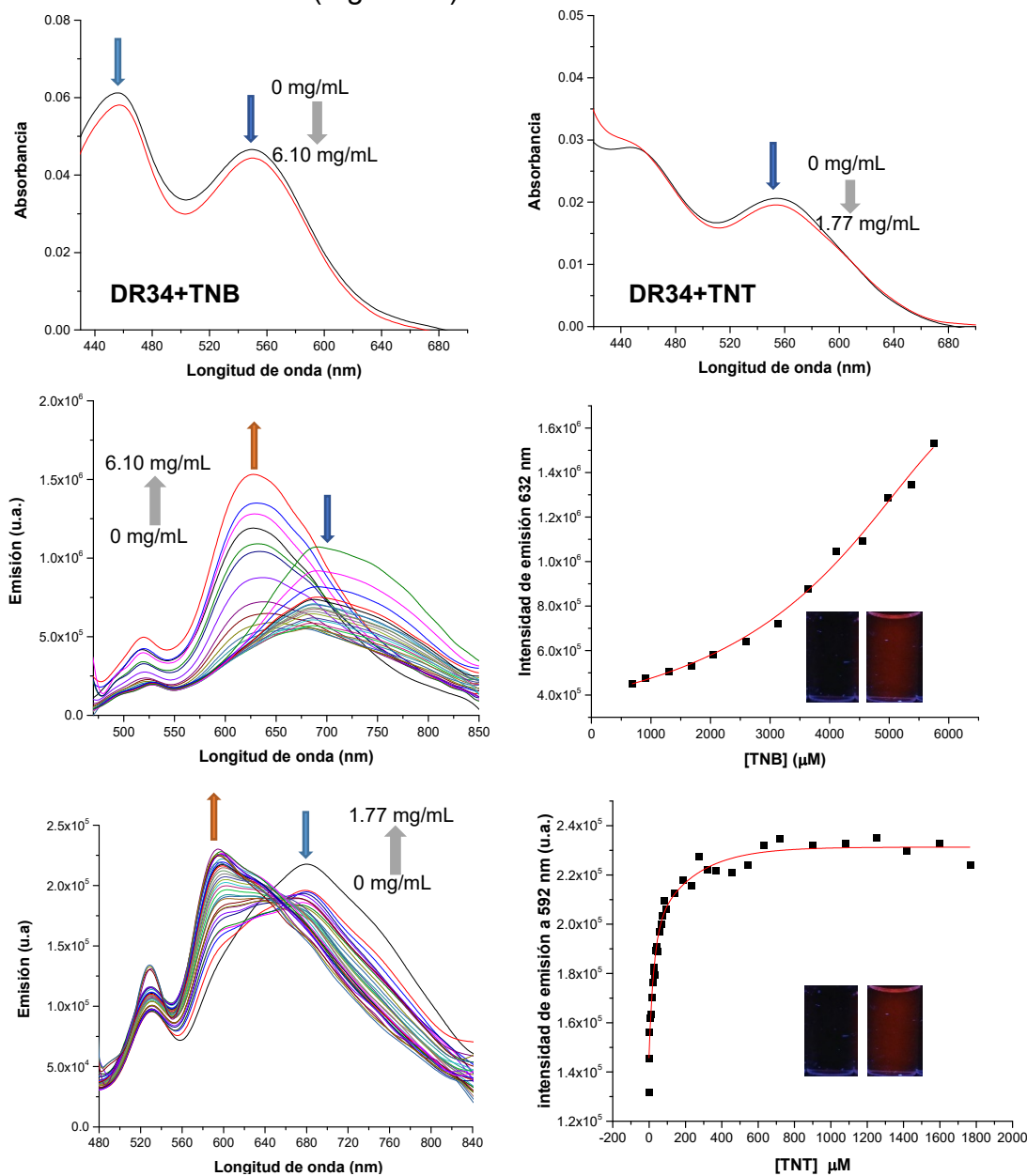


Figura 35. Arriba: curvas de titulación de absorbación (izquierda **DR34** y TNB; derecha **DR34** y TNT). Medio: fluorescencia (izquierda) y gráfico de titulación (derecha) entre **DR34** y TNB en agua ($10 \mu\text{M}$ **DR34**, 0 a 6 mg/mL de TNB). Imagen de inserción: fluorescencia de **DR34** ($10 \mu\text{M}$, izquierda), y después de la adición de 6 mg/mL de TNB (derecha). Abajo: fluorescencia (izquierda) y gráfico de titulación (derecha) entre **DR34** y TNT en agua ($10 \mu\text{M}$ **DR34**, 0 a 1.77 mg/mL de TNT). Imagen de inserción: Fluorescencia de **DR34** ($10 \mu\text{M}$, izquierda), y después de la adición de 1.77 mg/mL de TNT (derecha)

La titulación cuantitativa punto a punto de **DR34** con TNB y **DR34** con TNT, a una concentración de 10 μM en agua, no muestra cambios significativos en el espectro UV-Vis, sólo una disminución de las bandas. Sin embargo, en el espectro de fluorescencia sí se observan algunos cambios relevantes. En primer lugar, en el compuesto sin TNB ni TNT se observa una banda de emisión alrededor de 520 nm, lo que pudiera indicar la presencia del monómero, también está presente en 700 nm la banda correspondiente a los excímeros, explicada anteriormente. Al agregar TNB o TNT la banda alrededor de 700 nm disminuye y aumenta la banda de fluorescencia en 632 nm para el TNB y 592 nm para el TNT, el compuesto pasa de no presentar fluorescencia a un rendimiento cuántico de fluorescencia de 2 y 3% ($QY = 2$ y 3%) después de la adición de TNB y TNT en exceso, acompañado de una disminución en el tiempo de vida media en el compuesto **DR34**-TNB y **DR34**-TNT (4.95 y 4.62 ns, respectivamente). Ese cambio de fluorescencia significativo observado bajo lámpara UV indica que **DR34** puede ser un prometedor quimiosensor selectivo para la detección directa de TNT residual. Se obtuvo un límite de detección de 287.6 (61.3 ppm) y 3.5 μM (0.79 ppm) respectivamente para el TNB y TNT en solución, adecuado para la detección de cantidades residuales de TNB y TNT en agua procedentes de explosivos improvisados.

Se estudió mediante cálculos mecanocuánticos la estructura más probable del complejo **DR34**-TNB que da lugar a la desagregación y al aumento de fluorescencia (Figura 36). La energía calculada de estabilidad del complejo fue de -16.18 kcal/mol.

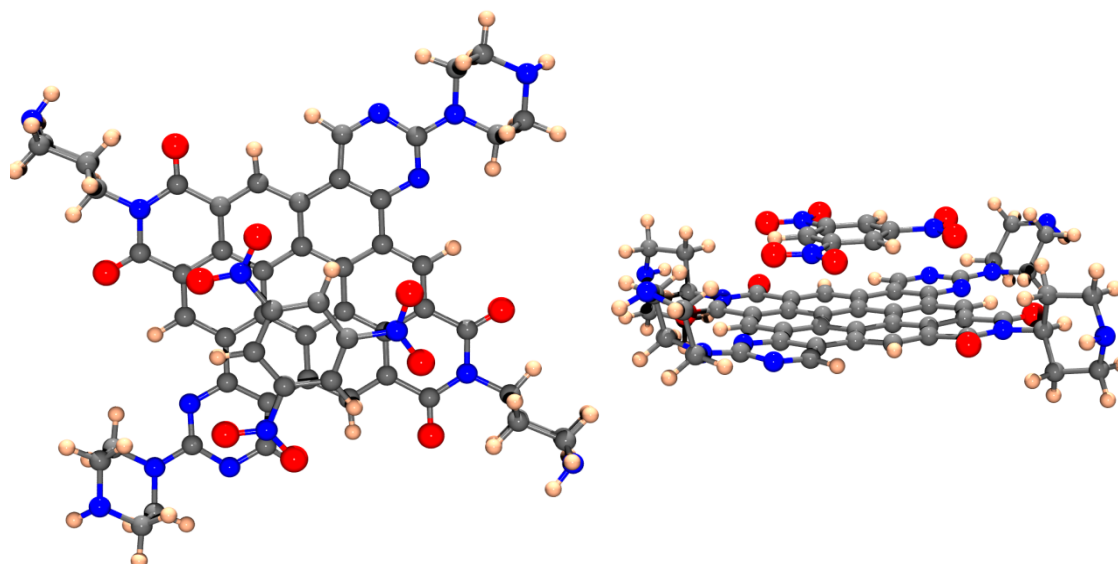


Figura 36. Estructura calculada del complejo **DR34**-TNB vista desde el plano paralelo a las estructuras aromáticas y desde un plano perpendicular.

Pruebas en células

En colaboración con otros grupos de investigación se realizó una serie de pruebas en células para los compuestos solubles en agua, **DR34**, **DR36**, **DR37**, **DR41** y **DR44**.

Los compuestos **DR36**, **DR37** y **DR34** entran en el interior celular a concentraciones elevadas, 100 μM , pero no parecen distribuirse de manera localizada por lo que no se siguió investigando.

En el caso de **DR41** y **DR44**, ambas sondas son internalizadas por las células en menos de 1 h y a una menor concentración 10 μM ; por lo tanto los derivados monosustituidos tienen mayor capacidad para ser internalizados en las células que los derivados disustituidos (Figura 37).

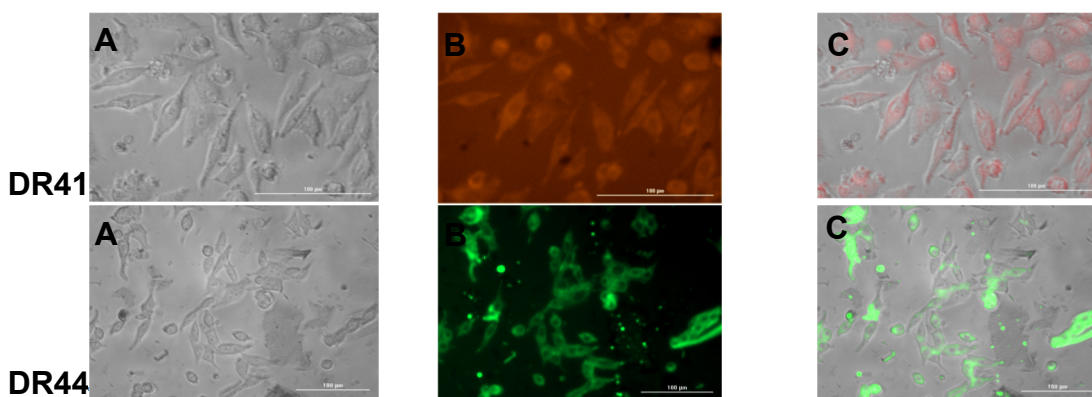


Figura 37. Imágenes de células SW480 tratadas con 10 μM of **DR41** y **DR44** después de 1 hora de incubación. A) contraste de fase, B) fluorescencia naranja para **DR41** y verde para **DR44**; C) superposición de imágenes.

Luego se estudió su citotoxicidad mediante MTT en células humanas de adenocarcinoma de colon (SW 480) con 48 h de exposición, para **DR36**, **DR37**, **DR34** su $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ (Figura 38). Estos resultados muestran que **DR34** y **DR37** inhibieron la supervivencia celular de forma dependiente a la concentración utilizada de la sonda, y mostraron una actividad anticancerígena muy débil.

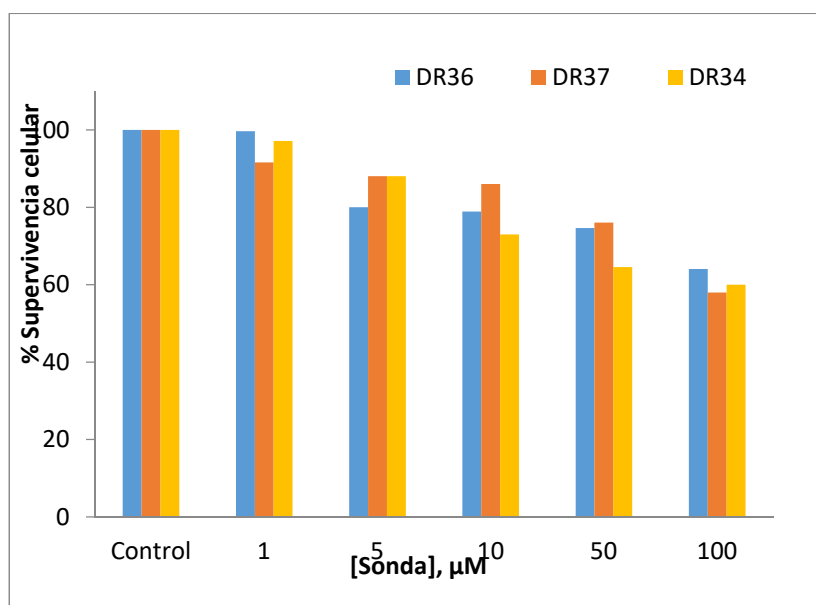


Figura 38. % Supervivencia celular de SW480 en función de la concentración de compuesto tras 48h de exposición.

Para los compuestos monosustituidos **DR41** y **DR44** se siguió el mismo procedimiento pero con menor tiempo de exposición (24 h), se obtuvo un $IC_{50} = 7.5 \pm 5.2 \mu M$ para **DR41**, mientras que para **DR44** el $IC_{50} > 200 \mu M$ (Figura 39). Estos resultados muestran una buena actividad anticancerígena para **DR41**.

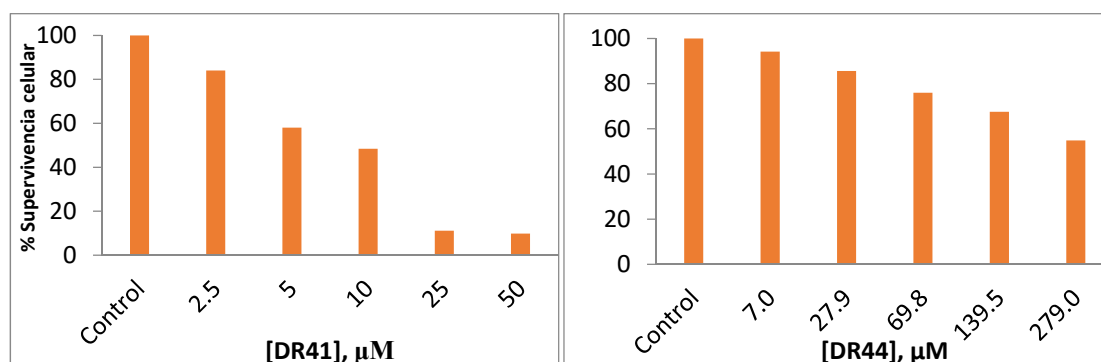


Figura 39. % Supervivencia celular en cultivos de SW480 en función de la concentración de compuesto tras 24h de exposición.

Estudios frente a ADN cuadruplex

Posteriormente se comprobó la interacción con G4 mediante estudios de desnaturalización térmica por FRET, utilizando diversos oligonucleótidos (Tabla 2) doblemente marcados con FAM y TAMRA.

Tabla 2: Oligonucleótidos utilizados en el FRET Melting Assay

Oligonucleótido	Secuencia (FAM 5'- -3' TAMRA)
F21T - ADN telomérico humano- híbrido mayoritariamente	GGG TTA GGG TTA GGG TTA GGG
F21RT - ARN telomérico humano- paralelo	GGG UUA GGG UUA GGG UUA GGG
F25CebT - ADN minisatélite humano- paralela con loop largo	A GGG T GGG TGT AAGTGT GGG T GGG T
F21CTAT - ADN telomérico humano- paralela	GGG CTA GGG CTA GGG CTA GGG
FmycT - protooncogen - paralela	TTGA GGG T GGG TA GGG T GGG TAA
FBom17T - ADN telomérico de <i>Bombyx</i> - antiparalela de 2 tétradas	GG TTA GG TTA GG TTA GG
FTBAT- trombin binding aptamer- antiparalela de 2 tétradas	GG TT GG TGT GG TT GG
FdxT - duplex intramolecular	TATAGCTAT- hexaetilenglicol-TATAGCTATA

DR36 no estabiliza la G4, sin embargo, **DR34** y **DR37** sí la estabilizan notablemente trabajando a $C_D/C_P = 50$. Actualmente se están realizando experimentos a otras relaciones para comprobar el efecto dosis – respuesta y estudios de competición para poder confirmar la aparente selectividad de **DR37** por la G-cuadruplex frente a **DR34** que parece interaccionar también con la dúplice intramolecular (Figura 40).

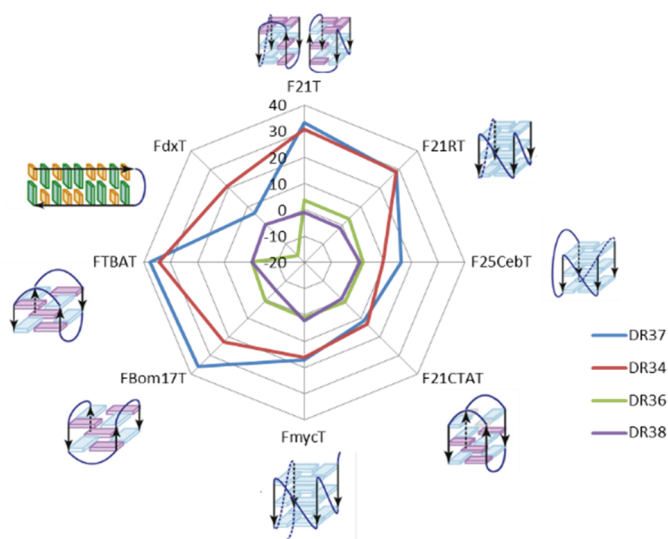


Figura 40. ΔT_m gráfico de Spider de varios oligonucleótidos en presencia de $10 \mu M$ de los compuestos ensayados

Para el caso de **DR41** y **DR44**, son hasta el momento las que producen, en términos generales, mayor estabilización térmica de la G-quadruplex (Figura 41). Cabe destacar que no se ha podido determinar con exactitud la ΔT_m al ser demasiado grande la estabilización térmica a $10 \mu M$, por lo que el spider plot es meramente orientativo. Habría que repetirlo con una menor concentración de las sondas. Es interesante la poca estabilización observada en las G4 paralelas en comparación con el resto de conformaciones. Faltaría comprobar si finalmente interaccionan también con la doble hélice de ADN ya que también estabilizan la dúplice intramolecular.

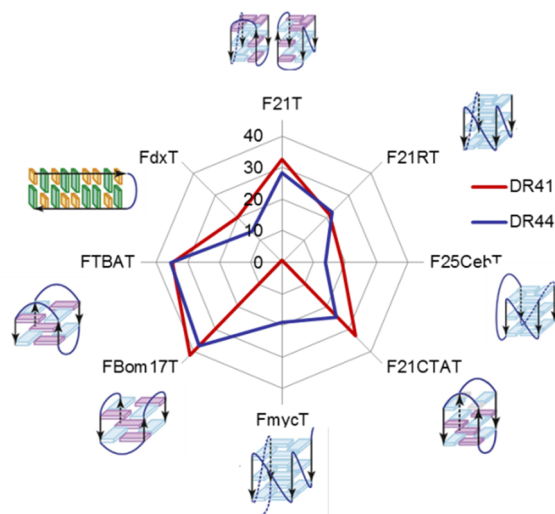


Figura 41. ΔT_m gráfico de Spider de varios oligonucleótidos en presencia de $10 \mu M$ de los compuestos ensayados.

CONCLUSIONES

Se ha proporcionado un nuevo enfoque supramolecular para la síntesis de materiales solubles en agua mediante una reacción fotoquímica.

Cuando se ciclan los sustituyentes en posición bahía, el impedimento estérico de estas moléculas agrandadas en el núcleo se debilita y promueve su tendencia a construir nanofibras 1D uniformes mediante el apilamiento π - π de los núcleos aromáticos coplanares. Estos compuestos exhiben una absorción óptica extensa, cubriendo la región visible e infrarroja cercana, debido a su conjugación π expandida.

Simplemente añadiendo CB[7] a los compuestos **DR34**, **DR41** y **DR44** no emisivos en agua, la fluorescencia de los cromóforos de PDI en los agregados puede incrementarse considerablemente, conduciendo así a la fabricación racional de materiales supramoleculares altamente fluorescentes en agua.

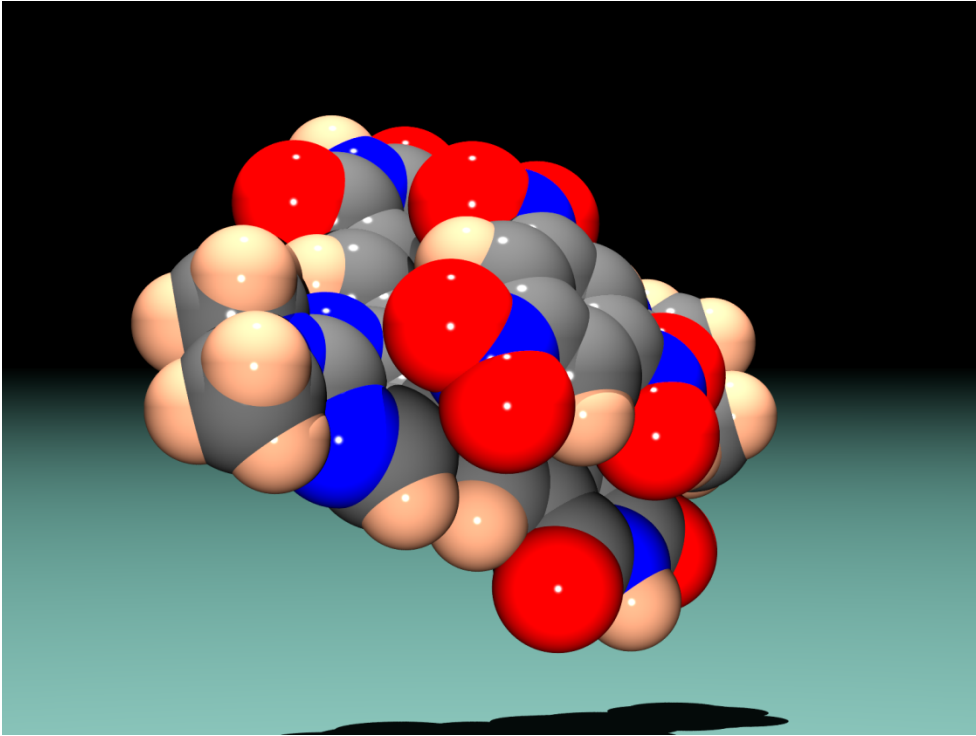
Se demostró que la complejación con CB[7] de unidades periféricas de anclaje de piperidina de un colorante derivado del PDI conduce a su desagregación. Esto se verificó experimentalmente mediante cambios drásticos en el espectro de absorción UV-vis y un aumento de fluorescencia.

La disposición definida de los cromóforos y la estructura altamente ordenada de las nanopartículas multicromofóricas presentes en las superficies puede dar lugar a aplicaciones como materiales electroactivos o fotoactivos en los que dichas partículas pueden abordarse individualmente.

La adición de CB[7] a soluciones acuosas de **DR34**, **DR41** y **DR44** ha expuesto una interacción sinérgica de varios efectos ventajosos, que incluyen aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia, cambios espectrales, aumento de la fotoestabilidad a niveles bajos y la prevención de adsorción inespecífica y agregación de colorantes. Estos factores son de interés para múltiples aplicaciones prácticas: para los láseres de colorantes, para el marcaje de biomoléculas y en PCR con lectura de fluorescencia. Varias de estas aplicaciones están actualmente bajo evaluación detallada.

DR34 mostró un aumento en la intensidad de la fluorescencia en presencia de TNB y TNT en agua pura, por lo que podría funcionar como un sensor altamente selectivo y sensible para determinar trazas de TNB y TNT en solución acuosa.

Los compuestos **DR41** y **DR44** forman agregados, lo que ocasiona un apagado de la fluorescencia en agua pero se vuelven altamente fluorescentes (naranja y verde) cuando se incorporan en un medio lipófilo biológico, tal como el interior de células SW480. Lo que puede sugerir que se pueden utilizar fácilmente como marcadores de células vivas. Además, **DR41** presenta buena actividad anticancerígena y estabilización de G-quadruplex, lo que sugiere que podría ser un buen candidato para el diseño eficiente de fármacos contra el cáncer de colon



CONCLUSIONES

1.- Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidias sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el mercado de células.

Se ha sintetizado con éxito una nueva familia de colorantes simétricos y no simétricos a través de una breve ruta sintética. En ellos se aprecia un aumento en la longitud de onda de absorción y emisión mediante la introducción de grupos fenoxi hidrofílicos e hidrofóbicos en posición bahía de la PDI. Estos compuestos presentan alto rendimiento cuántico, alta estabilidad fotofísica y fácil modificación en la posición peri del PDI, esta posición demostró ser una plataforma ideal para anclar diferentes tipos de moléculas orgánicas. Por las excelentes propiedades presentadas, estos compuestos, pueden ser utilizados en diferentes campos de investigación.

Se ha desarrollado una nueva estrategia sintética para el diseño de derivados de perilenodiimidias disimétricos en posición bahía. La introducción de grupos hidrofílicos produce la disminución de la planariedad de la molécula y mejora de forma significativa la solubilidad de los compuestos. Los perfiles de los espectros ópticos están influenciados principalmente por los efectos electrónicos de los sustituyentes en las posiciones bahía del núcleo de perileno. Además se observa un aumento en el rendimiento cuántico de fluorescencia.

Por otra parte, los colorantes muestran una excelente estabilidad térmica (hasta 350 °C), esto les hace idóneos para posibles aplicaciones de alta tecnología que requieren colorantes con absorción y emisión a medida en una región específica del espectro visible.

El compuesto **DR21** demostró una eficiente y rápida internalización en la célula, con una fuerte fluorescencia en verde. Por lo tanto, tiene una mayor capacidad para ser internalizado por las células. La combinación de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en posición bahía se ha interpretado como la causa de tal eficiencia.

2.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de su asociación.

Se ha presentado un eficiente método de síntesis de tres nuevos derivados con sistema expandido π basados en perilenodiimidias por

fotociclación. Estos compuestos están disponibles a través de una ruta fácil, barata y directa.

La ciclación fotoquímica del compuesto **DR17** es la más rápida, pues es la menos estéricamente exigente para formar el hemicoroneno **DR18**. Aunque el tamaño del sustituyente tiene poca influencia en la velocidad de reacción, el número de reacciones cíclicas en el núcleo de perileno es crucial. Por lo tanto, la reacción del compuesto disustituido **DR13** para formar el coroneno **DR14.1** es muy lenta.

Cuando se ciclan los sustituyentes en las posiciones bahía el impedimento estérico de estas moléculas agrandadas en el núcleo se debilita y promueve su tendencia a construir nanofibras uniformes mediante el apilamiento π - π de los núcleos aromáticos coplanares, efecto visto en los compuestos disustituidos y monosustituidos. Estas PDIs de núcleo extendido y sus nanoestructuras autoensambladas exhiben una absorción óptica extensa, cubriendo la región visible, debido a su conjugación π expandida, además presentan una fluorescencia más fuerte que la de sus precursores.

Las series sintetizadas son estables y solubles en disolventes orgánicos comunes que muestran un comportamiento de absorción y emisión versátil con altos rendimientos cuánticos de fluorescencia y tiempo de vida bastante largos. Especialmente **DR14**, **DR14.1** y **DR29** ofrecen propiedades ópticas interesantes ya que su espectro de absorción cubre una amplia gama de la región visible, lo que hace que estos compuestos sean unos colorantes prometedores para la fotovoltaica orgánica. De manera análoga a los colorantes de perileno conocidos, se puede prever además su uso como colorantes emisores en rojo para diodos emisores de luz orgánicos debido a su fuerte fluorescencia después de los 560 nm.

La disposición definida de los cromóforos y la estructura altamente ordenada de las nanopartículas multicromofóricas presentes en las superficies puede dar lugar a aplicaciones como materiales electroactivos o fotoactivos en los que dichas partículas pueden abordarse individualmente.

El aumento del apilamiento π exige mayores grupos de solubilización que impidan el empaquetamiento molecular, con esto en mente, ahora somos capaces de afinar las propiedades de perilenodiimida y coroneno tetracarboxildiimida para la creación de compuestos que sean solubles en agua para su aplicación biológica.

3.- Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.

Se ha proporcionado un nuevo enfoque supramolecular para la síntesis de materiales solubles en agua mediante una reacción fotoquímica.

Cuando se ciclan los sustituyentes en posición bahía, el impedimento estérico de estas moléculas agrandadas en el núcleo se debilita y promueve su tendencia a construir nanofibras 1D uniformes mediante el apilamiento π - π de los núcleos aromáticos coplanares. Estos compuestos exhiben una absorción óptica extensa, cubriendo la región visible e infrarroja cercana debido a su conjugación π expandida.

Simplemente añadiendo CB[7] a los compuestos **DR34**, **DR41** y **DR44** no emisivos en agua, la fluorescencia de los cromóforos de PDI en los agregados puede incrementarse considerablemente, conduciendo así a la fabricación racional de materiales supramoleculares altamente fluorescentes.

Se demostró que la complejación con CB[7] de unidades periféricas de anclaje de piperidina de un colorante derivado del PDI conduce a su desagregación. Esto se verificó experimentalmente mediante cambios drásticos en el espectro de absorción UV-vis y un aumento de fluorescencia.

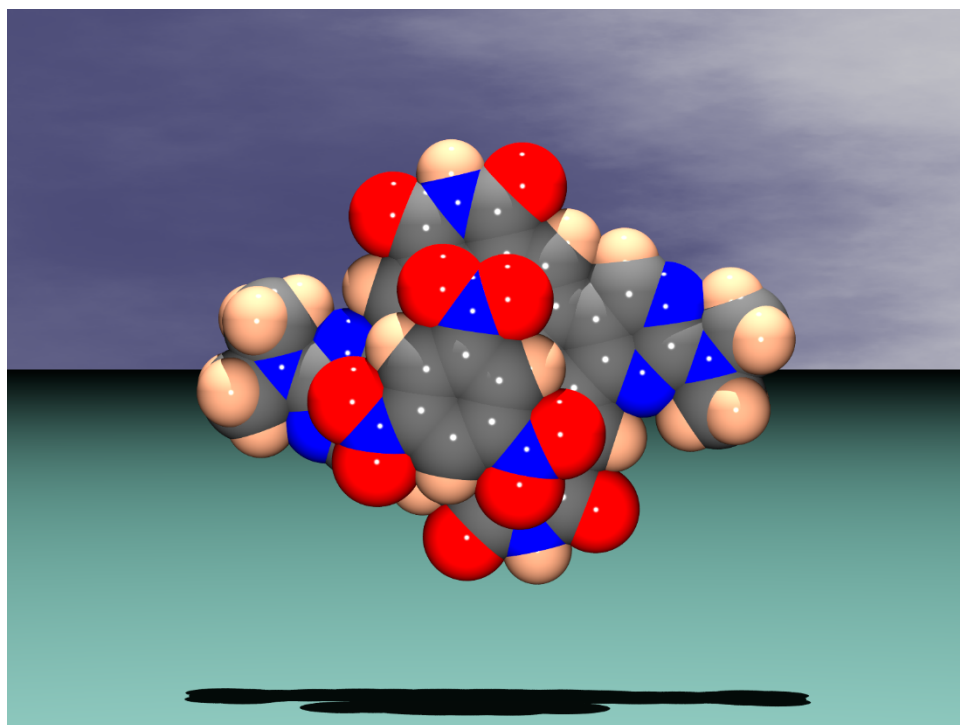
La disposición definida de los cromóforos y la estructura altamente ordenada de las nanopartículas multicromofóricas presentes en las superficies puede dar lugar a aplicaciones como materiales electroactivos o fotoactivos en los que dichas partículas pueden abordarse individualmente.

La adición de CB[7] a soluciones acuosas de **DR34**, **DR41** y **DR44** ha expuesto una interacción sinérgica de varios efectos ventajosos que incluyen aumento del rendimiento cuántico de fluorescencia, cambios espectrales, aumento de la fotoestabilidad a niveles bajos y la prevención de adsorción inespecífica y agregación de colorantes. Estos factores son de interés para múltiples aplicaciones prácticas como láseres de colorantes o para el marcaje de biomoléculas. Varias de estas aplicaciones están actualmente bajo evaluación detallada.

DR34 mostró un aumento en la intensidad de la fluorescencia en presencia de TNB y TNT en agua pura, por lo que podría funcionar como un

sensor altamente selectivo y sensible para determinar trazas de TNB y TNT en solución acuosa.

Los compuestos **DR41** y **DR44** forman agregados, lo que ocasiona un apagado de la fluorescencia en agua, pero se vuelven altamente fluorescentes (naranja y verde) cuando se incorporan en un medio lipófilo biológico tal como el interior de células SW480. Lo que puede sugerir que se pueden utilizar fácilmente como marcadores de células vivas. Además, **DR41** presenta buena actividad anticancerígena y estabilización de G-quadruplex, lo que sugiere que podría ser un buen candidato para el diseño eficiente de fármacos contra el cáncer de colon.



SUPPLEMENTARY INFORMATION.

General considerations:**Melting Points (MP):**

Melting points were determined on an electrothermal melting point Gallenkamp apparatus and are uncorrected.

Infrared (FT-IR):

Infrared Spectra were recorded with the potassium bromide pellet method, with a JASCO FT/IR-4200 spectrometer.

Nuclear Magnetic resonance (NMR):

Spectra were recorded with Varian Mercury-300 and Varian Unity Inova-400 spectrometers at room temperature (25°C), with CDCl₃, CD₃CN and CD₃OD as solvents. Chemical shifts (δ) were reported in parts per million (*ppm*) relative to the residual solvent peaks, rounded to the nearest 0.01 for ¹H-NMR and 0.1 for ¹³C-NMR. Spin-spin coupling constants (*J*) in ¹H-NMR were given in Hz, rounded to the nearest 0.1 Hz. Peak multiplicity was indicated as follows: *s* (singlet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quartet), *m* (multiplet) and *br* (broad). Relative integrals were given in ¹H-NMR too. All ¹³C NMR were recorded with complete proton decoupling. Carbon types, structure assignments and attribution of peaks were determined from ¹³C-DEPT-NMR and, in some cases, two dimensional correlation experiments (HMQC (¹H-¹³C), COSY (¹H-¹H) and HMBC (¹H-¹³C)). NMR spectra were analyzed using MestReNova NMR data processing software.

High Resolution Mass Spectrometry (HR-MS):

High-resolution mass spectra were acquired with a Micromass AutoSpec instrument, by electronic impact (70 eV). MALDI-TOF mass spectra were measured with a MALDI-TOF Bruker Autoflex Mass Spectrometry instrument, using DCTB (*trans*-2-[3-(4-*tert*-butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene] malononitrile) or DIT (dithranol) as matrixes, in modes positive or negative. The atomic mass of the molecular ion (and/or fragments) per elementary charge were reported in dimensionless quantities.

UV/Vis and Fluorescence Spectroscopy:

Absorption spectra were acquired with a Varian Cary Eclipse or a Hitachi U-3900 spectrometers, in one centimetre quartz cells at 25°C. Emission spectra were recorded with a Hitachi F-7000 FL or a modular Edinburgh Instruments FLS980 spectrofluorometers, in one centimetre quartz cells at 25°C.

Solvatochromism Tests:

All samples were freshly prepared in a concentration of 10 μM in each different solvent. Photos were taken with a Canon (EOS M3) camera of 22 mm. Absorption spectra were acquired with a Varian Cary Eclipse or a Hitachi U-3900 spectrometers, in one centimetre quartz cells at 25°C. Emission spectra were recorded with a in a Varian Cary Eclipse or a Hitachi F-7000 FL spectrofluorometers, in one centimetre quartz cells at 25°C, exciting at corresponding wavelength, indicated below. The solvents were, if it is not said otherwise: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).

Fluorescence Lifetime Decays:

Chromophore solutions (or mixtures of chromophore with an additive) were freshly prepared in a concentration of 1-10 μM in the corresponding solvent. The decay was fitted (black) with a sum of two exponentials by convolution with the instrumental response function (red). The quality of the fit was judged by χ^2 values and the plot of the weighted residues. Measurements were made with a modular spectrometer Edinburgh Instruments FLS980, with a source excitation pulsed lasers of picosecond diode: 366-380 nm, 398-410 nm, 437-446 nm, 470-478 nm, 505-515 nm and 635 nm. One centimetre quartz cells, at 25°C, were employed.

Quantum Yields:

Fresh solutions made from high-purity dyes (or mixtures of dye with an additive) and solvent were used. Integrating sphere was used as the method and three measurements were performed for each sample in order to calculate the average. Solutions were prepared in a concentration of 1-10 μM in the

corresponding solvent. The excitation wavelength is indicated in each case. Measurements were made with a modular spectrometer Edinburgh Instruments FLS980. One centimetre quartz cells, at 25°C, were employed.

Morphologies (AFM imaging):

All compounds were dissolved in a corresponding solvent or in a mixture of them, at different concentrations. Solutions were freshly prepared, if it is not said otherwise. Then 2 µl of these solutions were transferred to a mica surface and dried at room temperature. Surface topography was studied with an Alpha300A AFM Witec., in tapping mode (force constant of 2.8 N·m⁻¹) under ambient conditions using moderate scan rates (1–2 lines per second). Topography and phase images were recorded simultaneously, with a resolution of 512 x 512 pixels. Images were processed and analyzed by using WITec Project Four 4.1 Software.

Microwave reactor:

Microwave assisted reactions were conducted with a Biotage Initiator EXP EU Microwave System. Temperature and reaction time were fixed and power oscillates to reach it. The temperature was monitored by an IR sensor on the outer surface of the reaction vessel. Reactions were carried out in 10 or 20 mL sealed glass vials.

Qualitative tests:

Cucurbituril: Dyes were dissolved in the corresponding solvent (or mixture of them), indicated below, in a concentration of 10 µM. Then, aqueous solutions of **CB[5]**, **CB[6]**, **CB[7]** and **CB[8]** were added in a molar proportion of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20 (dye:cucurbituril). Photos were taken under white and 366 nm lights. The test is *positive* when any change is observed; it is *negative* in the other case.

Cations, anions and oxidizing and reducing agents: Analytes were dissolved in the corresponding solvent (or mixture of them), indicated below, in a concentration of 10 µM. In some cases, an additive was added (it is reported in the data). Then, different solutions of cations, anions and oxidizing or reducing agents, dissolved in the appropriate solvent, were added in a molar proportion of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20 (compound:analyte). Photos were taken under white and 366 nm lights. The test is *positive* when any change is observed; it is *negative* in the other case. Analytes tested, if it is not said

otherwise, were: Cations (in water): Ag^+ ($\text{AgClO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$), Ni^{2+} ($\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), Sn^{2+} ($\text{Sn}(\text{OTf})_2$), Cd^{2+} ($\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$), Zn^{2+} ($\text{Zn}(\text{OTf})_2$), Pb^{2+} ($\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$), Cu^{2+} ($\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), Fe^{3+} ($\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \times \text{H}_2\text{O}$), Sc^{3+} ($\text{Sc}(\text{OTf})_3$), Al^{3+} ($\text{Al}(\text{ClO}_4)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$), Hg^{2+} ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$), Au^{2+} ($\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$), MeHg^+ (MeHgCl). Anions (in water): Cl^- (TBACl), F^- (TBAF), Br^- (TBABr), I^- (TBAI), BzO^- (TBA(BzO)), NO_3^- (TBA(NO_3)), H_2PO_4^- (TBA(H_2PO_4)), HSO_4^- (TBA(HSO_4)), AcO^- (TBA(AcO)), CN^- (TBA(CN)), SCN^- (TBA(SCN)). Oxidizing agents: oxone, benzoyl peroxide, H_2O_2 and *m*-CPBA, in H_2O ; TNB and TNT in methanol.

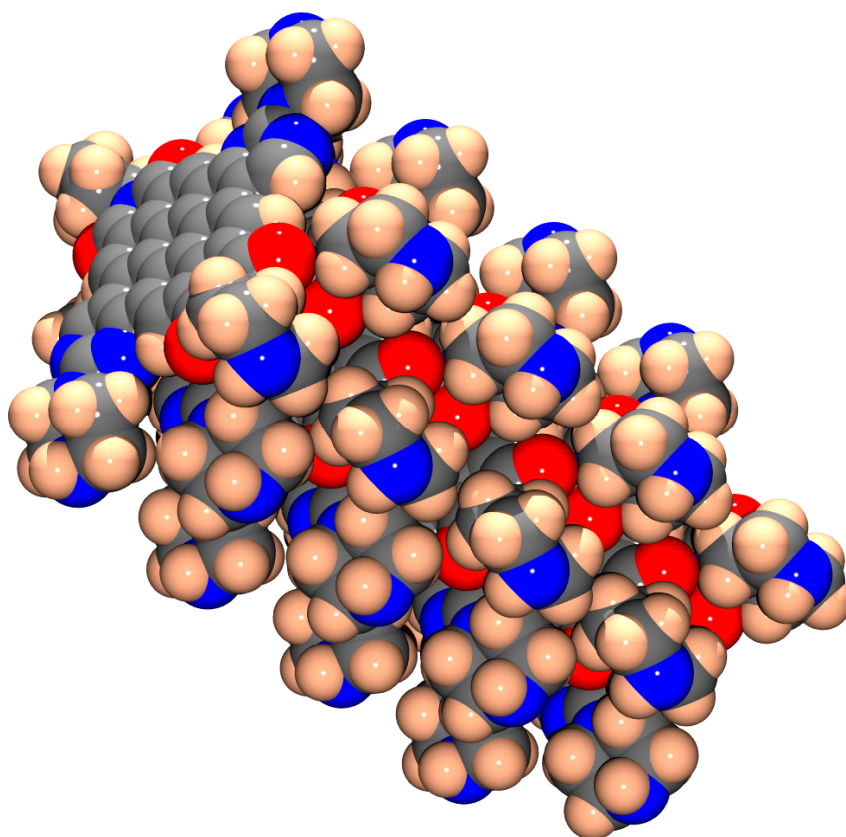
Test of pH effect: Dyes were dissolved in the corresponding solvent (or mixture of them) indicated below, in a concentration of 10 μM . Then, 10 μl of this solution were added to 240 μl of each buffer solution. These solutions were (pH (salt, concentration): 5.4 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 5.7 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 6.8 (HEPES, 5 mM), 6.9 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 7.1 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 7.1 (HEPES, 5 mM), 7.3 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 7.4 (NaH_2PO_4 , 5 mM), 7.5 (HEPES, 5 mM), 8.0 (HEPES, 5 mM), 9.1 (NaH_2PO_4 , 5 mM) and 10.5 (HEPES, 5 mM)). pH of the resulting solution was regulated with aqueous NaOH (5%) and HCl (1 M). Photos were taken under white and 366 nm lights.

Kinetic effect studies:

Dyes were dissolved in the corresponding solvent (or mixture of them), indicated below, in a concentration of 10 μM . Absorbance and luminescence emission were measured using a Hitachi U-3900 spectrometer and a Hitachi F-7000 FL spectrofluorometer respectively, in one centimetre quartz cells at 25°C. Time rates oscillated over one spectra per three minutes.

Lambert-Beer studies:

In order to choose the optimum work concentration, absorbance and emission intensity of the dye was checked to be linear. Dyes were dissolved in the corresponding solvent (or mixture of them), indicated below, in a concentration range of 0.1-10 μM . Absorbance and emission intensity were measured using (Absorption spectra were acquired with a Hitachi U-3900 spectrometer and a Hitachi F-7000 FL spectrofluorometer respectively, in 1 cm quartz cells at 25°C.

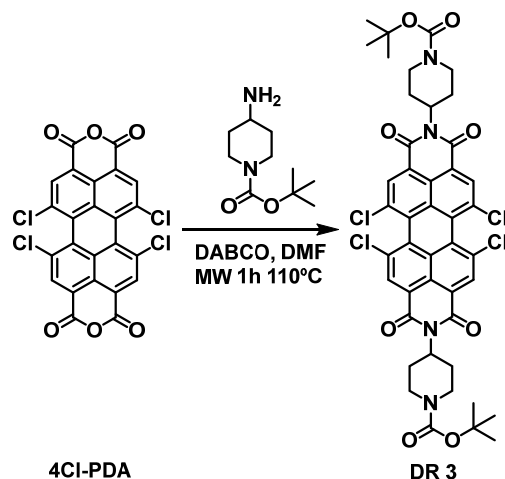


CHAPTER I.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES

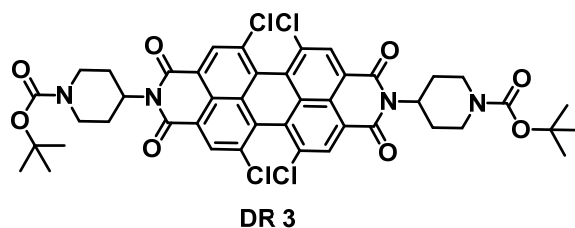
Chapter I: “*Desarrollo de nuevos métodos de síntesis de perilenodiimidias sustituidas en posiciones bahía altamente fluorescentes para el mercado de células*”.

Synthesis of precursor DR3.



Synthesis:

1,6,7,12-Tetrachloroperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic dianhydride (0.50 g, 0.95 mmol) and 1,4-diaza bicyclo[2.2.2]octane (0.26 g, 2.41 mmol) were dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then 20 ml of anhydrous DMF and 4-amino-1-(*tert*-butylpiperidine-1-carboxylate)-piperidine (0.47 g, 2.30 mmol) were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 110°C. A color change of the reaction mixture from orange to very dark red was observed. The reaction was poured over 15 ml of aqueous HCl 1M solution, kept stirring for one hour and, finally, filtered and washed with distilled water. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:CH₃CN, 20:3) and perylene diimide was obtained as an orange solid (0.79 mg, 0.89 mmol, 95%).



***N,N*-bis(*tert*-butylpiperidine-1-carboxylate)-1,6,7,12-tetrachloroperylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR3)** was obtained in 95% yield (0.79 g, 0.89 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.60.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2977 (C-H), 2931 (C-H), 2852 (C-H), 1701 (C=O), 1661 (C=O), 1590, 1420, 1366, 1337, 1275, 1243, 1150, 1005, 951, 908, 749, 684, 547.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.66 (s, 4H), 5.19 (tt, *J* = 11.9 and 3.6 Hz, 2H), 4.48 – 4.13 (m, 4H), 3.01 – 2.81 (m, 4H), 2.73 (qd, *J* = 11.9 and 3.6 Hz, 4H), 1.76 – 1.61 (m, 4H), 1.51 (s, 18H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 162.7 (C), 154.8 (C), 135.5 (C), 133.2 (CH), 131.5 (C), 128.6 (C), 123.6 (C), 123.4 (C), 79.9 (C), 52.6 (CH), 44.2 (CH₂), 43.9 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.6 (CH₃), 28.4 (CH₂).

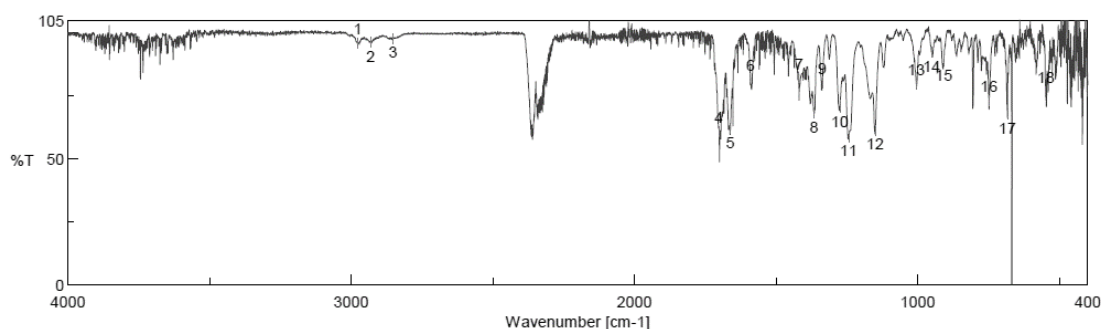
MS (MALDI+, DCTB): *m/z* calc. for C₃₉H₃₃Cl₄N₄O₆ ([M+2H-(COOC(CH₃)₃)]⁺): 793.1149; exp.: 793.1142.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 515 (37900).

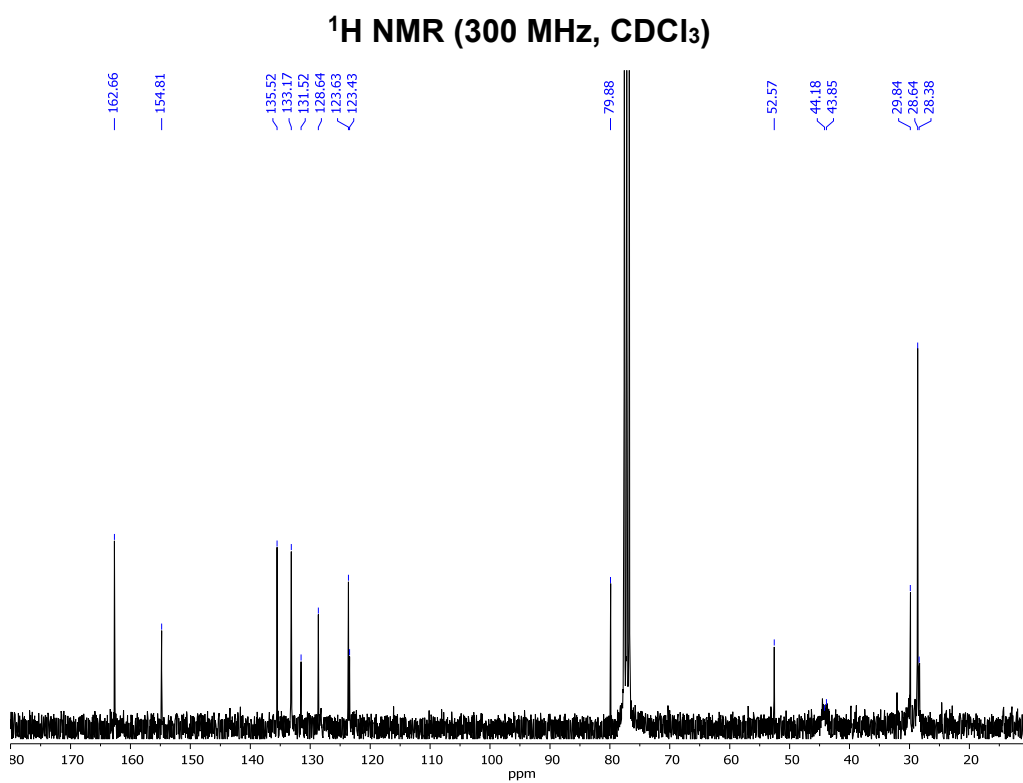
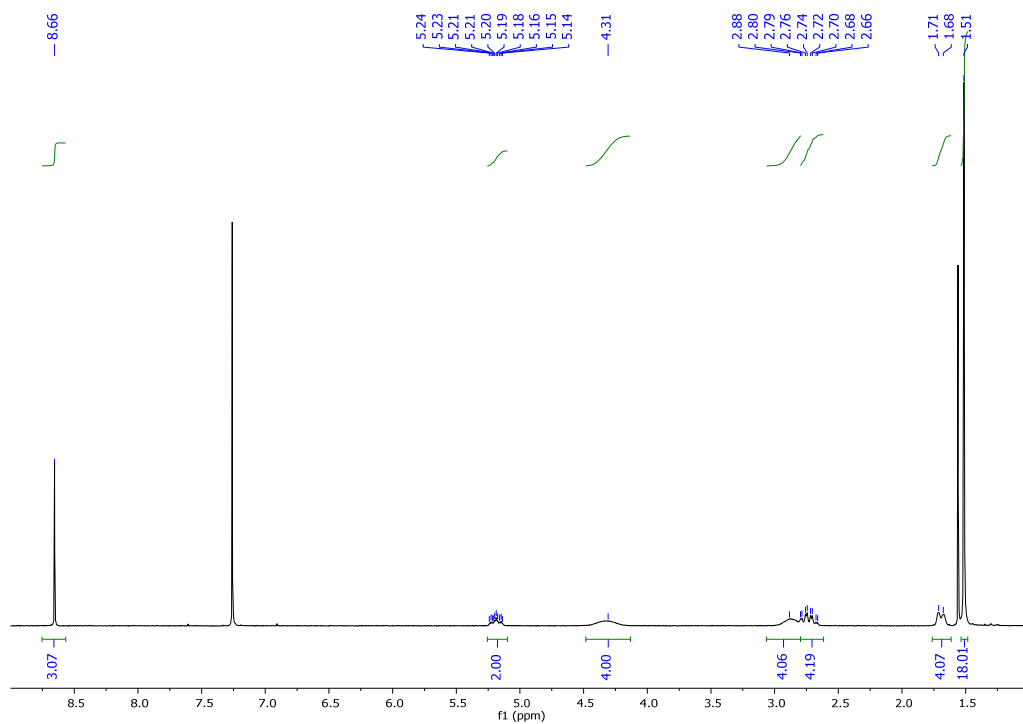
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=366 nm) λ_{max} / nm: 548.

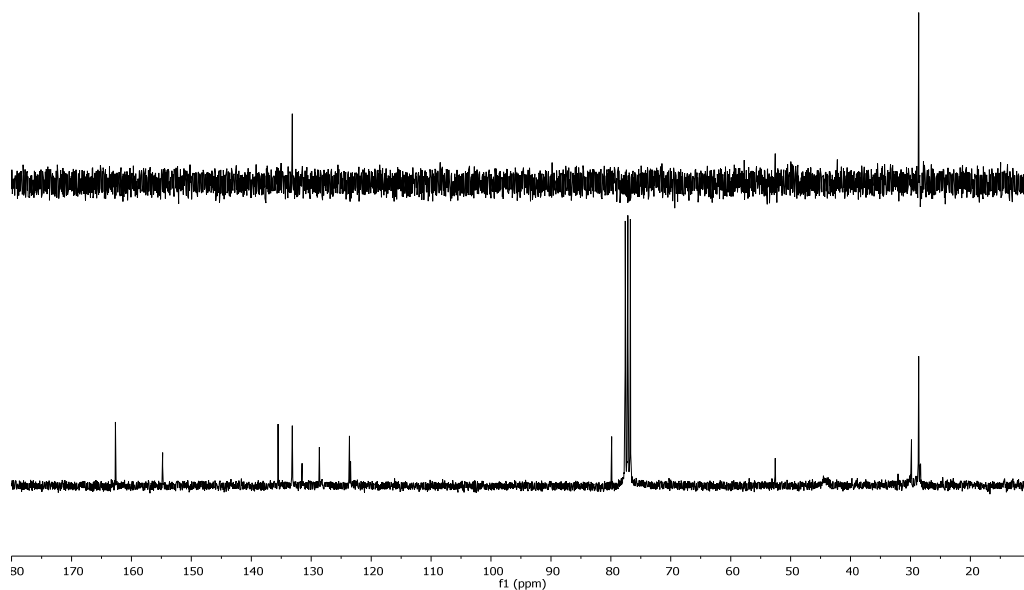
τ / ns (CH₂Cl₂, χ₂): 5.26 (1.06).

Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=420 nm): 0.64 ± 0.01.

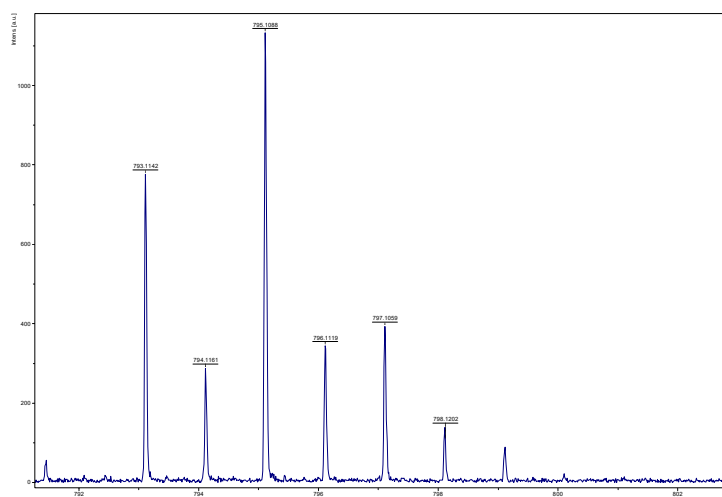


FT-IR (KBr)

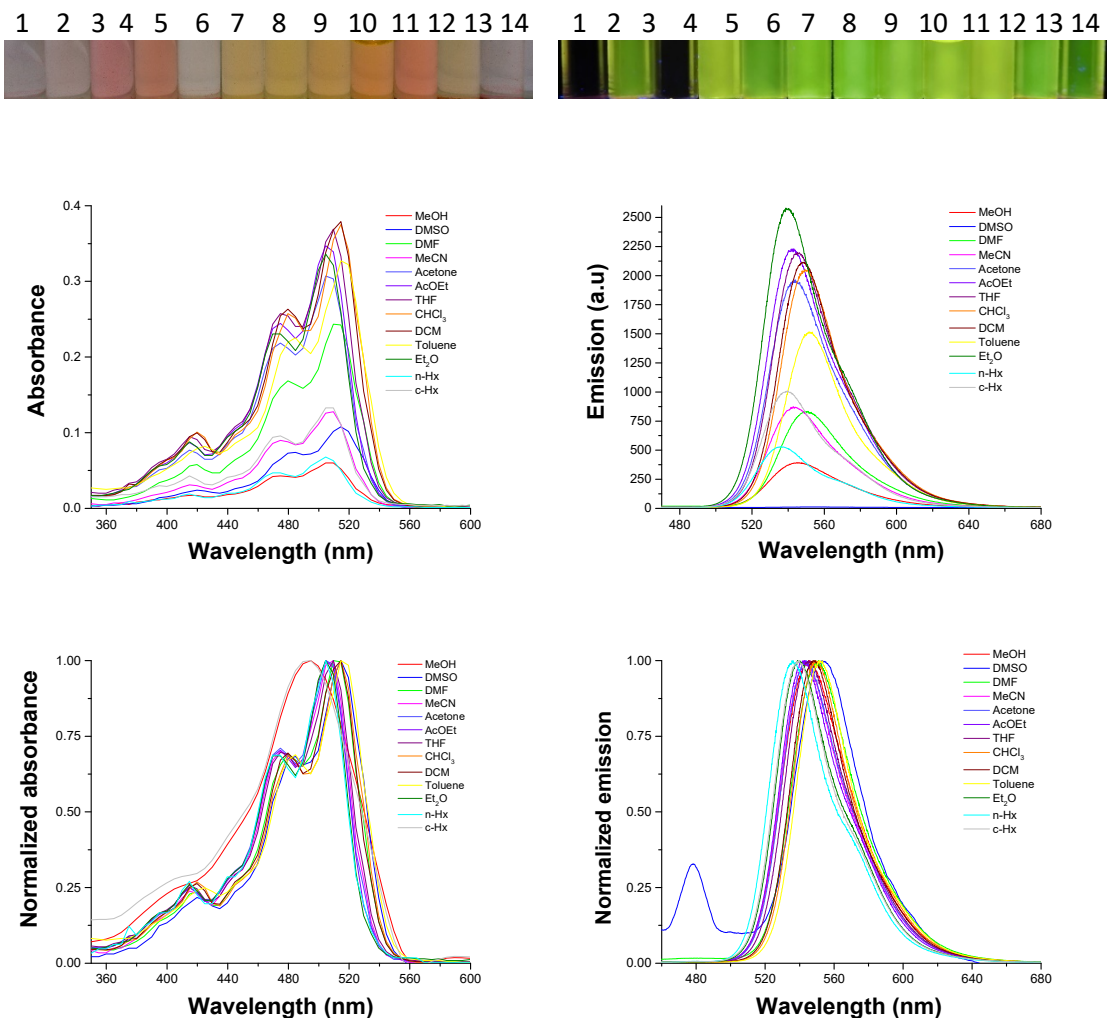




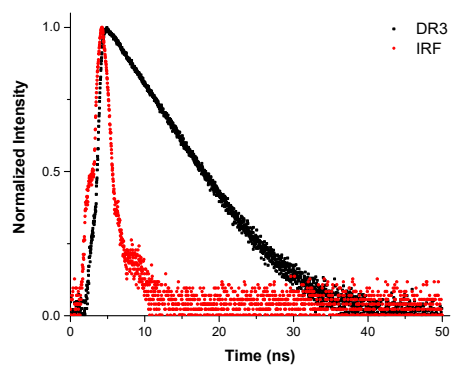
¹³C-DEPT 135 NMR (75 MHz, CDCl₃)



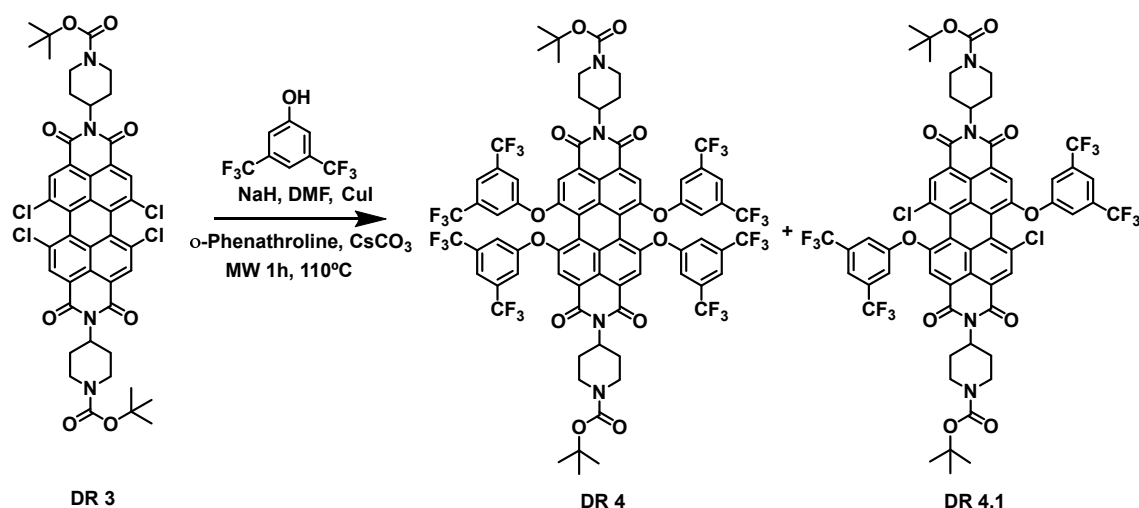
HR-MS (MALDI+, DCTB)



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 366 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 366 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 548 nm.

Introduction of hydrophobic phenol groups in PDIs bay positions.

Synthesis conditions for obtaining the compound with four substituents as main product were optimized. DMF was always employed as solvent.

Entry	Reactives	Equivalents	Time (h)	Temp. (°C)	4b ^{***}	4a ^{***}
1*	NaH:CsCO ₃ :C ₈ H ₄ F ₆ O:CuI:o-phen:4Cl-PDI	5:5:2:0.3:0.6:1	1	110	-	-
2	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:CuI:o-phen: CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1**	110	29%	51%
3	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:CuI: o -phen: CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:3:6:12:1	1	110	-	-
4	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:CuI: o -phen: CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1	180	-	-
5	NaH:C ₈ H ₄ F ₆ O:CuI:4,4'-dimetoxi-2,2'-bipy: CsCO ₃ :4Cl-PDI	1:4.5:0.3:0.6:12:1	1	110	40%	12%

*The reactive addition order was different in this entry.

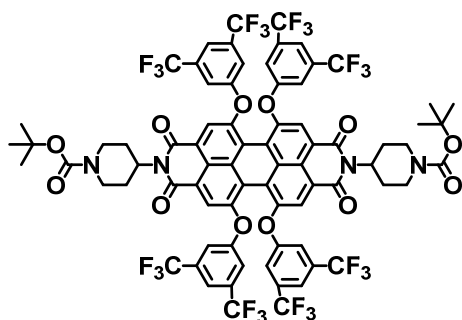
** The reaction was monitored by TLC. No significant changes were found after 2 or 3 hours, but after 4 hours decomposition was observed.

*** Yields after separation of each compound.

Synthesis:

Sodium hydride (4.7 mg, 0.11 mmol), 3,5-bis(trifluoromethyl)phenol (119.5 mg, 0.52 mmol) were dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then, 20 ml of anhydrous DMF were added and it was left to stir for 10 min. Finally, CuI (6.6 mg, 34.6 μmol), *o*-phenanthroline monohydrated (12.5 mg, 0.07 mmol), cesium carbonate (451.1 mg, 1.38 mmol) and *N,N'*-bis(*tert*-butylpiperidine-1-carboxylate)-1,6,7,12-tetrachloroperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR3**) (100.0 mg, 0.11 mmol) were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 110°C. A color change of the reaction mixture from orange to very dark brown was observed. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column

chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:CH₃CN, 5:1) Perylene diimides were obtained as a red solids.



DR 4

***N,N'*-Bis(*tert*-butylpiperidine-1-carboxylate)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR4)** was obtained in 51% yield (98.00 mg, 0.06 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.60.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3069 (C-H), 2979 (C-H), 2933 (C-H), 2857 (C-H), 1706 (C=O), 1668 (C=O), 1595, 1508, 1459, 1414, 1372, 1337, 1299, 1278, 1177, 1131, 1030, 989, 947, 894, 807, 703, 682.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.19 (s, 4H), 7.61 (t, *J* = 1.4 Hz, 4H), 7.30 – 7.28 (m, 8H), 5.14 – 5.02 (m, 2H), 4.39 – 4.15 (m, 4H), 2.89 – 2.71 (m, 4H), 2.70 – 2.55 (m, 4H), 1.69 – 1.60 (m, 4H), 1.45 (s, 18H).

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ: -63.70 (s, 24F).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 162.7 (C), 156.5 (C), 154.7 (C), 154.6 (C), 134.1 (q, *J* = 34.5 Hz, CF₃), 133.1 (C), 126.5 (C), 124.7 (CH), 123.8 (C), 121.5 (C), 121.3 (CH), 121.1 (C), 119.6 (CH), 118.5 (C), 79.9 (C), 52.6 (CH), 44.3 (CH₂), 43.4 (CH₂), 29.9 (CH₂), 28.6 (CH₃), 28.3 (CH₂).

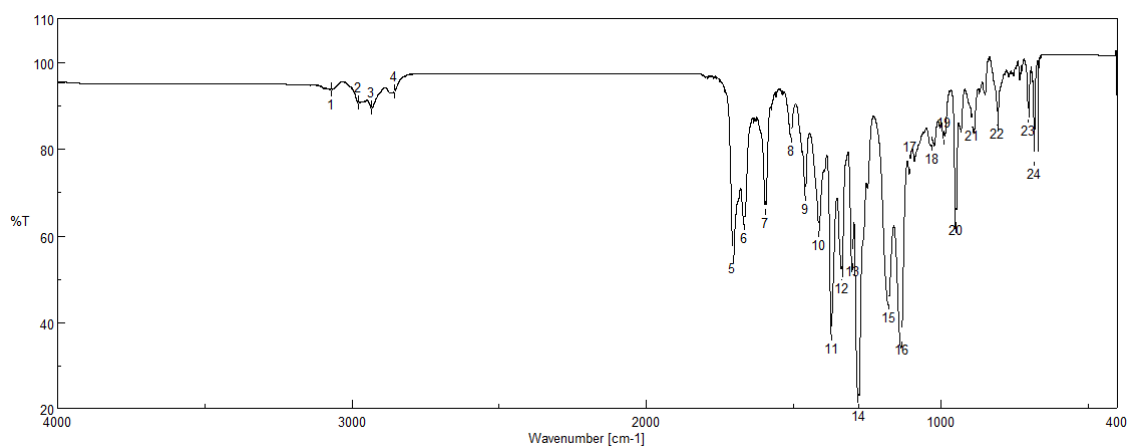
MS (MALDI-, DIT): *m/z* calc. for C₇₆H₅₂F₂₄N₄O₁₂ ([M]⁻): 1668.3193; exp.: 1668.3053.

UV-VIS (CH₂Cl₂, λ_{ex}=420 nm) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 534 (45000).

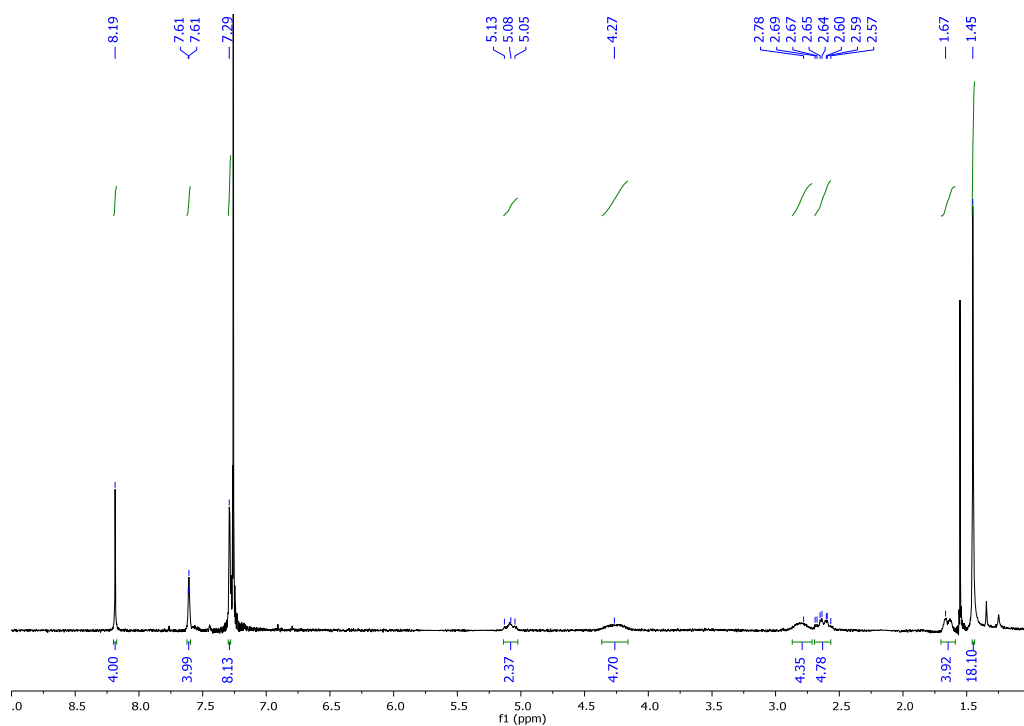
Emission (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm: 577.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ²): 5.49 (1.04).

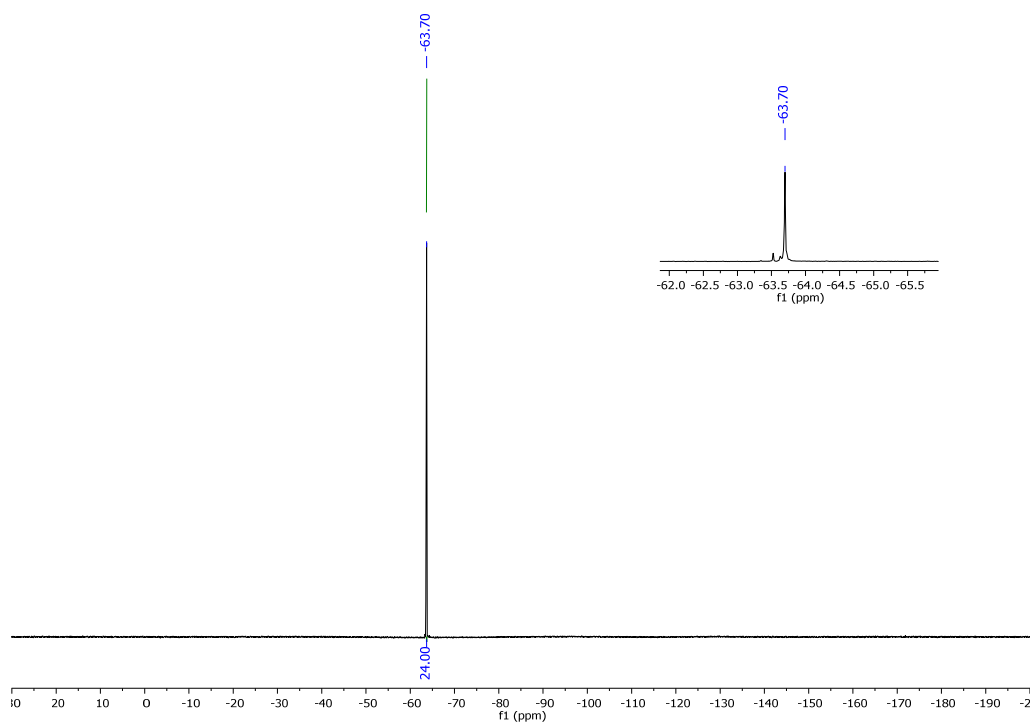
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=420 nm): 0.98 ± 0.01.



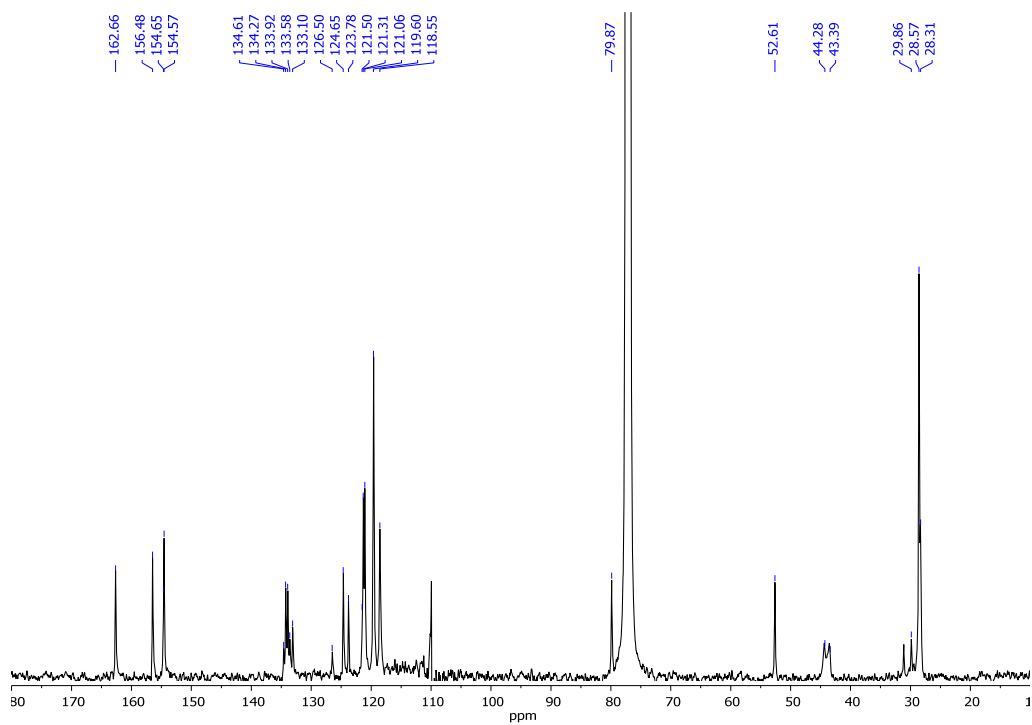
FT-IR (KBr)



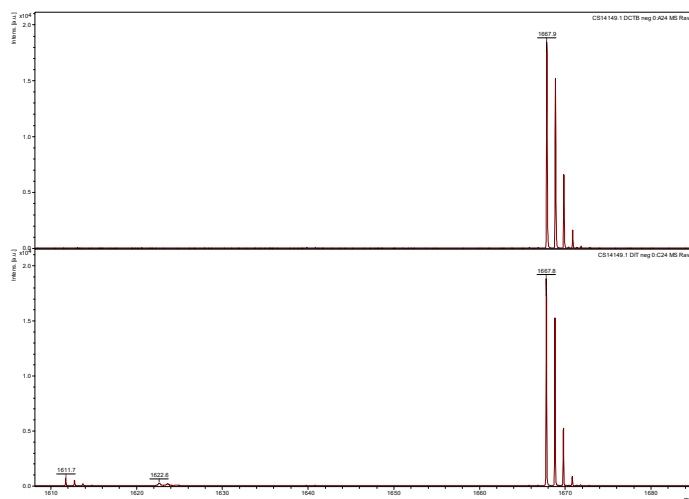
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)



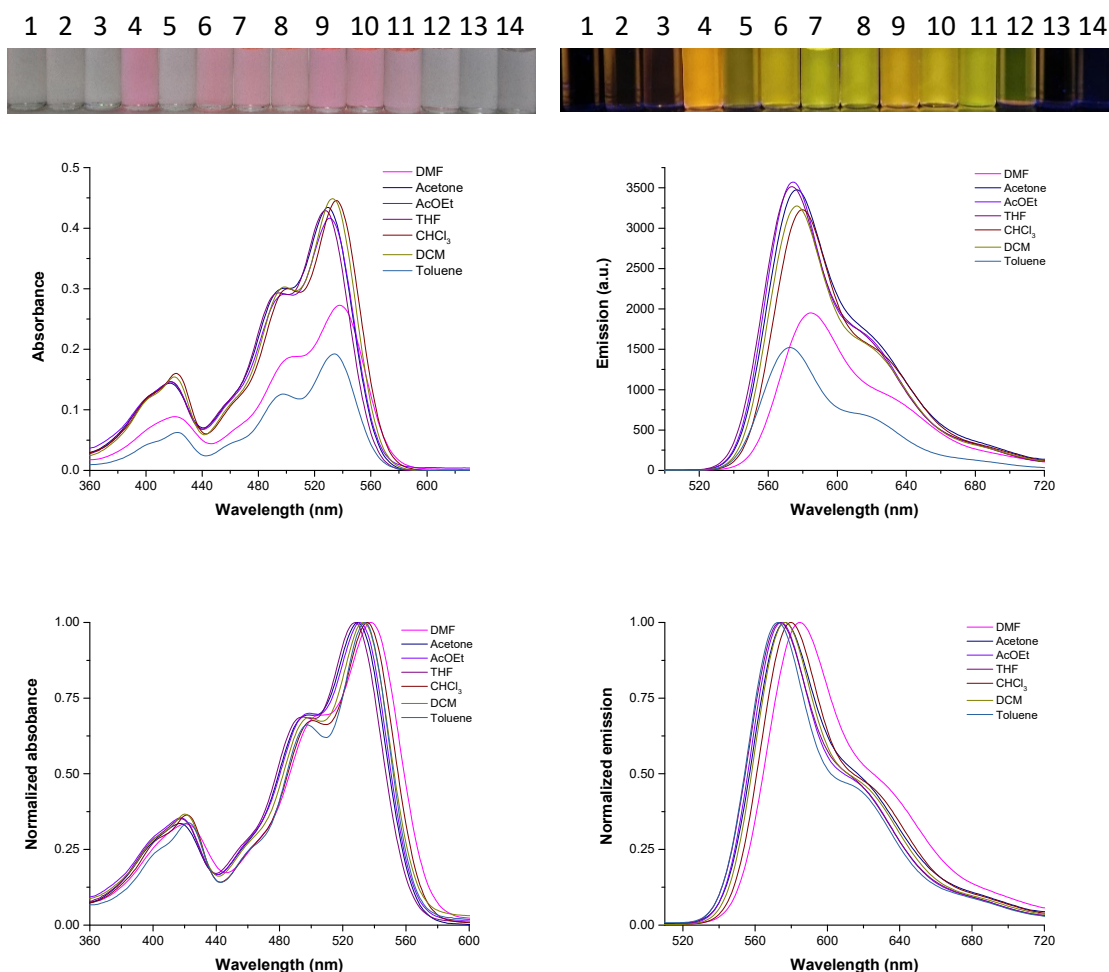
¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)



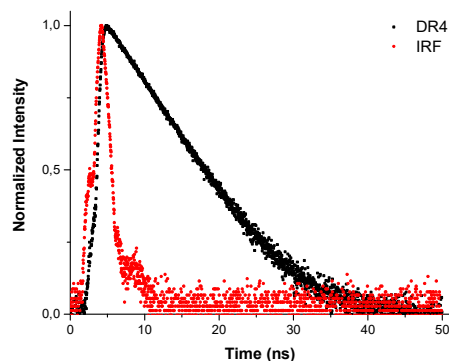
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



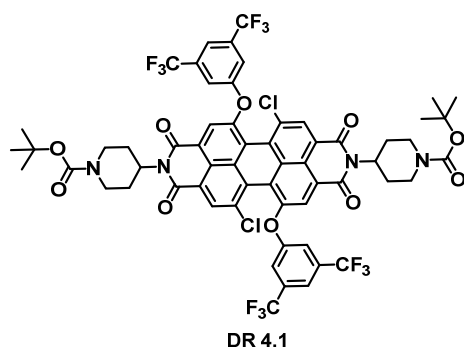
HR-MS (MALDI-, DCTB)



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 420 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 420 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.



***N,N'*-Bis(*tert*-butylpiperidine-1-carboxylate)-1,7-bis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,12-dichloroperylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR4.1)** was obtained in 29% yield (42.9 mg, 0.03 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.40.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3069 (C-H), 2975 (C-H), 2933 (C-H), 2864 (C-H), 1703 (C=O), 1668 (C=O), 1595, 1511, 1462, 1410, 1372, 1334, 1295, 1278, 1180, 1138, 1027, 989, 947, 887, 807, 703, 682.

¹H NMR (300 MHz, CHCl₃) δ: 8.68 (s, 2H), 8.16 (s, 2H), 7.58 (s, 2H), 7.25 (s, 4H), 5.21 – 5.08 (m, 2H), 4.41 – 4.20 (m, 4H), 2.94 – 2.78 (m, 4H), 2.76 – 2.63 (m, 4H), 1.72 – 1.64 (m, 4H), 1.48 (s, 18H).

^{19}F -NMR (282 MHz, CDCl_3) δ : -63.71 (s, 12F).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 162.7 (C), 162.7 (C), 156.5 (C), 154.8 (C), 154.4 (C), 135.8 (C), 134.1 (q, $J = 34.7$ Hz, CF_3), 132.9 (CH), 132.4 (C), 129.7 (C), 126.5 (C), 124.7 (CH), 123.8 (C), 123.7 (C), 122.5 (C), 121.6 (CH), 121.0 (CH), 120.1 (C), 119.6 (CH), 118.6 (C), 118.3 (C), 79.9 (C), 52.6 (CH), 44.5 (CH_2), 43.6 (CH_2), 29.9 (CH_2), 28.6 (CH_3), 28.4 (CH_2).

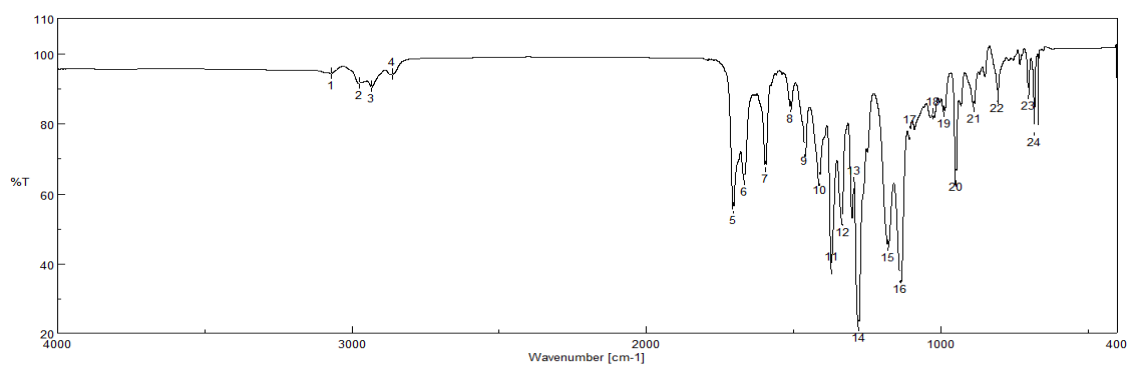
MS (MALDI-, DIT): m/z calc. for $\text{C}_{60}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{F}_{12}\text{N}_4\text{O}_{10}$ ($[\text{M}]^-$): 1280.2394; exp.: 1280.2533.

UV-VIS (CH_2Cl_2) λ_{max} / nm (ϵ / $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 525 (52600).

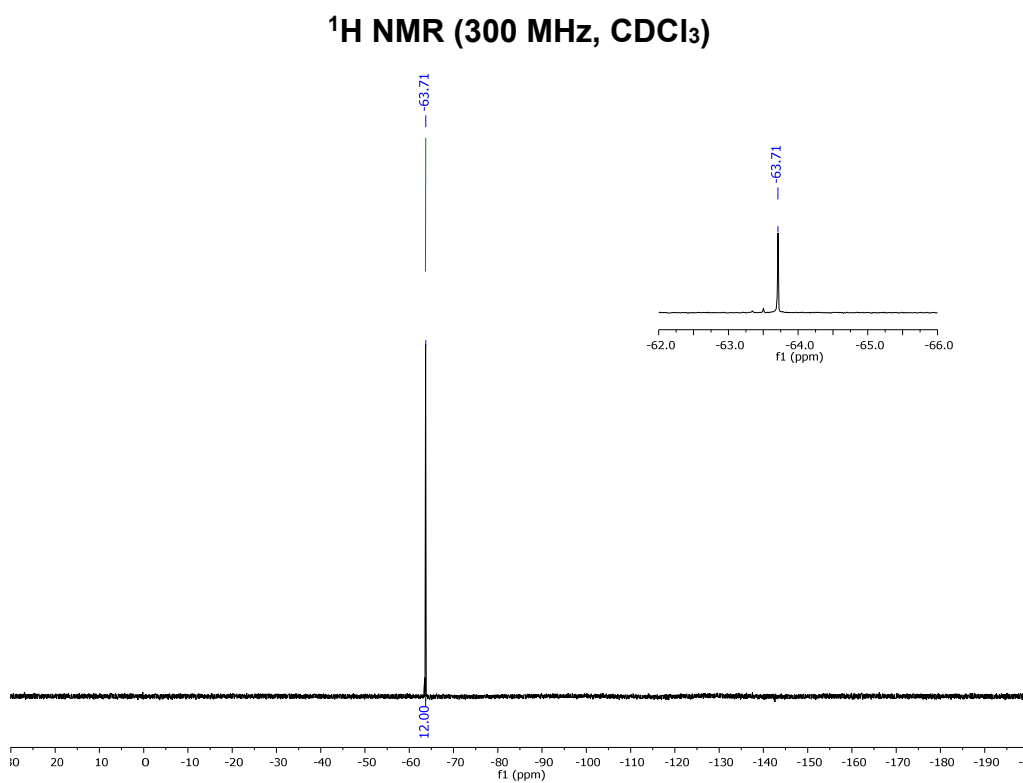
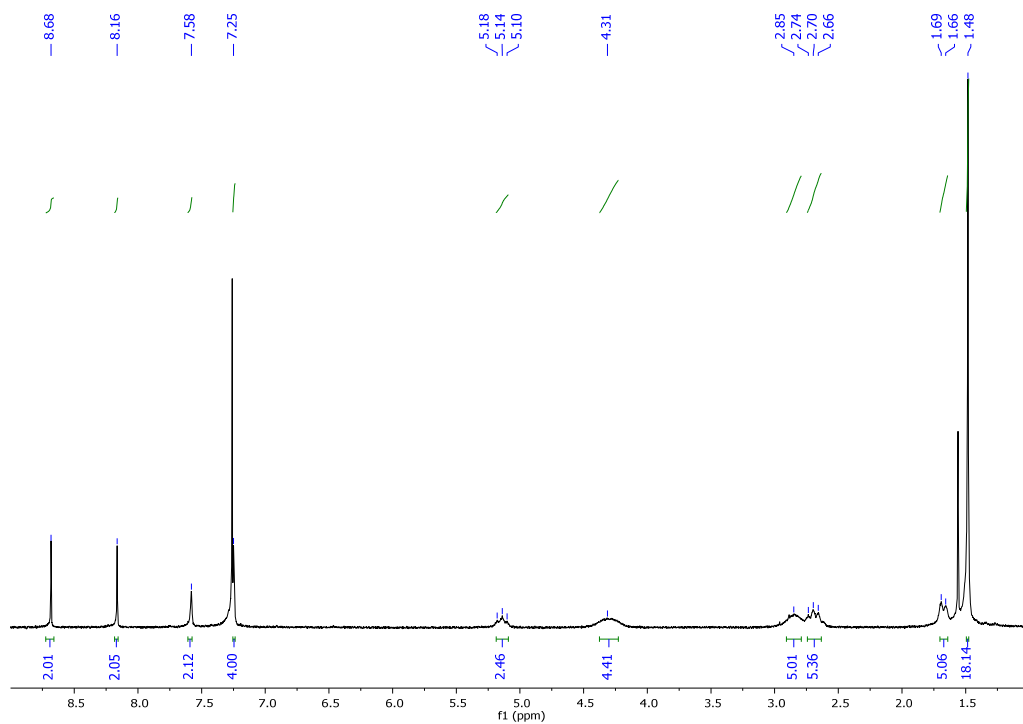
Emission (CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{ex}}=422$ nm) λ_{max} / nm: 569.

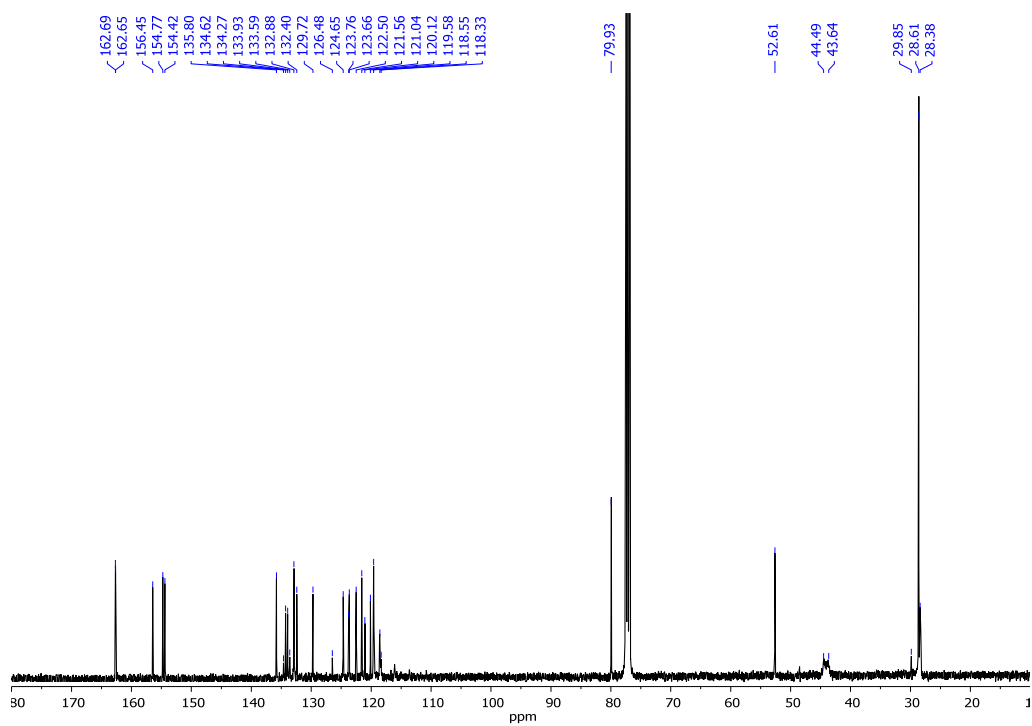
τ / nm (CHCl_3 , χ^2): 5.59 (1.08).

Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=420$ nm): 0.83 ± 0.01 .

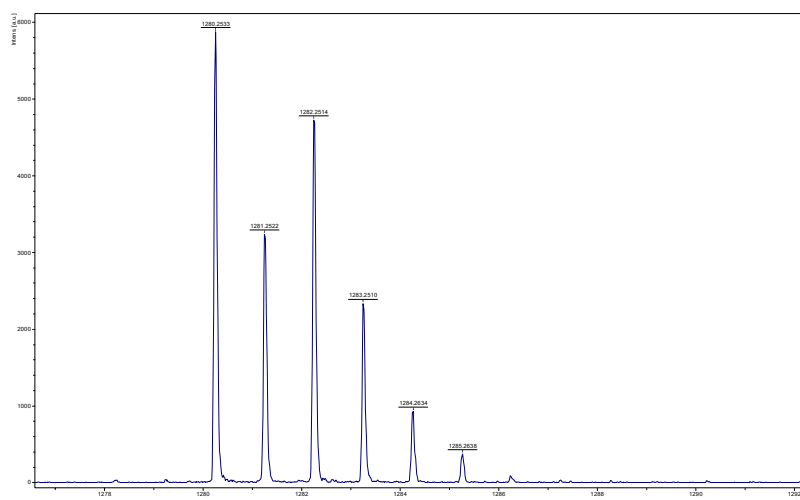


FT-IR (KBr)





^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3)

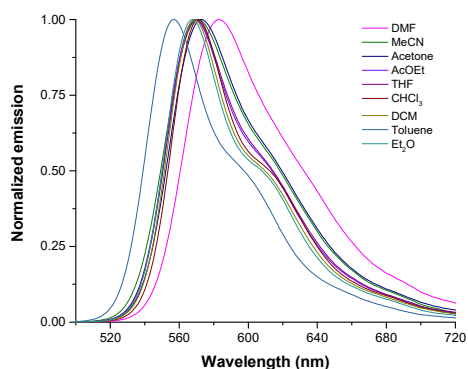
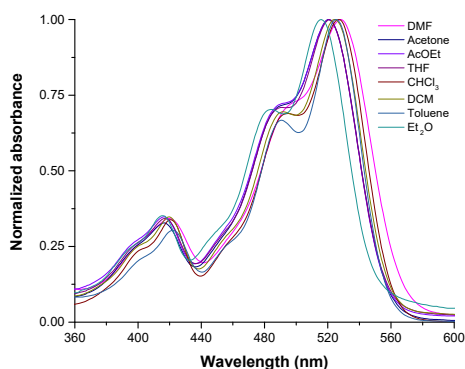
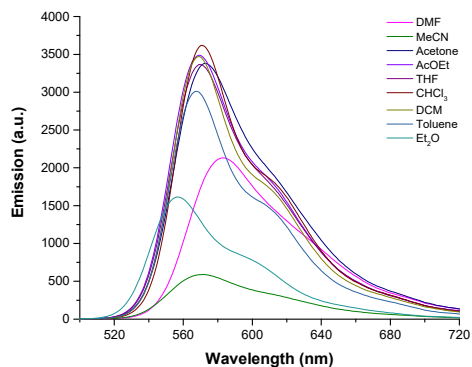
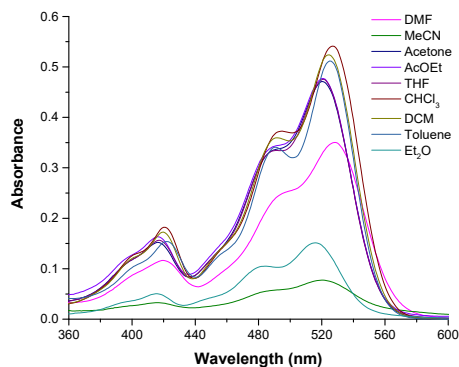
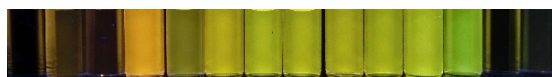


HR-MS (MALDI-, DIT)

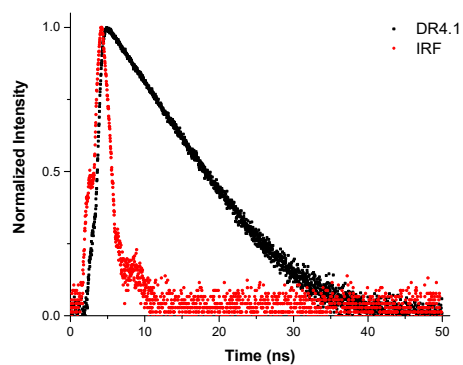
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



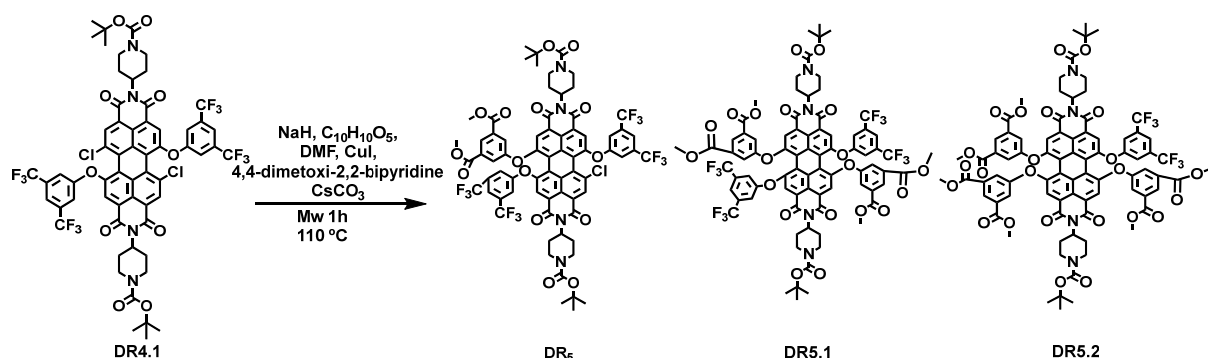
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 422 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 422 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.

Insertion of hydrophilic phenol substituents in bay locations.

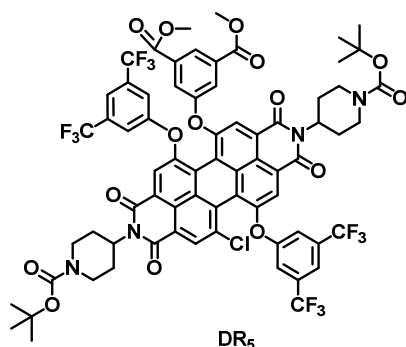
The synthesis conditions were optimized by varying the amount of catalyst.

Catalyst	DR5*	DR5.1*	DR5.2*
4,4-dimethoxy-2,2-bipyridine	38%	16%	27%
1,10-phenantrolin-5-amine	-	-	-
1,10-phenantrolin-5,6-diona	57%	44%	44%

* Yields after separation of each compound.

Synthesis:

Sodium hydride (1.7 mg, 0.07 mmol) and dimethyl-5-hydroxiisophthalate (29.5 mg, 0.14 mmol) were dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then, 20 ml of anhydrous DMF were added and it was left to stir for 10 min. Finally, CuI (4.0 mg, 0.02 mmol), 4,4-dimethoxy-2,2-bipyridine (9.1 mg, 0.04 mmol), cesium carbonate (274.5 mg, 0.84 mmol) and *N,N'*-bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-bis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,12-dichloroperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR4.1**) (90.0 mg, 0.07 mmol) were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 110°C. A color change of the reaction mixture from orange to very dark brown was observed. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:CH₃CN, 5:1). Three different substituted ethers were obtained as a red solids, that exhibit orange emission in solid state.



***N,N'*-Bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-bis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6-(dimethyl-5-oxyisophthalate)-12-chloroperylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR5)** was obtained in 38% yield (8.2 mg, 0.006 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.41.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3066 (C-H), 2954 (C-H), 2926 (C-H), 2853 (C-H), 1731 (C=O), 1703 (C=O), 1661 (C=O), 1591, 1518, 1462, 1428, 1396, 1365, 1323, 1295, 1274, 1250, 1173, 1138, 1002, 933, 804, 758.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.68 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.63 (s, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (s, 2H), 7.26 (s, 3H), 5.21 – 5.06 (m, 2H), 4.37 – 4.20 (m, 4H), 3.90 (s, 6H), 2.92 – 2.77 (m, 4H), 2.76 – 2.59 (m, 4H), 1.72 – 1.61 (m, 4H), 1.48 (s, 9H), 1.48 (s, 9H).

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ: -63.63 (s, 12F).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 164.8 (C), 162.8 (C), 156.6 (C), 155.4 (C), 155.3 (C), 154.7 (C), 154.5 (C), 135.6 (CH), 133.0 (CH), 132.8 (q, *J* = 34.6 Hz, CF₃), 128.3 (C), 125.5 (C), 124.5 (CH), 124.3 (C), 123.2 (C), 122.5 (C), 121.3 (C), 120.7 (CH), 119.5 (CH), 118.1 (CH), 79.8 (C), 52.8 (CH₃), 52.6 (CH), 44.6 (CH₂), 43.7 (CH₂), 29.9 (CH₂), 28.6 (CH₃), 28.4 (CH₂).

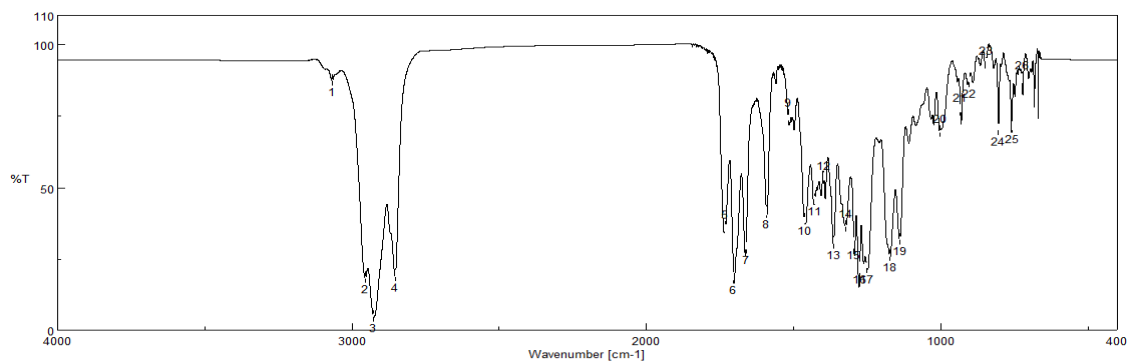
MS (MALDI-, DCTB) *m/z*: calc. for C₇₀H₅₅ClF₁₂N₄O₁₅ ([M]): 1454.3165; exp.: 1454.3166.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 531 (56100).

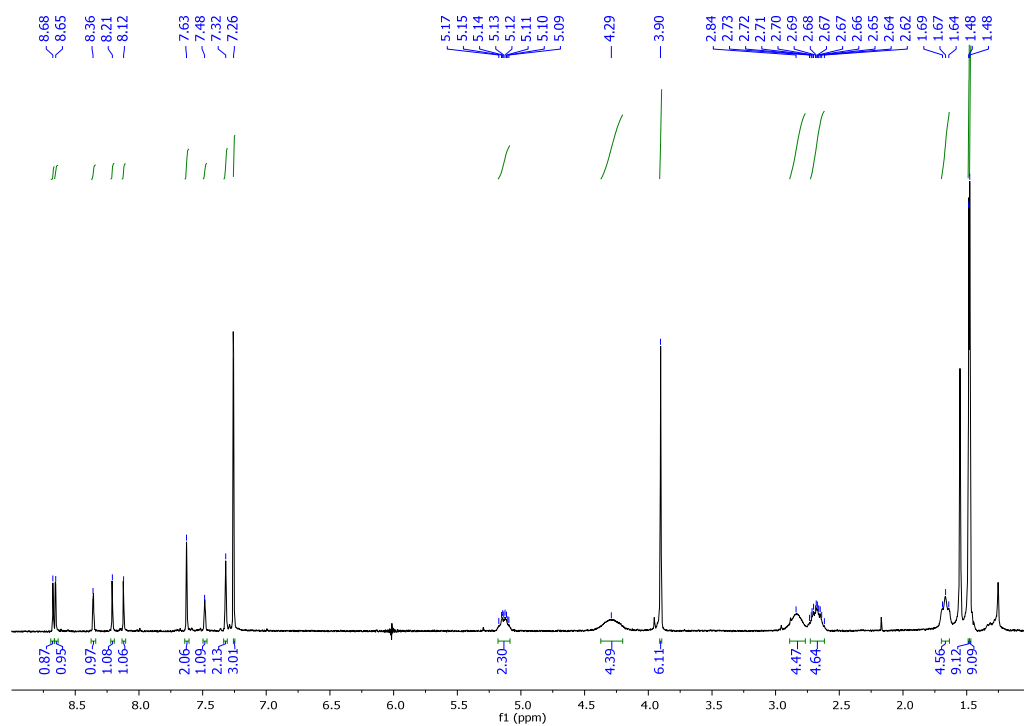
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=423 nm) λ_{max} / nm: 578.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ²): 6.00 (1.03).

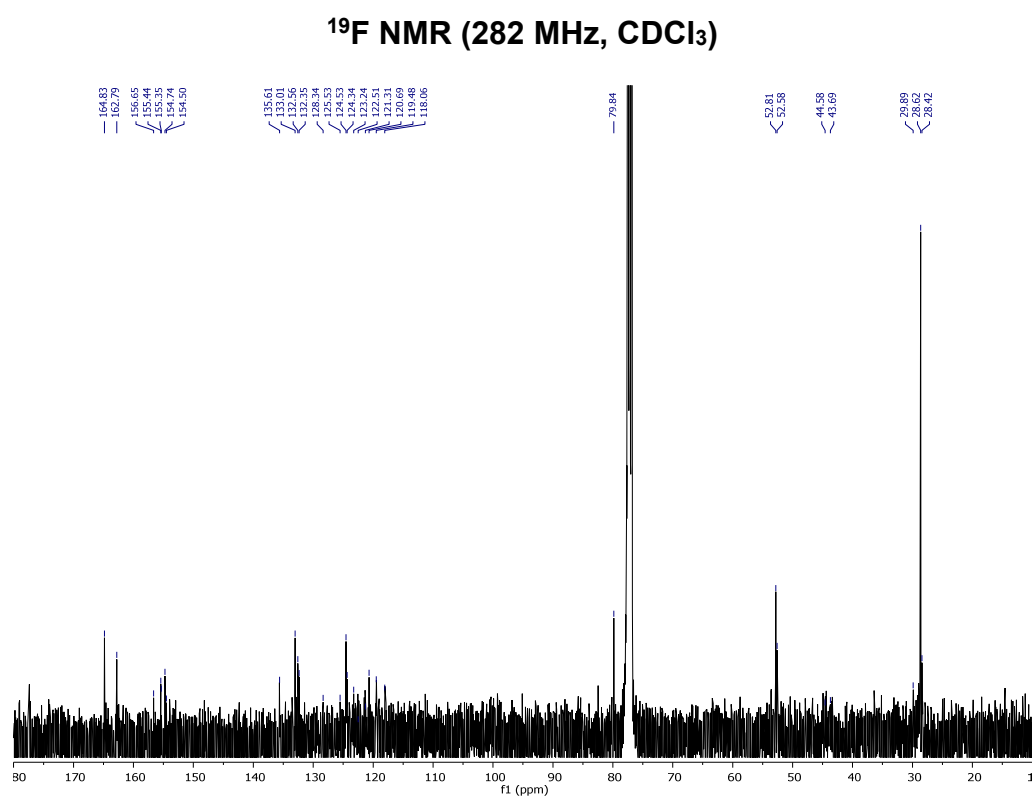
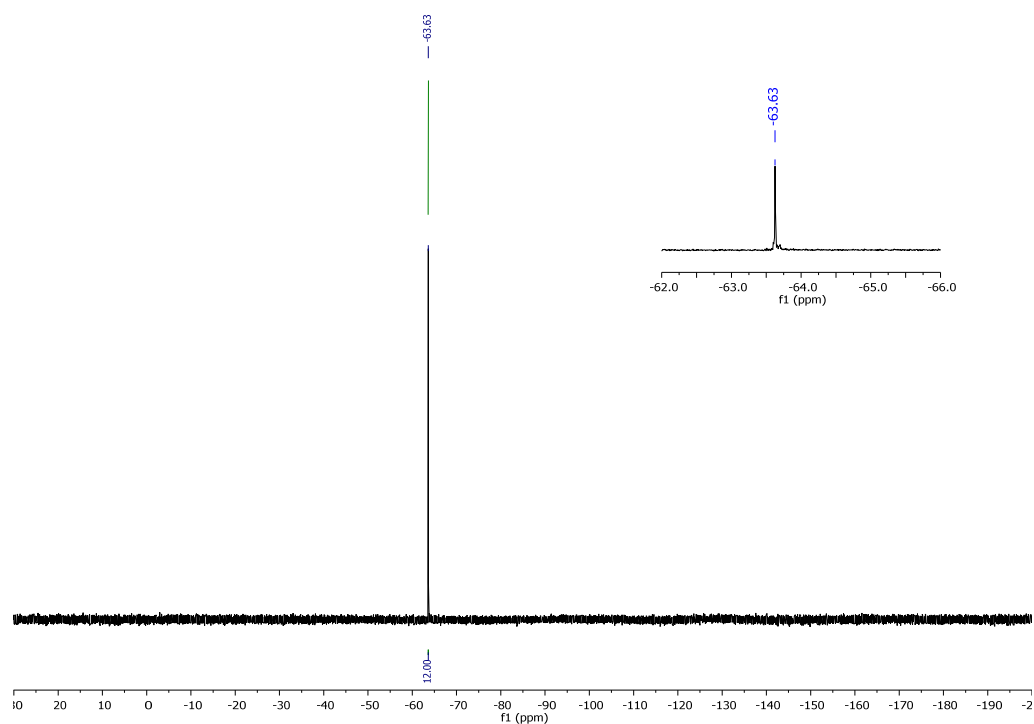
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=423 nm): 0.92 ± 0.01.

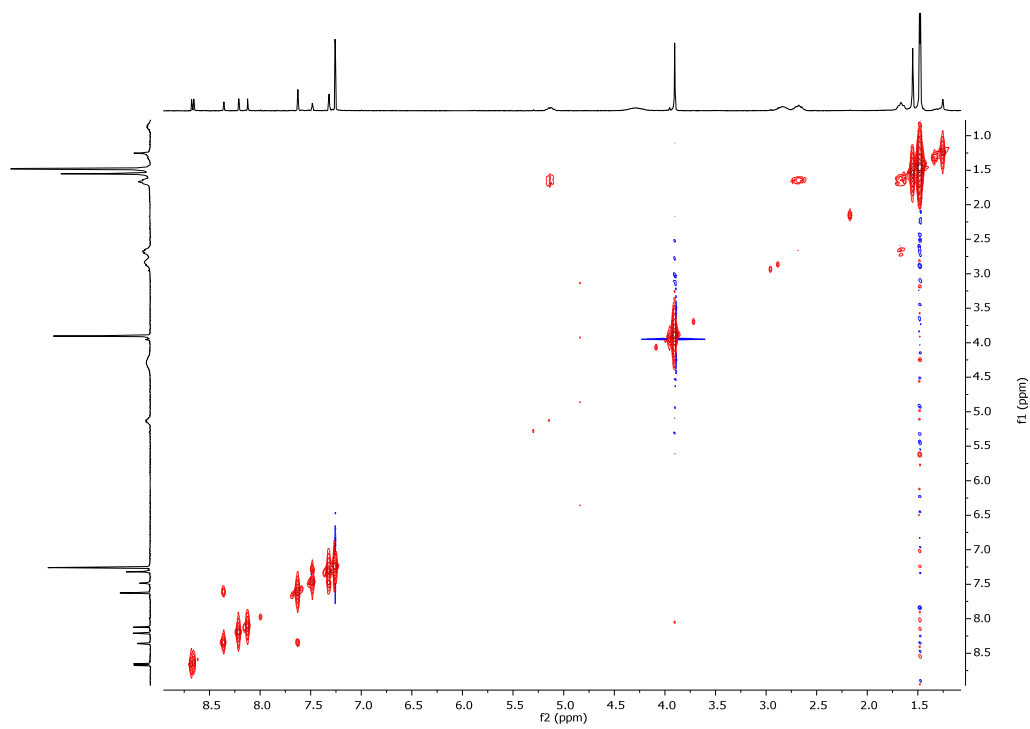


FT-IR (KBr)

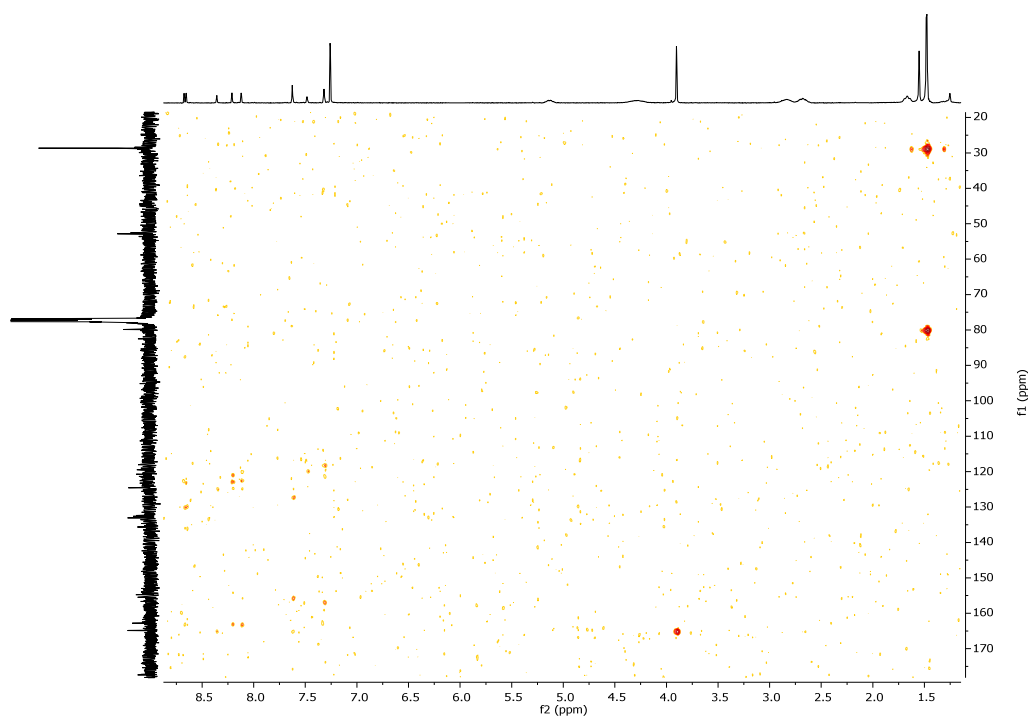


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

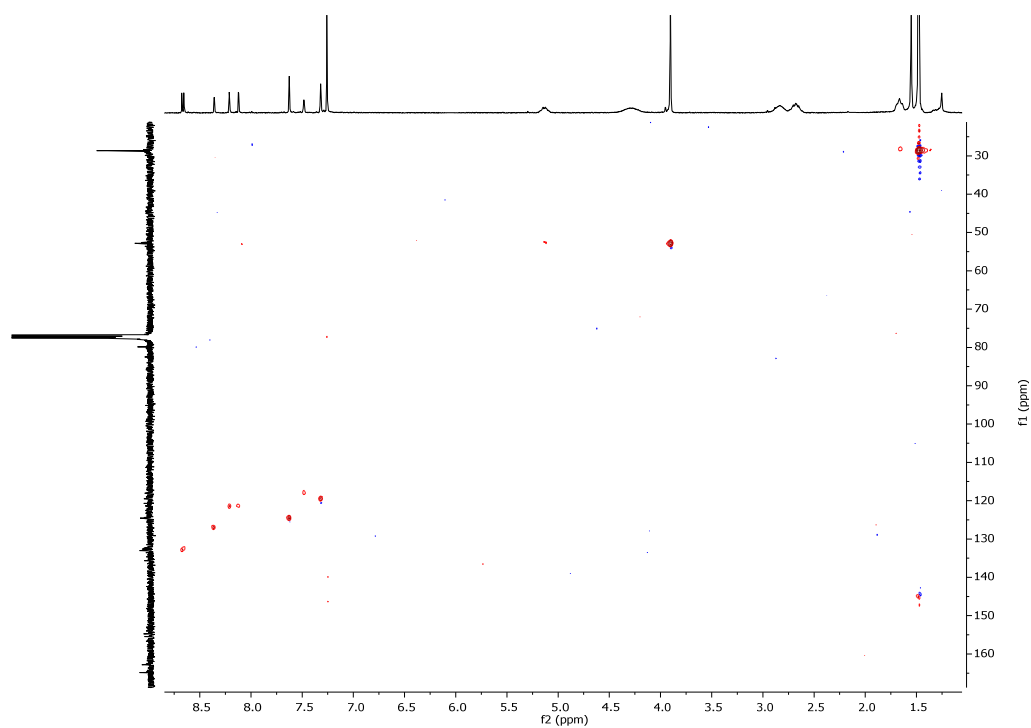




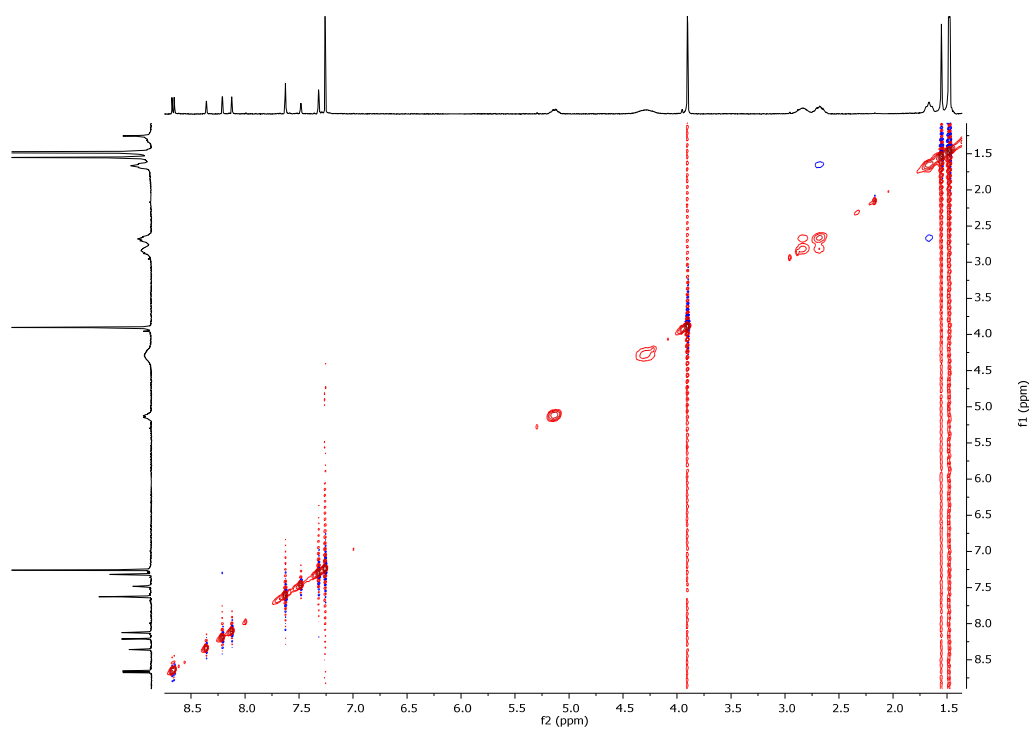
^1H - ^1H -COSY NMR (400MHz, CDCl_3)



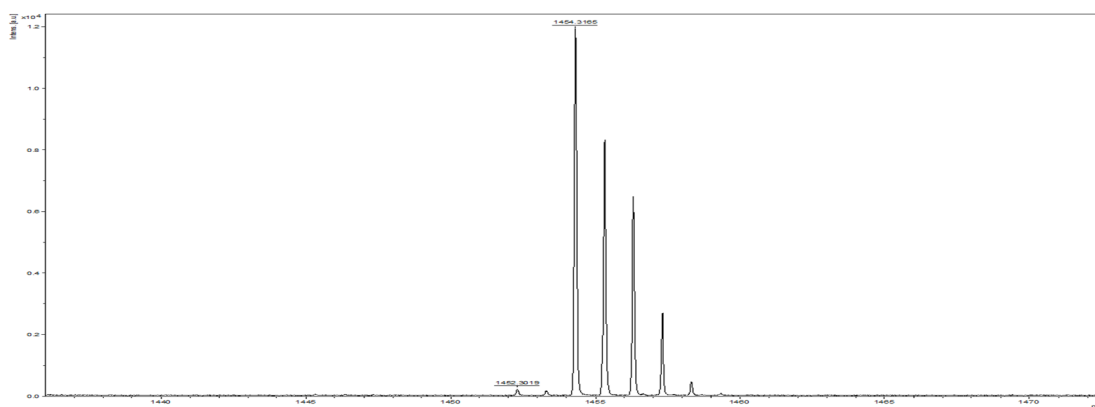
^1H - ^{13}C -HMBC NMR (400MHz, CDCl_3)



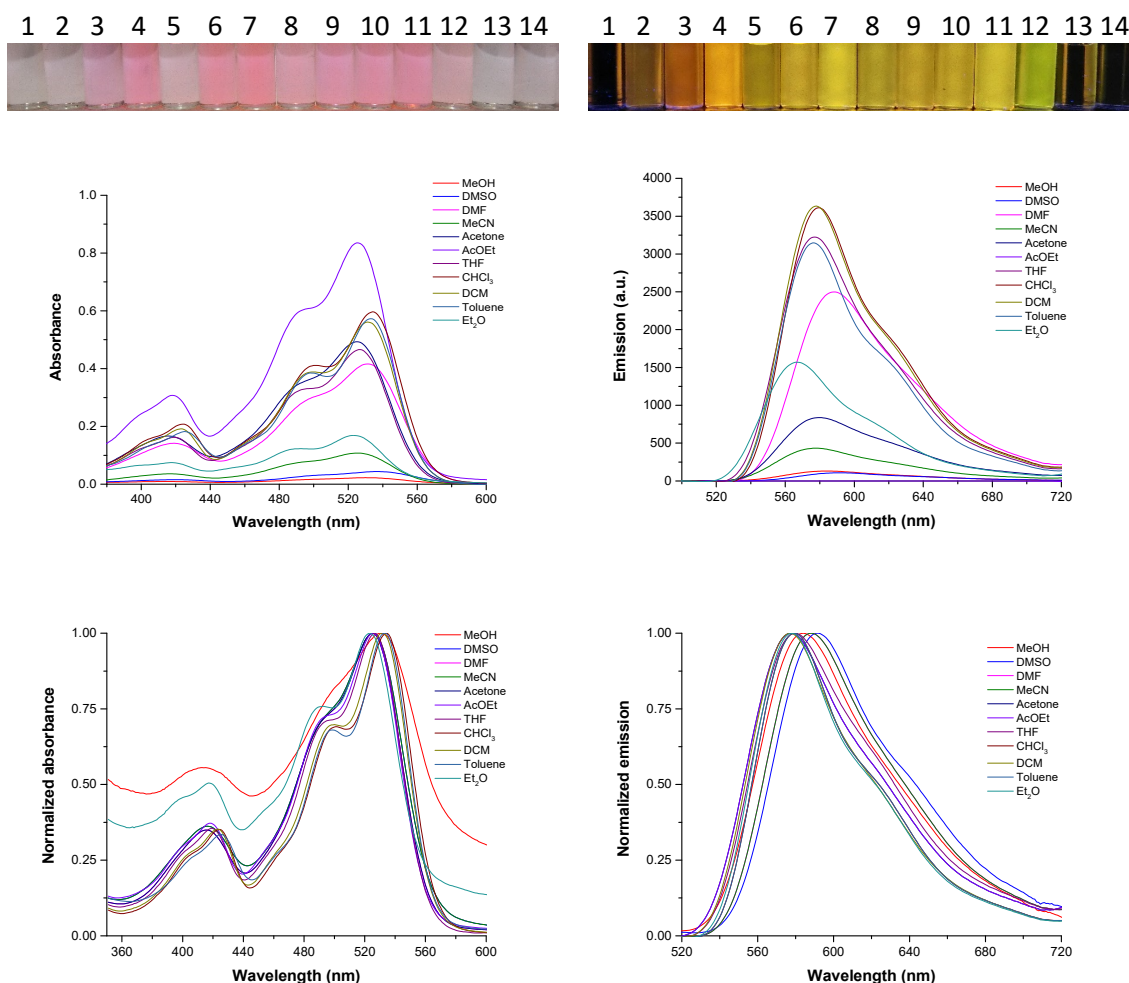
^1H - ^{13}C -HMQC NMR (400MHz, CDCl_3)



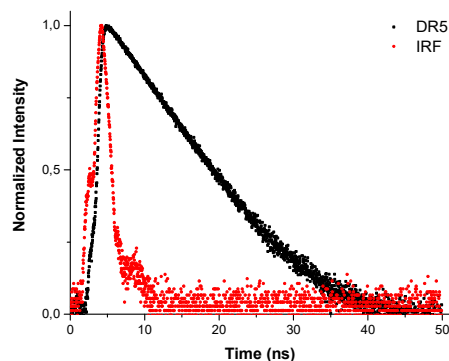
^1H - ^1H -NOESY NMR (400MHz, CDCl_3)



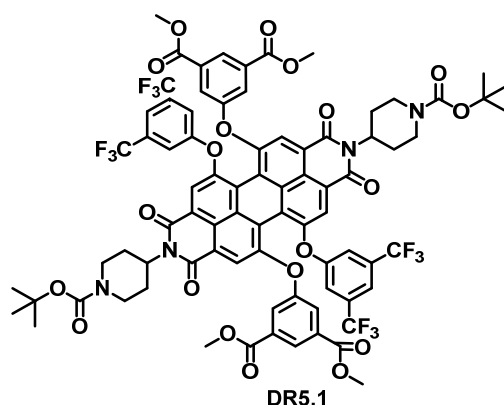
HR-MS (MALDI-, DCTB)



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 423 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 423 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.



***N,N'*-Bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-bis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,12-bis(dimethyl-5-oxoisophthalate)perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR5.1)** was obtained in 16% (3.9 mg, 0.006 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.37.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2954 (C-H), 2926 (C-H), 2853 (C-H), 1731 (C=O), 1703 (C=O), 1664 (C=O), 1591, 151, 1459, 1428, 1407, 1365, 1320, 1278, 1246, 1177, 1135, 1107, 1027, 999, 936, 804, 755.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.65 (s, 2H), 8.32 (s, 2H), 8.16 (s, 2H), 7.69 (s, 2H), 7.64 (s, 4H), 7.26 (s, 4H), 5.18 – 5.03 (m, 2H), 4.35 – 4.18 (m, 4H), 3.87 (s,

12H), 2.89 – 2.76 (m, 4H), 2.73 – 2.61 (m, 4H), 1.70 – 1.65 (m, 4H), 1.47 (s, 18H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 165.3, 163.1, 158.9, 158.7, 157.5, 156.6, 152.1, 136.5, 125.1, 124.4, 122.5, 120.7, 119.7, 119.5, 97.5, 97.2, 95.7, 79.8, 66.9, 52.8, 52.8, 52.5, 38.9, 34.2, 32.2, 31.9, 29.9, 29.5, 29.1, 28.6, 24.6, 25.0, 23.1, 22.9, 14.2.

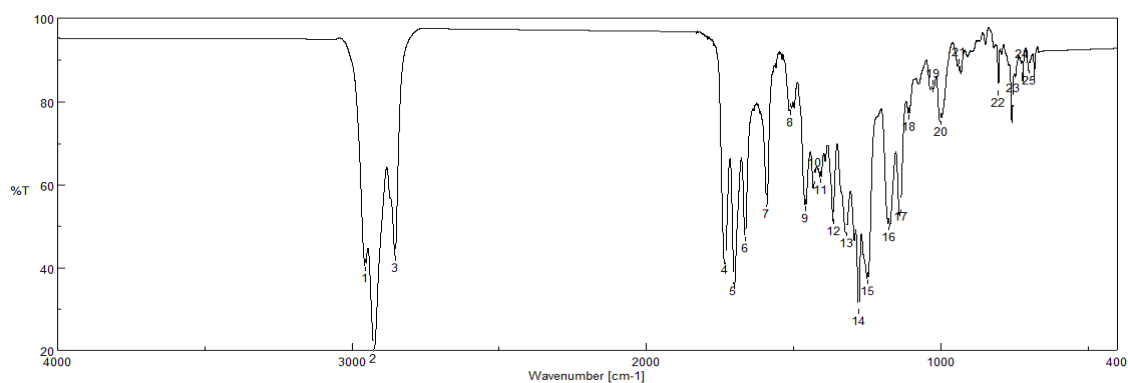
MS (MALDI-, DCTB) m/z : calc. for $\text{C}_{80}\text{H}_{64}\text{F}_{12}\text{N}_4\text{O}_{20}$ ($[\text{M}]^-$): 1628.3928; exp.: 1628.3965.

UV-VIS (CH_2Cl_2) λ_{max} / nm (ϵ / $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 536 (30100).

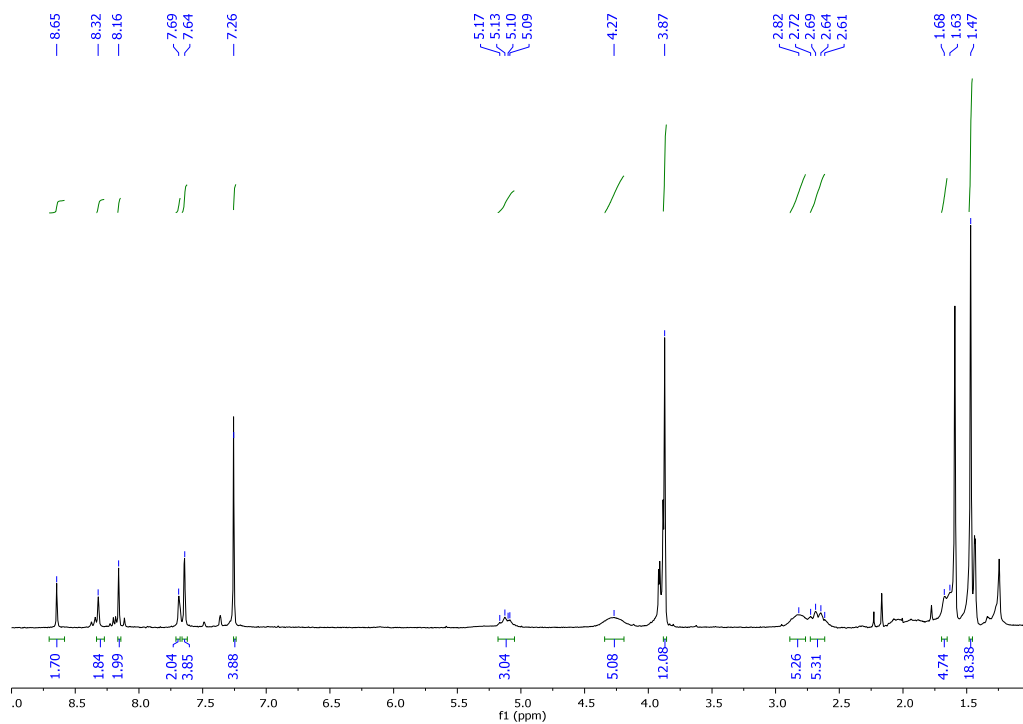
Emission (CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{ex}}=423$ nm) λ_{max} / nm: 583.

τ / ns (CHCl_3 , χ_2): 5.88 (1.08).

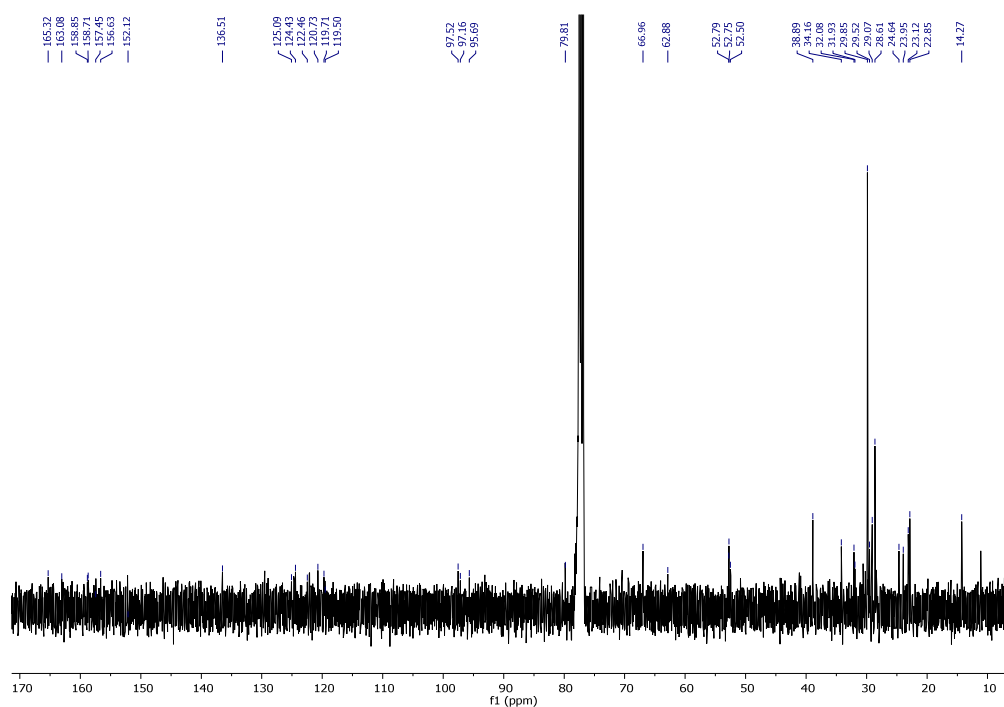
Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=423$ nm): 0.87 ± 0.01 .



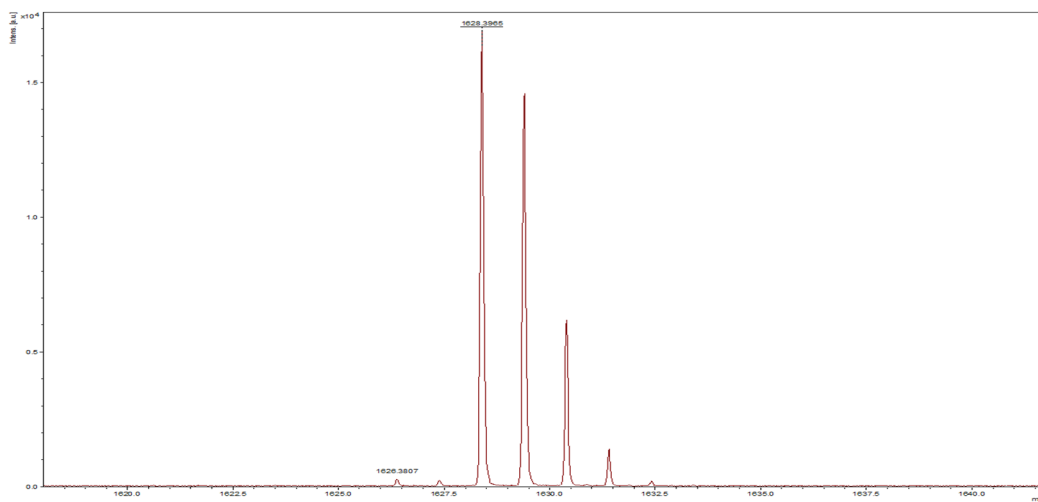
FT-IR (KBr)



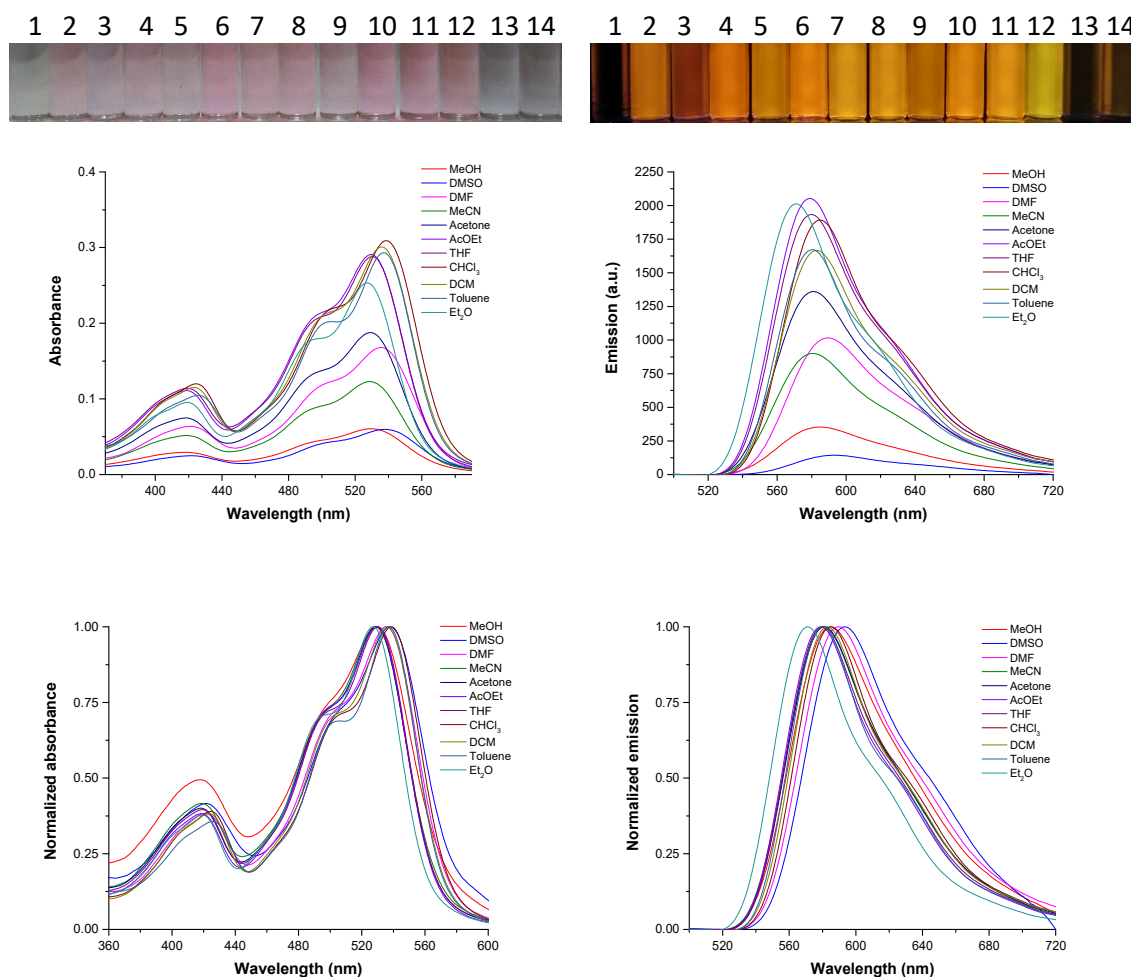
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



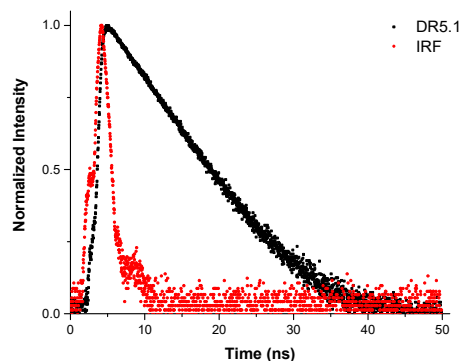
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



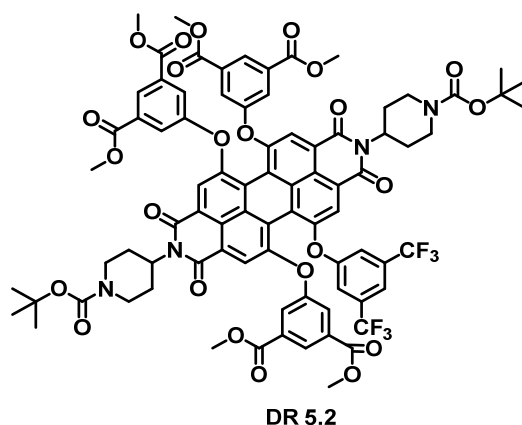
HR-MS (MALDI-, DCTB)



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 423 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 423 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 582 nm.



DR 5.2

***N,N'*-Bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,7,12-tris(dimethyl-5-oxyisophthalate)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR5.2)** was obtained in 27% (6.4 mg, 0.004 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.33.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2954 (C-H), 2926 (C-H), 2853 (C-H), 1734 (C=O), 1696 (C=O), 1661 (C=O), 1588, 1504, 1459, 1431, 1365, 1316, 1292, 1278, 1274, 1246, 1170, 1135, 1107, 1034, 1002, 943, 755.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.65 (s, 2H, Ar-H), 8.35–8.32 (m, 3H, Ar-H), 8.17 (s, 3H, Ar-H), 7.70–7.68 (m, 3H, Ar-H), 7.65 (s, 1H, Ar-H), 7.65 (s, 2H Ar-H),

7.37 (s, 2H, Ar-H), 5.16–5.11 (m, 2H, N-CH), 4.30 (s, 4H, CH₂), 3.88 (s, 18H, CH₃), 2.83 (s, 4H, CH₂), 2.73–2.66 (m, 4H, CH₂), 1.68–1.66 (m, 4H, CH₂), 1.55 (s, 18H, CH₃).

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ: -63.60 (s, 6F).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 164.9, 163.0, 163.0, 162.0, 160.7, 160.5, 160.4, 160.2, 159.9, 159.4, 132.8, 132.4, 129.8, 126.7, 124.4, 121.7, 120.2, 120.1, 57.4, 57.3, 52.7, 52.5, 28.6.

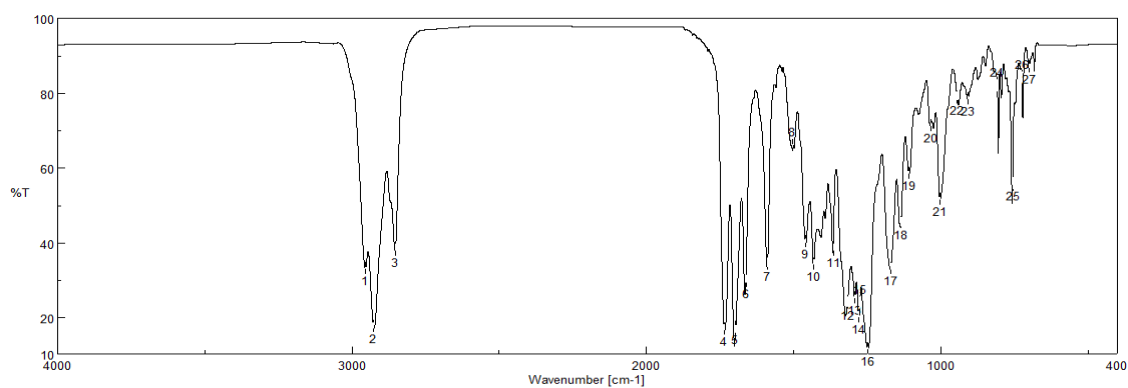
MS (MALDI-, DCTB) m/z: calc. for C₈₂H₇₀F₆N₄O₂₄ ([M]⁻): 1608.4279; exp.: 1608.3923.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 538 (33600).

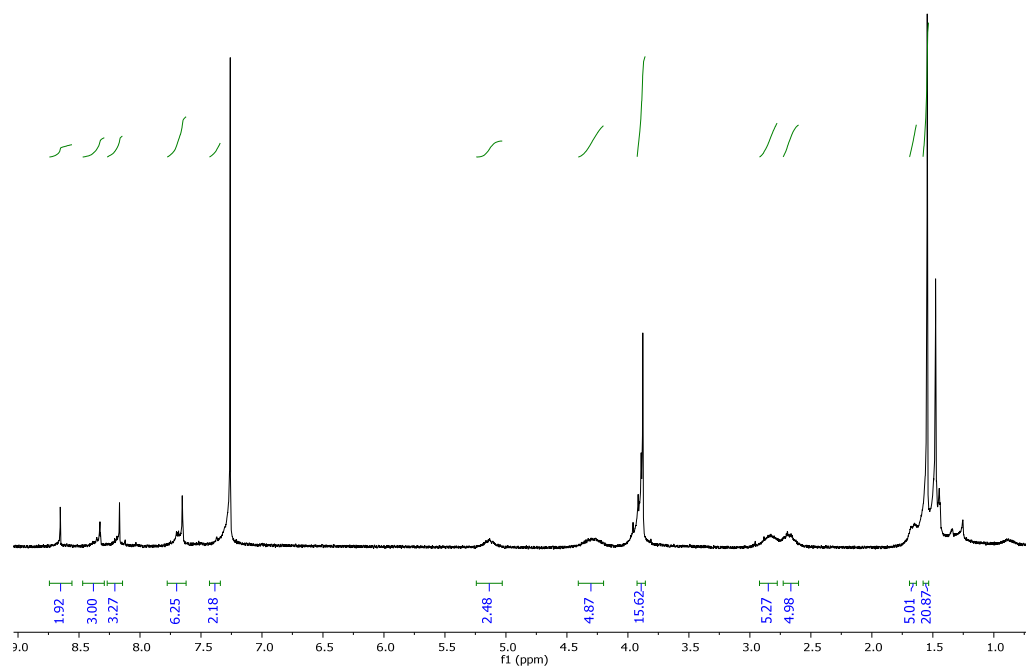
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=423 nm) λ_{max} / nm: 583.

τ / nm (CHCl₃, χ₂): 6.07 (0.98).

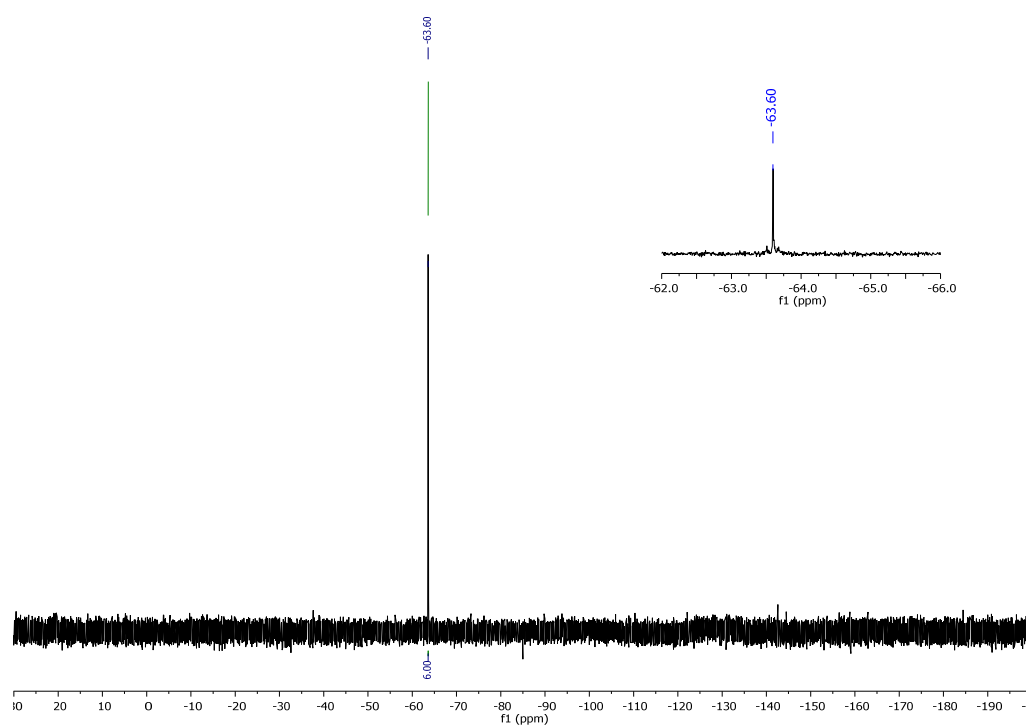
Φ (CHCl₃, λ_{ex}=425 nm): 0.95 ± 0.01.



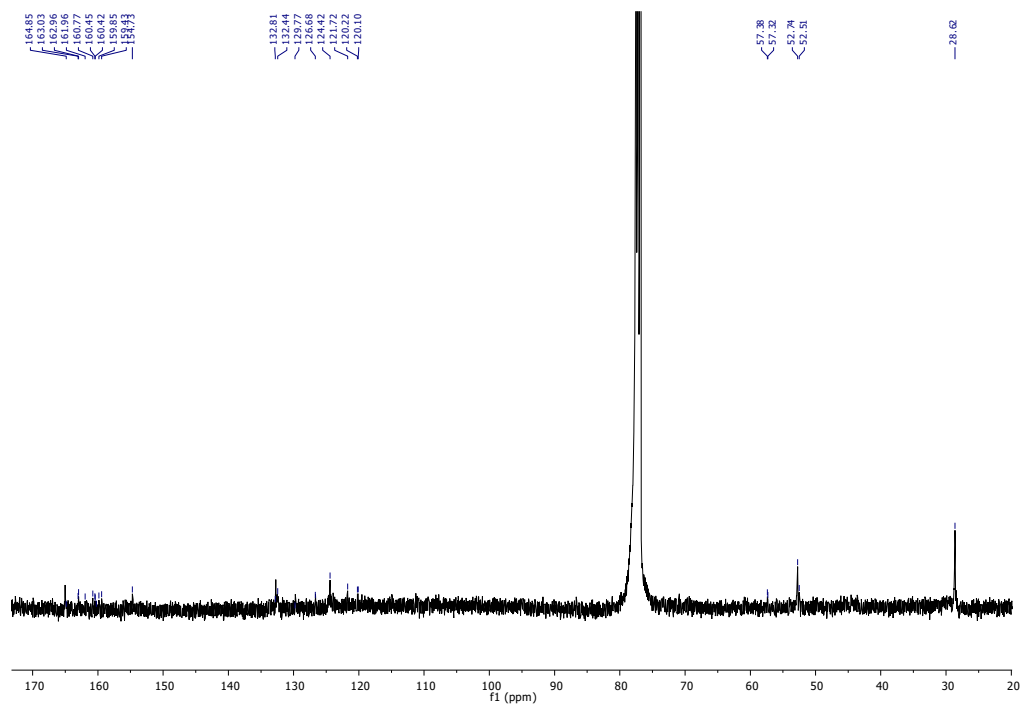
FT-IR (KBr)



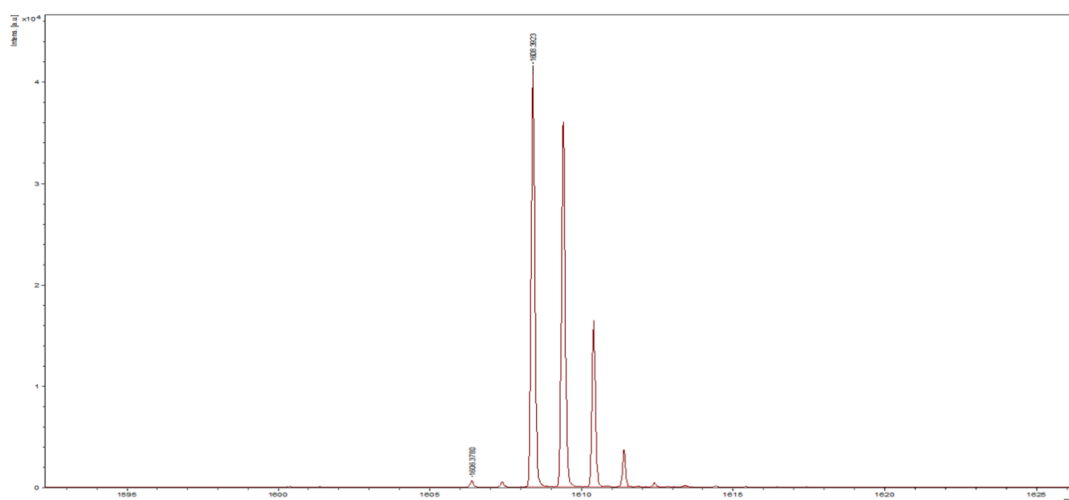
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)



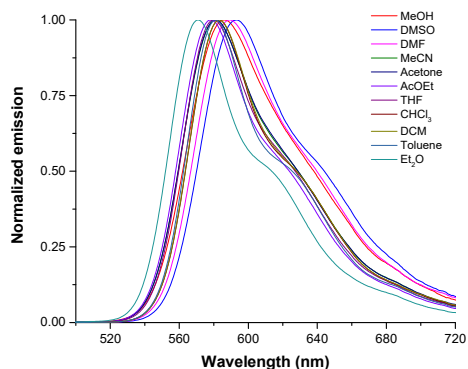
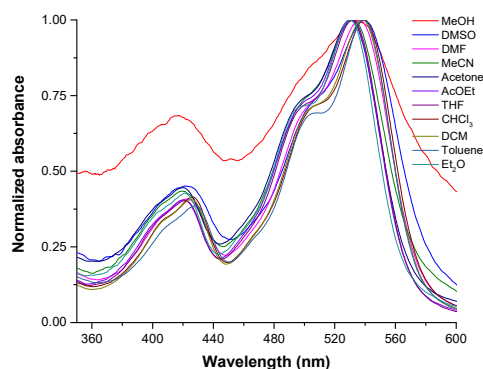
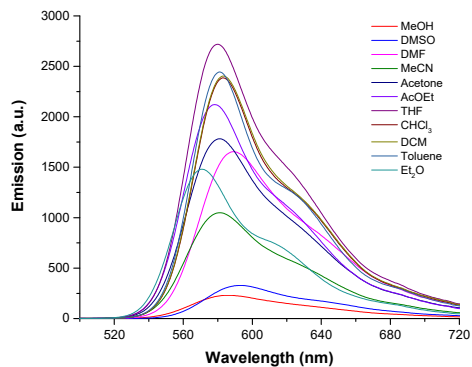
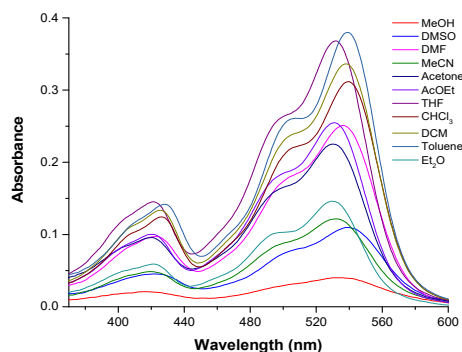
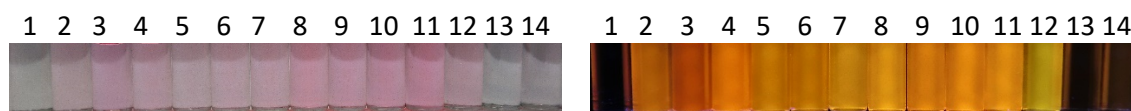
¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)



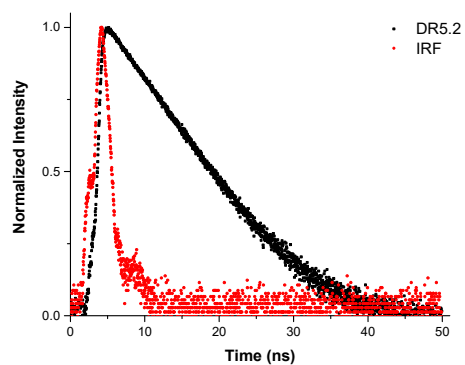
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



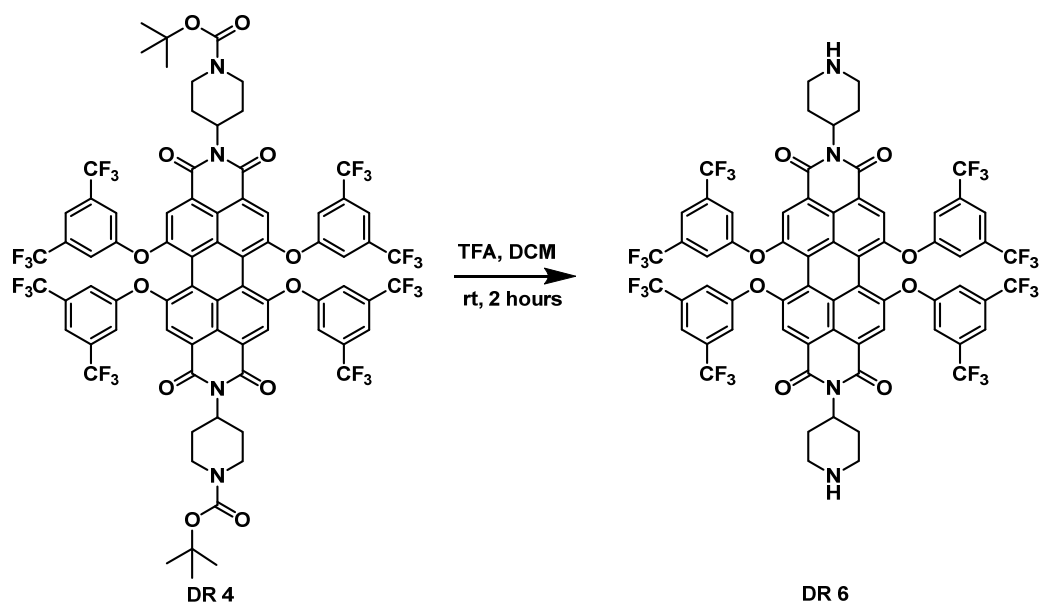
HR-MS (MALDI-, DCTB)



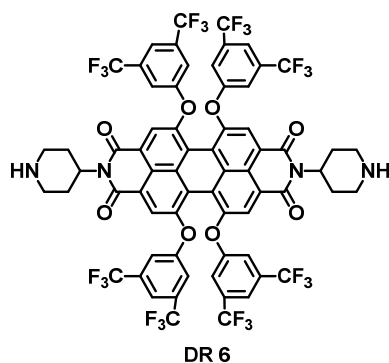
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 423 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 423 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 580 nm.

Removal of N-Boc protecting groups.**Synthesis:**

Trifluoroacetic acid (600 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR4**) (0.10 g, 0.06 mmol) in CH_2Cl_2 (900 μ l). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with CH_2Cl_2 , washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a fuschia solid (86.0 mg, 0.06 mmol, 98%).



***N,N'*-Bis(piperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR6)** was obtained in 98% yield (86.0 mg, 0.06 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3435 (N-H), 3069 (C-H), 2933 (C-H), 2867 (C-H), 1703 (C=O), 1664 (C=O), 1598, 1501, 1459, 1414, 1372, 1341, 1281, 1177, 1135, 1044, 992, 954, 887, 849, 804, 703.

¹H NMR (500 MHz, CHCl₃) δ: 8.19 (s, 4H), 7.61 (s, 4H), 7.29 (s, 8H), 5.07 (tt, *J* = 11.8 and 3.7 Hz, 2H), 3.28 – 3.20 (m, 4H), 2.79 – 2.69 (m, 4H), 2.61 (qd, *J* = 11.8 and 3.7 Hz, 4H), 1.72 – 1.66 (m, 4H).

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ: -63.34 (s, 24F).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 162.8 (C), 162.7 (C), 157.8 (C), 157.2 (C), 156.5 (C), 155.5 (C), 154.5 (C), 134.1 (q, *J* = 32.2 Hz, CF₃), 133.8 (C), 133.1 (C), 126.8 (C), 126.5 (C), 124.8 (C), 123.8 (C), 122.9 (C), 121.5 (C), 121.3 (CH), 121.1 (C), 121.0 (C), 119.6 (CH), 118.5 (CH), 53.6 (CH), 46.7 (CH₂), 29.9 (CH₂).

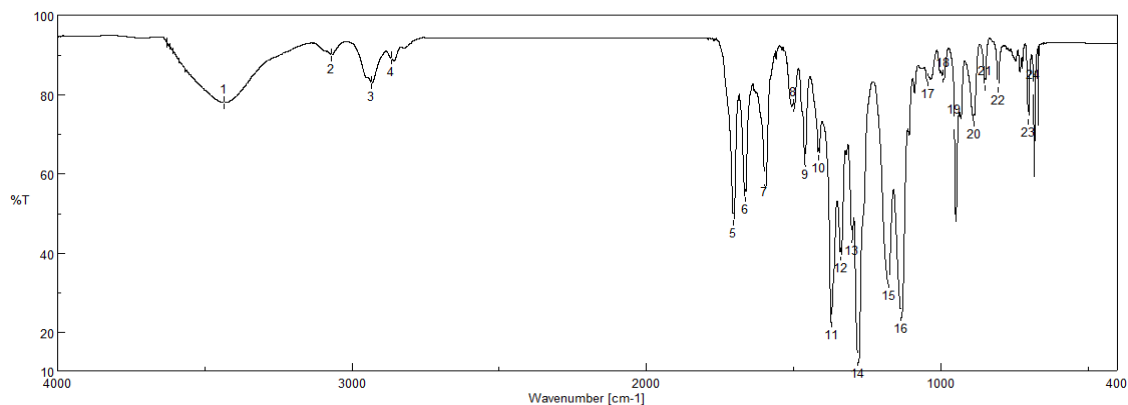
MS (MALDI+, DCTB) *m/z*: calc. for C₆₆H₃₇F₂₄N₄O₈ ([M+H]⁺): 1469.2223; exp.: 1469.2213.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 533 (22300).

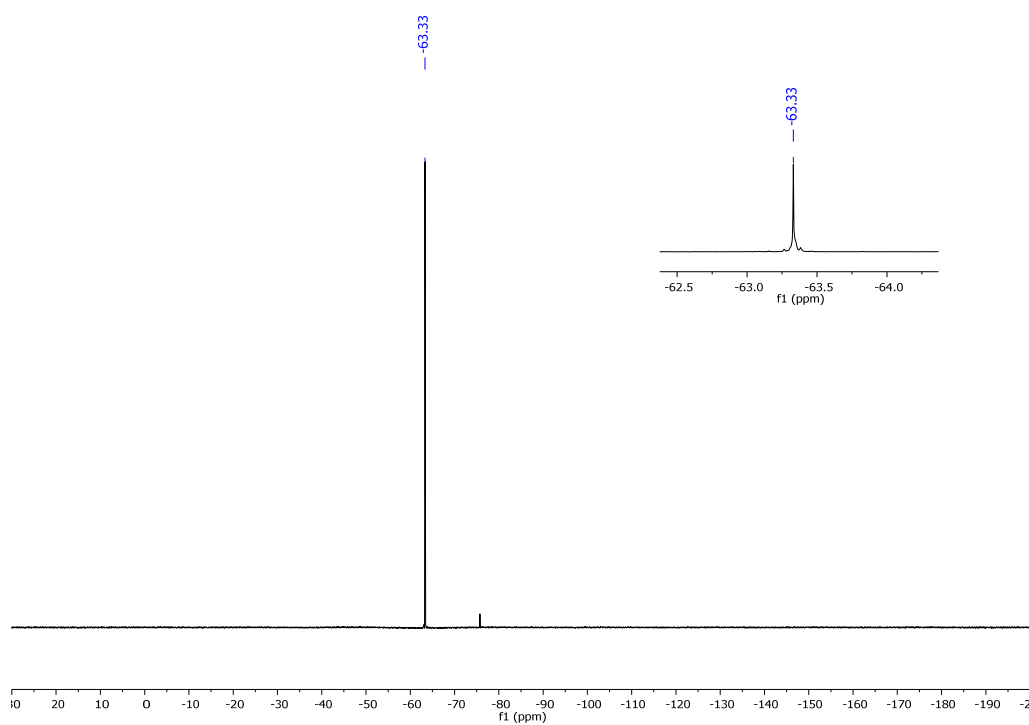
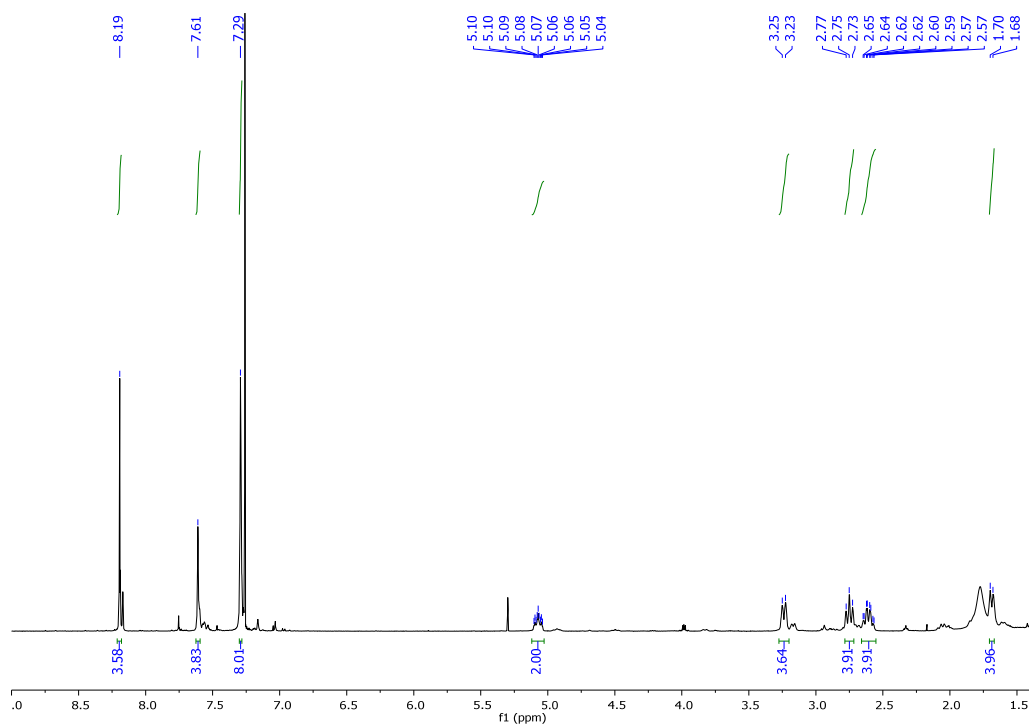
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=416 nm) λ_{max} / nm: 577.

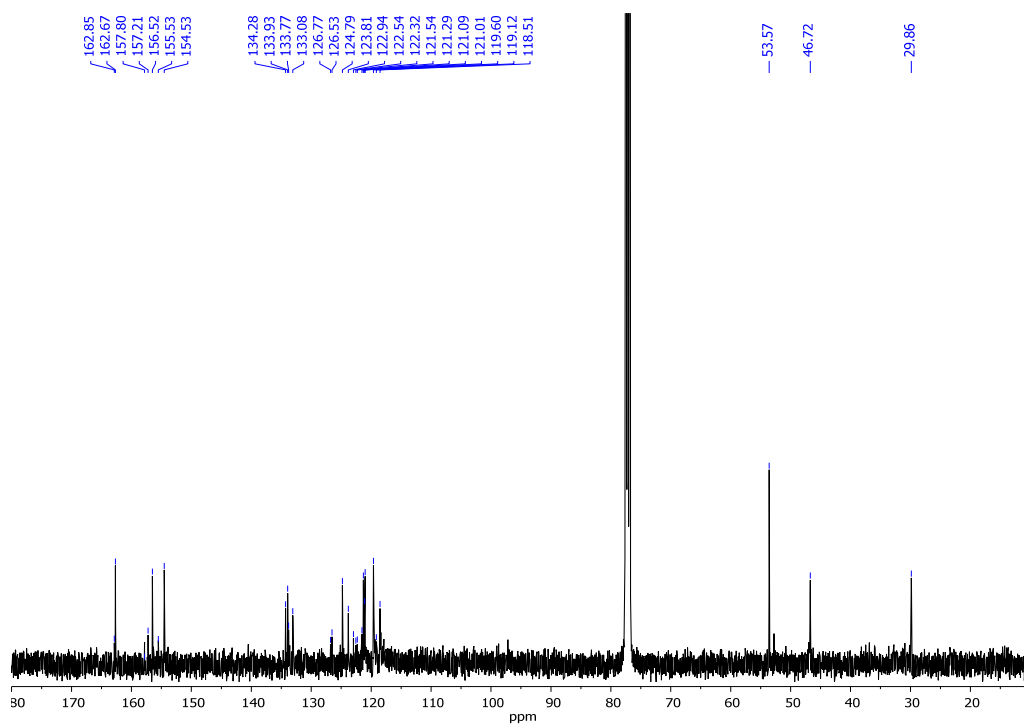
τ / ns (CH₂Cl₂, χ₂): 3.03 (0.99).

Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=416 nm): 0.32 ± 0.01.

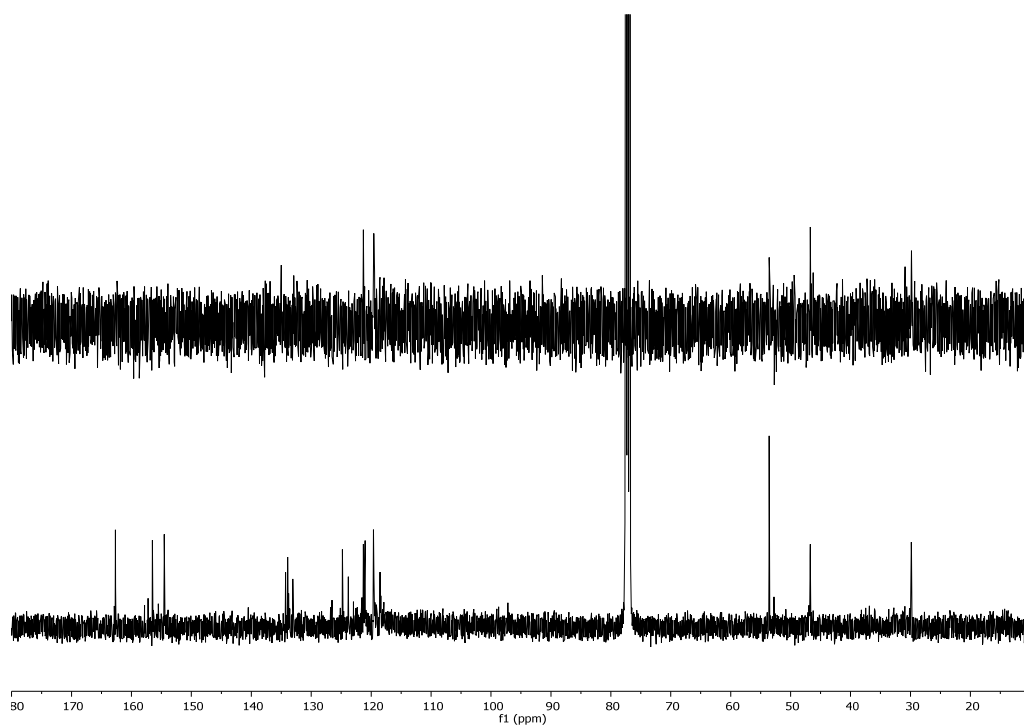


FT-IR (KBr)

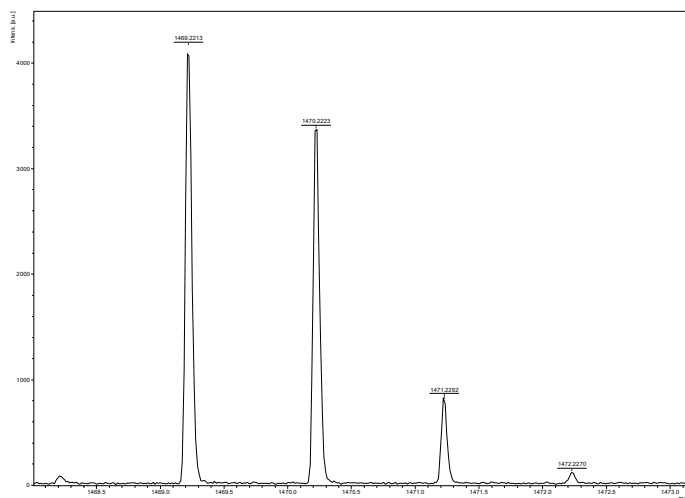
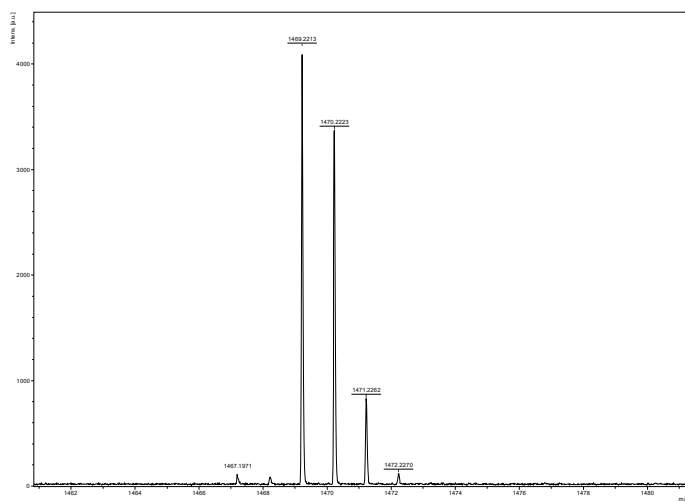




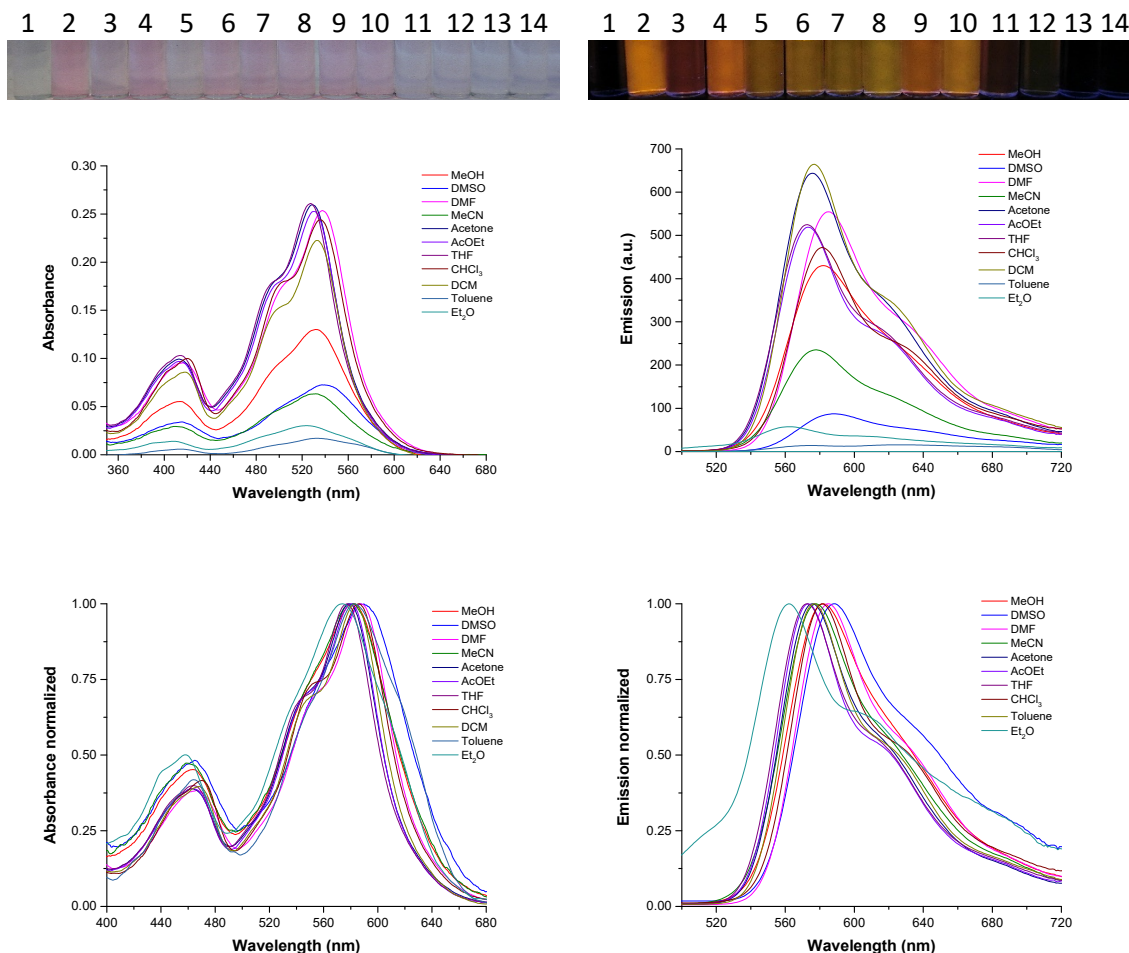
^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3)



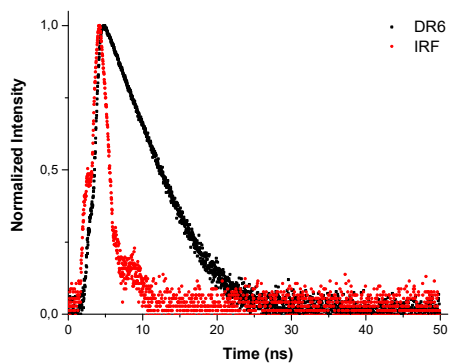
^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI+, DCTB)

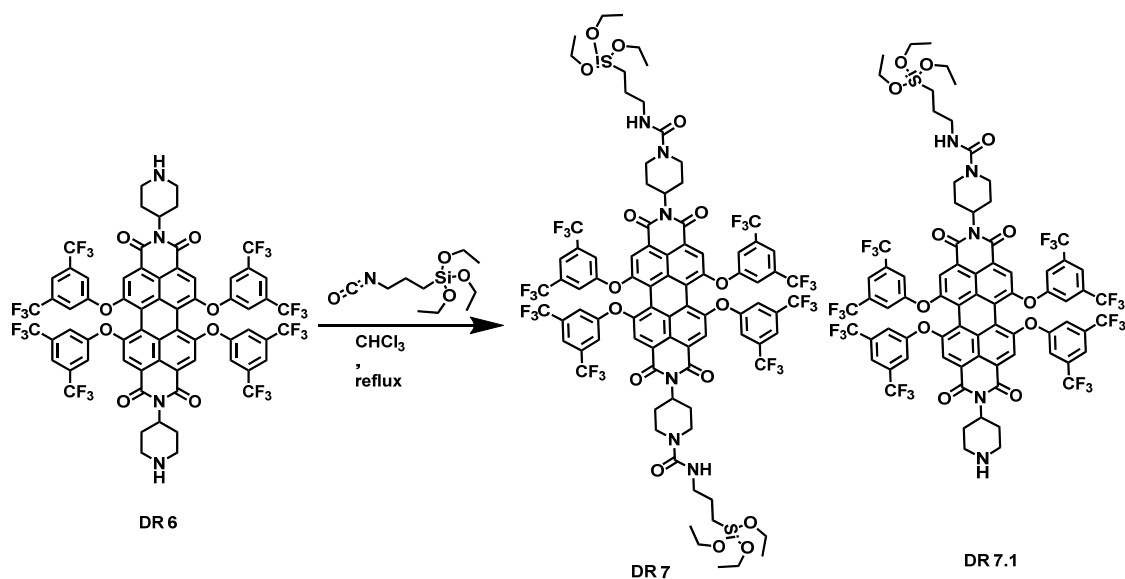


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 416 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 416 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).

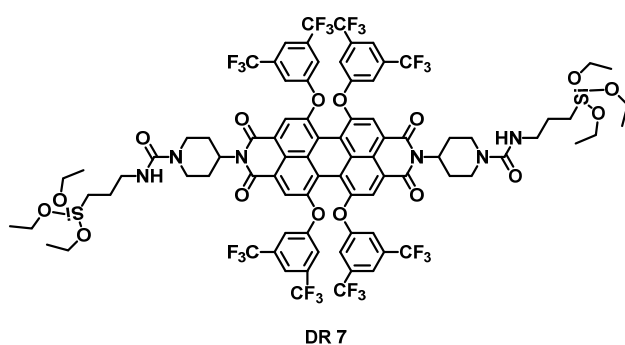


Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.

Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 6**.

Introduction of triethoxysilylpropyl groups.**Synthesis:**

N,N'-Bis(piperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR6**) (80.0 mg, 0.05 mmol) was dried into a round bottom flask equipped with a magnetic stirrer under inert atmosphere, dissolved in 100 ml of chloroform and placed in a sand bath at 120°C with agitation. Then, 13 μ l of 3-(triethoxysilyl)propylisocyanate dissolved in chloroform (50 ml) were added by a syringe pump system (70 ml at a flow of 0.2 ml/min). The reaction mixture was stirred under reflux (61 C) for 24 hours. The solvent was removed under vacuum and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:CH₃CN:MeOH, 50:3:1.5). Perylene diimides was obtained as a brown solid.



***N,N'*-bis((3-(triethoxysilyl)propyl)piperidine-1-carboxamide)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR7)** was obtained in 28% yield (30.0 mg, 0.015 mmol).

MP (°C): > 350°C.

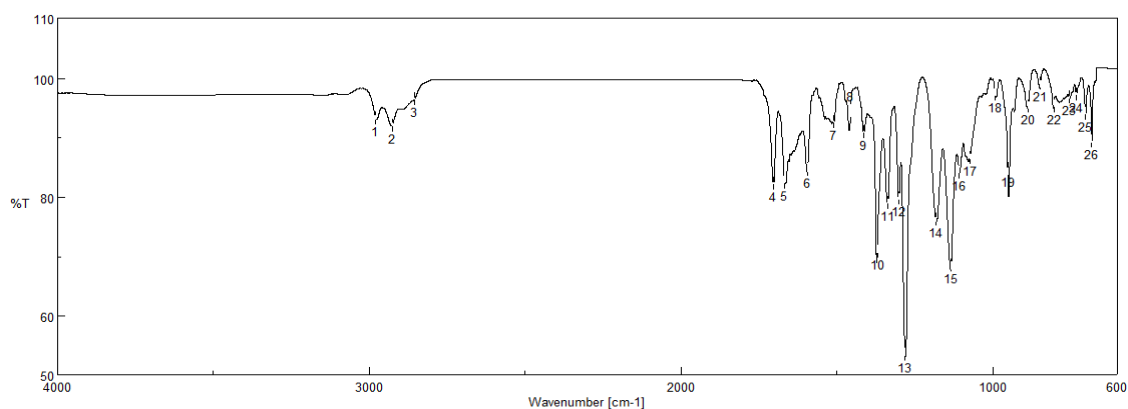
R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.26.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2979 (C-H), 2926 (C-H), 2854 (C-H), 1702 (C=O), 1666 (C=O), 1594, 1511, 1455, 1413, 1370, 1307, 1300, 1281, 1182, 1133, 1106, 991, 952, 886, 846, 701, 682.

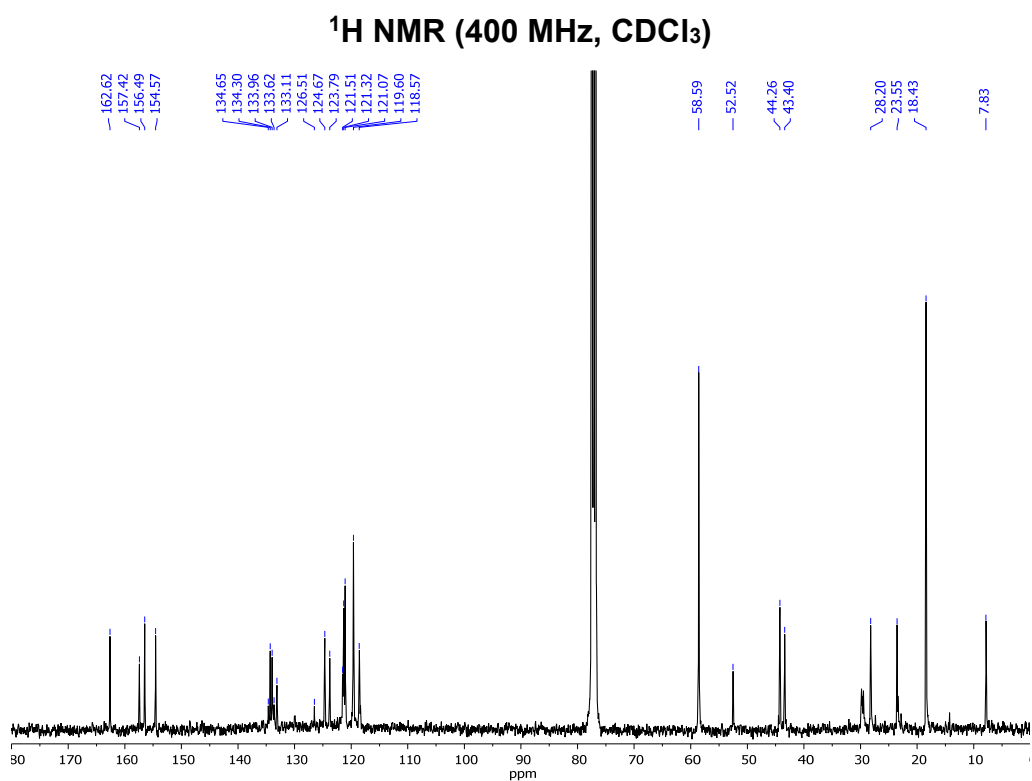
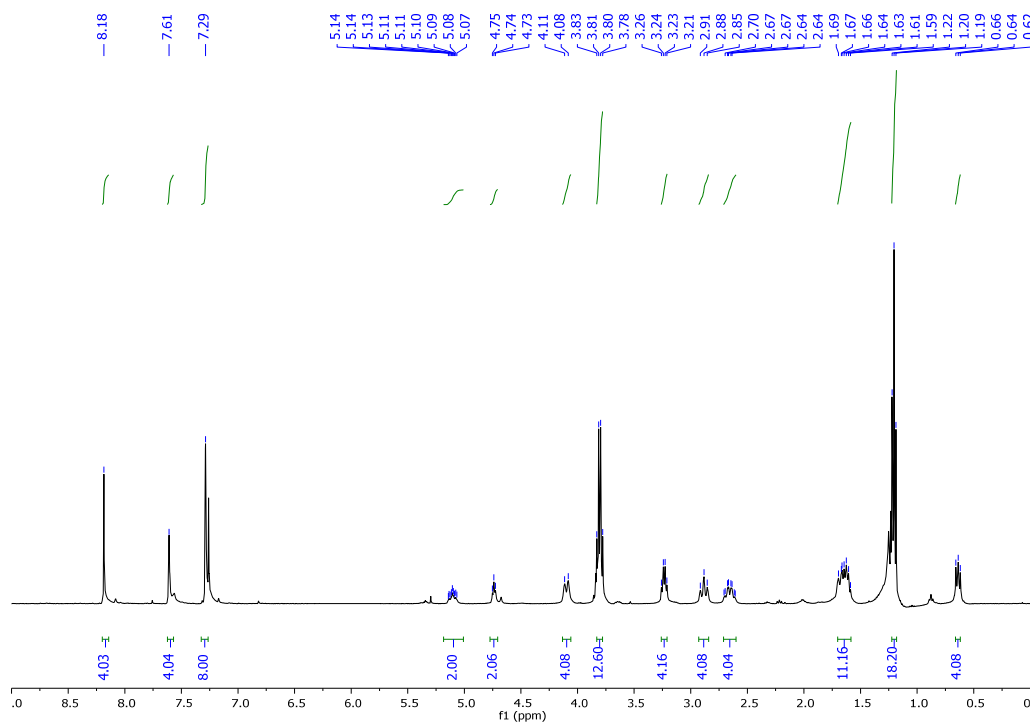
¹H NMR (400 MHz, CHCl₃) δ: 8.18 (s, 4H), 7.61 (s, 4H), 7.29 (s, 8H), 5.11 (tt, *J* = 11.9, 3.3 Hz, 2H), 4.74 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 4.13 – 4.06 (m, 4H), 3.80 (q, *J* = 7.0 Hz, 12H), 3.23 (td, *J* = 6.6, 5.5 Hz, 4H), 2.93 – 2.84 (m, 4H), 2.66 (qd, *J* = 11.9, 3.3 Hz, 4H), 1.70 – 1.58 (m, 8H), 1.20 (t, *J* = 7.0 Hz, 18H), 0.64 (t, *J* = 7.9 Hz, 4H).

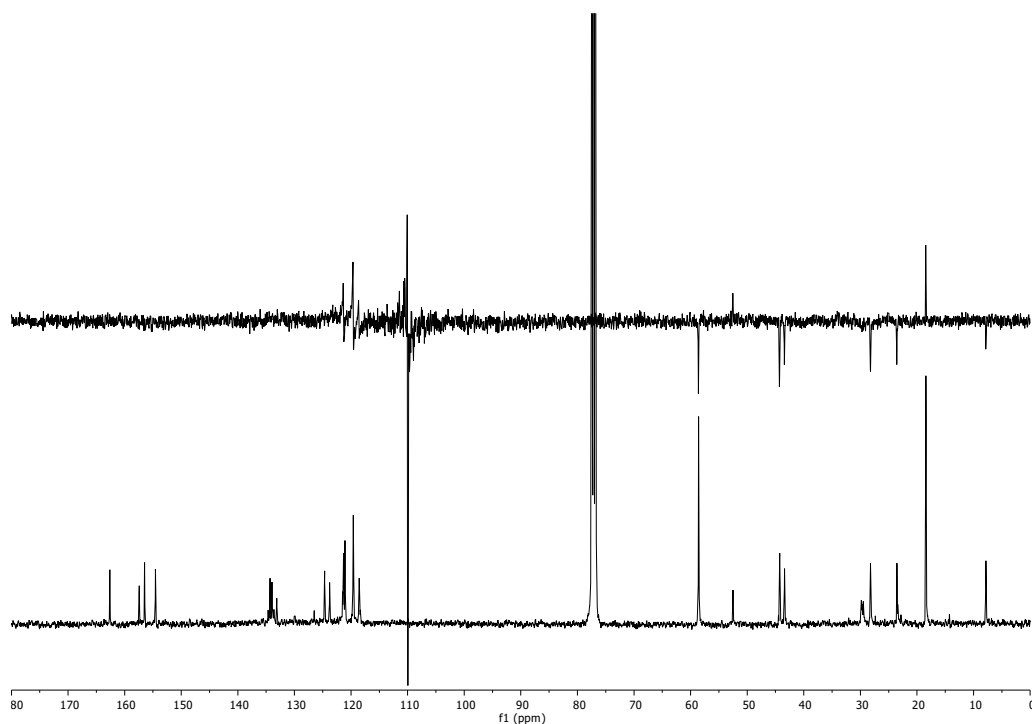
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 162.6 (C), 157.4 (C), 156.5 (C), 154.6 (C), 134.1 (q, *J* = 34.5 Hz, CF₃), 133.1 (C), 126.5 (C), 124.7 (C), 123.8 (C), 121.5 (C), 121.3 (CH), 121.1 (C), 119.6 (CH), 118.6 (CH), 58.6 (CH₂), 52.5 (CH), 44.3 (CH₂), 43.4 (CH₂), 28.2 (CH₂), 23.6 (CH₂), 18.4 (CH₃), 7.8 (CH₂).

MS (MALDI+, DCTB) *m/z*: calc. for C₈₄H₇₃F₂₄N₆O₁₅Si₂ ([M-OEt]⁺): 1917.4284; exp.: 1917.4368.

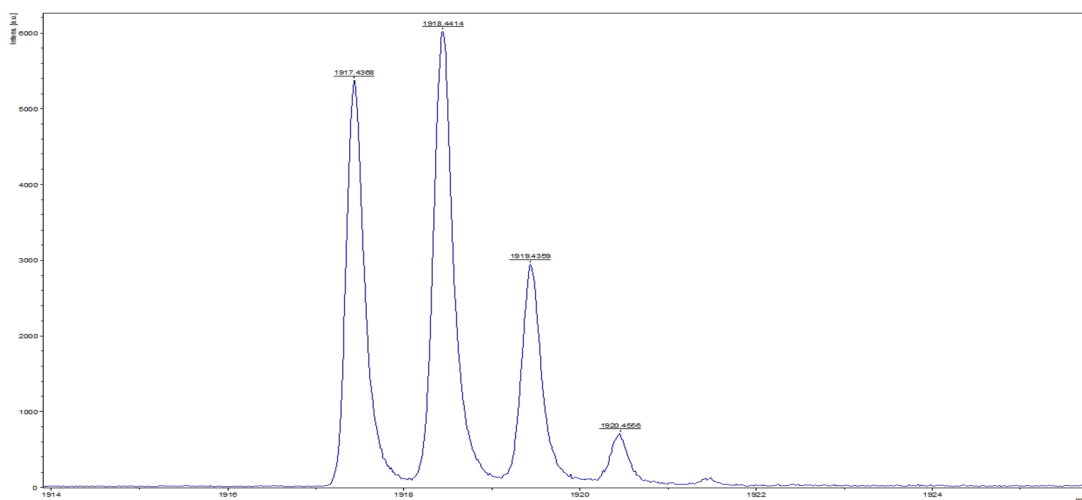


FT-IR (KBr)

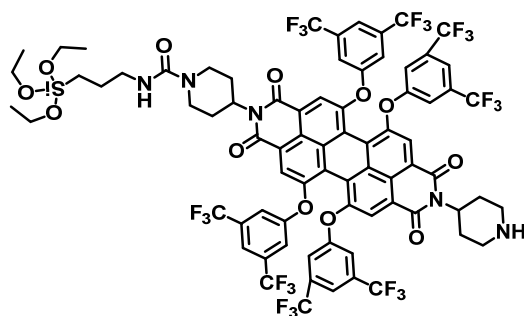




^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI+, DCTB)



DR 7.1

***N*-(Piperidin-4-yl)-*N'*-((3-(triethoxysilyl)propyl-1-amino)carbonylpiperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR7.1)** was obtained in 16% yield (15.0 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): > 350°C.

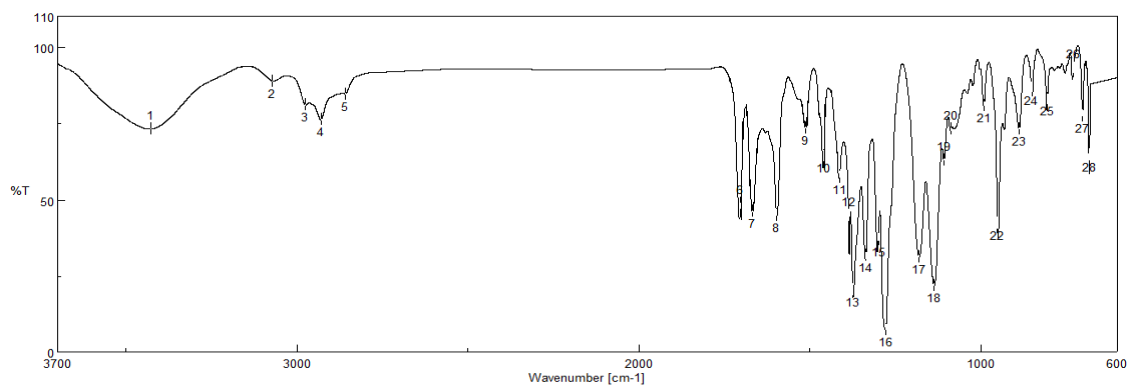
R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.14.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3426 (N-H), 3072 (C-H), 2976 (C-H), 2928 (C-H), 2860 (C-H), 1701 (C=O), 1668 (C=O), 1596, 1512, 1458, 1413, 1374, 1335, 1299, 1278, 1179, 1137, 1107, 990, 951, 888, 852, 804, 680.

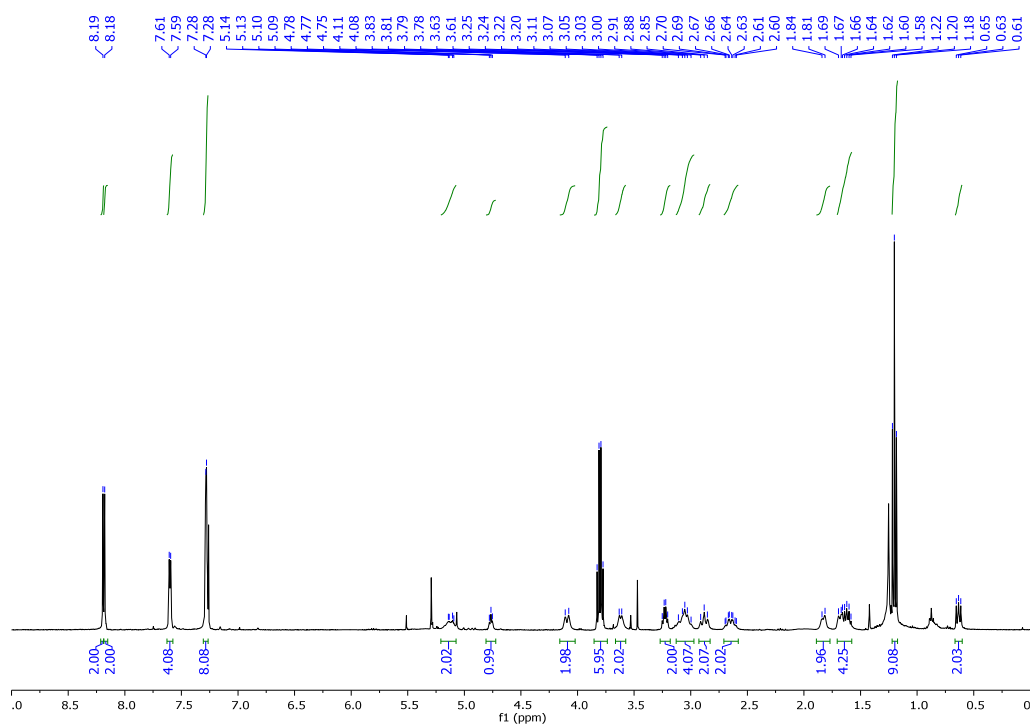
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.19 (s, 2H), 8.18 (s, 2H), 7.61 (s, 2H), 7.59 (s, 2H), 7.28 (s, 4H), 7.28 (s, 4H), 5.21 – 5.07 (m, 2H), 4.77 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.16 – 4.02 (m, 2H), 3.80 (q, *J* = 7.0 Hz, 6H), 3.67 – 3.57 (m, 2H), 3.23 (td, *J* = 6.7, 5.5 Hz, 2H), 3.13 – 2.97 (m, 4H), 2.93 – 2.83 (m, 2H), 2.71 – 2.58 (m, 2H), 1.89 – 1.77 (m, 2H), 1.71 – 1.58 (m, 4H), 1.20 (t, *J* = 7.0 Hz, 9H), 0.63 (t, *J* = 7.9 Hz, 3H).

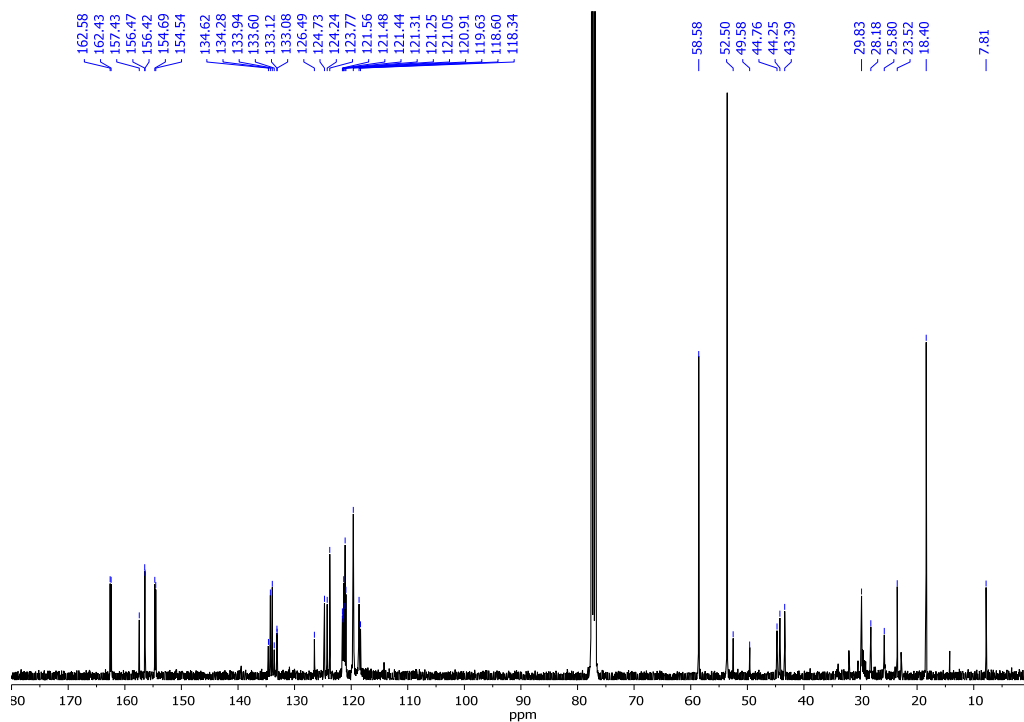
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 162.6 (C), 162.4 (C), 157.4 (C), 156.5 (C), 156.4 (C), 154.7 (C), 154.5 (C), 134.1 (q, *J* = 33.9 Hz, CF₃), 133.1 (C), 133.1 (C), 126.5 (C), 124.7 (C), 124.2 (C), 123.8 (C), 121.6 (CH), 121.5 (C), 121.4 (C), 121.3 (C), 121.3 (CH), 121.1 (C), 120.9 (C), 119.6 (CH), 118.6 (CH), 118.3 (C), 58.6 (CH₂), 52.5 (CH), 49.6 (CH), 44.8 (CH₂), 44.3 (CH₂), 43.4 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.2 (CH₂), 25.8 (CH₂), 23.5 (CH₂), 18.4 (CH₃), 7.8 (CH₂).

MS (MALDI+, DCTB) *m/z*: calc. for C₇₆H₅₈F₂₄N₅O₁₂Si ([M+H]⁺): 1716.3463; exp.: 1716.3628.

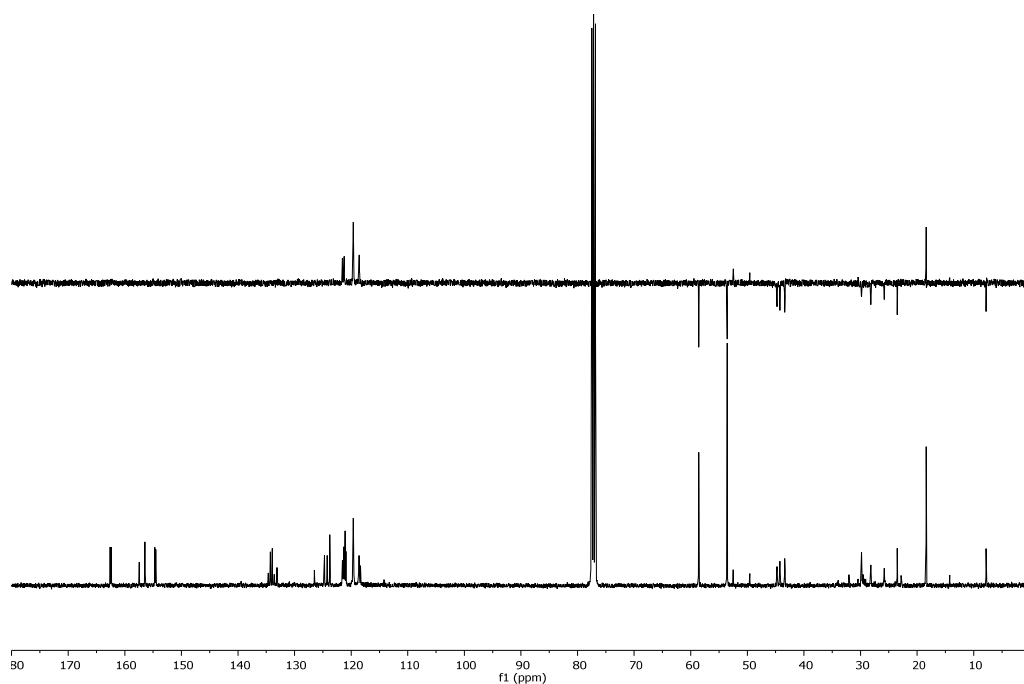


FT-IR (KBr)

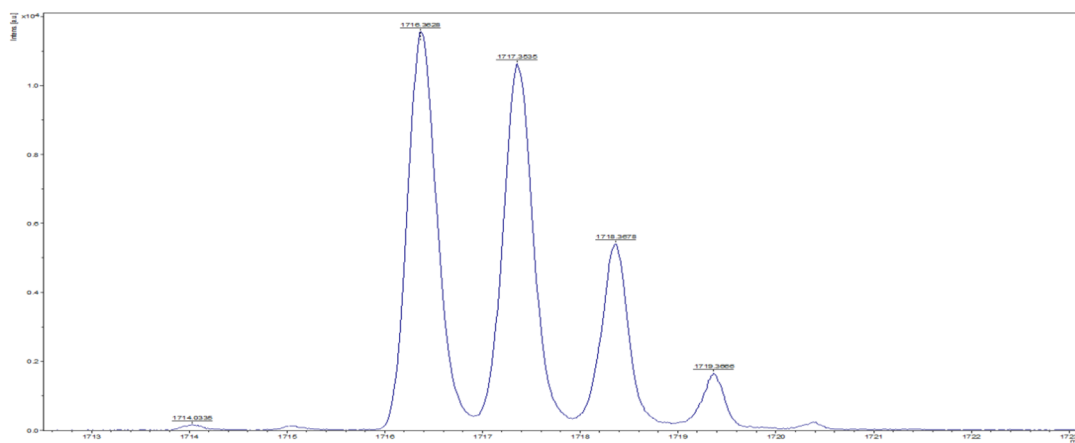
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



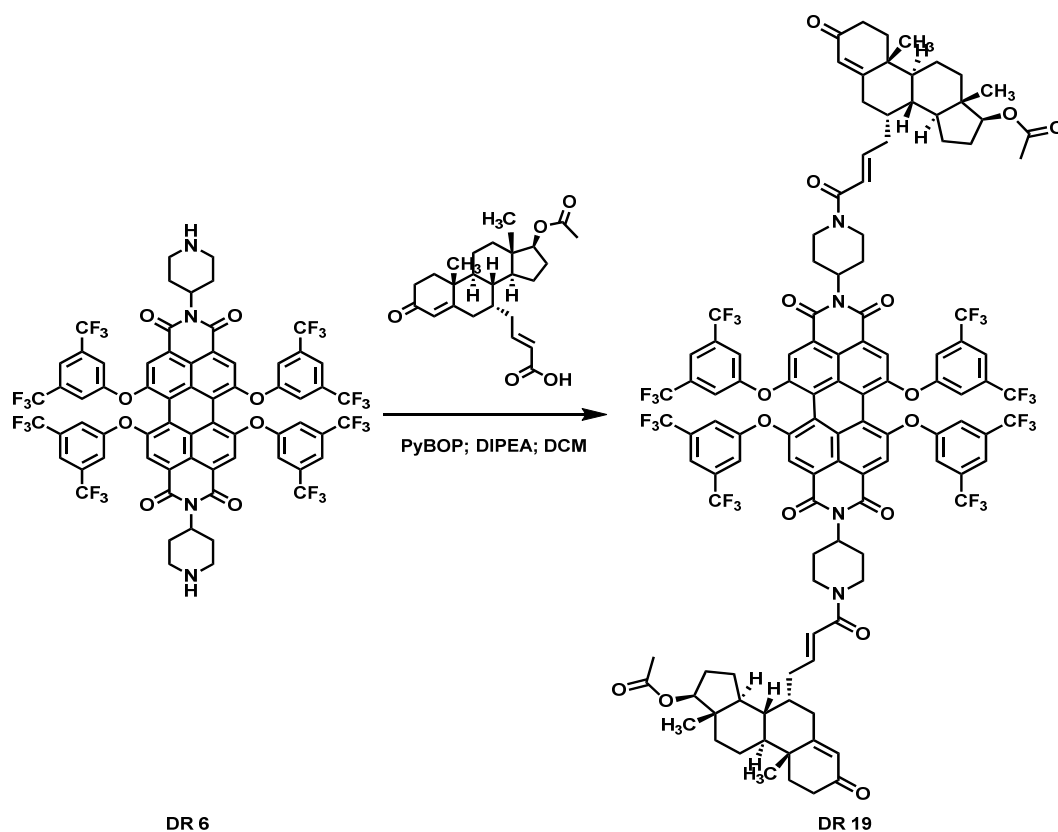
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



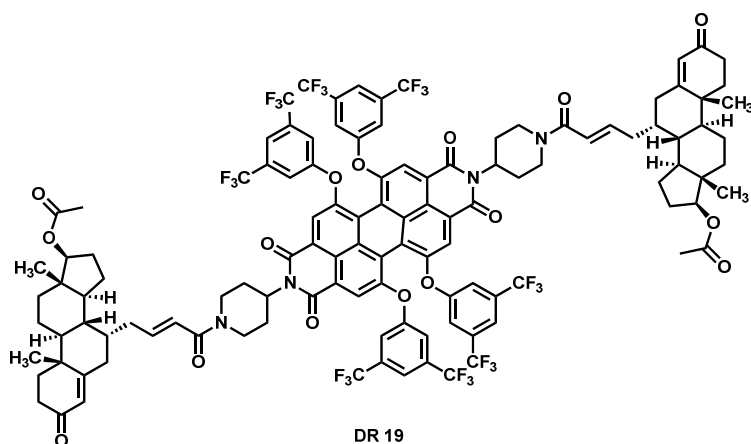
¹³C-DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI+, DCTB)

Introduction of testosterone derivative groups.**Synthesis:**

10 μl (0.05 mmol) of *N,N*-diisopropylethylamine were added to a stirred solution of (4-androsten-17 β -acetoxy-3-one-7 α -yl)but-2-enoic acid (testosterone derivative) (11.0 mg, 0.03 mmol) dissolved in 700 μl of CH_2Cl_2 . Then, *N,N'*-bis(piperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR6**) (20.0 mg, 0.01 mmol) dissolved in CH_2Cl_2 (1 ml) was added to the previous solution. Finally, 14.0 mg (0.03 mmol) of PyBOP was aggregated. The reaction mixture was stirred at 25 C for two hours. The solvent was removed under vacuum and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH_2Cl_2 : CH_3CN : MeOH , 50:3.5:1) to afford the perylene diimide as a red solid.



***N,N'*-bis(((4-androsten-17B-acetoxy-3-one-7 α -yl)but-2-enyl)piperidine-1-carboxamide)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR19)** was obtained in 92% yield (28.2 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:3): 0.50.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2921 (C-H), 2853 (C-H), 1867 (C=O), 1826 (C=O), 1732 (C=O), 1694 (C=O), 1667 (C=O), 1597, 1556, 1539, 1509, 1456, 1415, 1371, 1338, 1299, 1277, 1178, 1133, 1046, 1024, 991, 949, 889, 850, 753, 700 678, 601 571, 535.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.19 (s, 4H), 7.61 (s, 4H), 7.29 (s, 8H), 6.73–6.67 (m, 2H), 6.24 (d, *J* = 14.8 Hz, 2H), 5.65 (s, 2H), 5.23–5.17 (m, 2H), 4.82 (s, 2H), 4.64–4.59 (m, 2H), 4.10 (s, 2H), 3.16 (s, 2H), 2.70–2.64 (m, 6H), 2.42–2.35 (m, 6H), 2.19–2.16 (m, 4H), 2.05 (s, 8H), 1.92 (d, *J* = 5.7 Hz, 4H), 1.79–1.71 (m, 10H), 1.60–1.57 (m, 6H), 1.44–1.35 (m, 6H), 1.20 (s, 6H), 1.17–1.10 (m, 6H), 0.85 (s, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ : 171.25, 169.9, 165.2, 162.6, 156.5, 154.6, 134.3, 134.0, 133.6, 133.1, 126.4, 124.6, 123.8, 122.1, 121.8, 121.5, 121.3, 121.1, 119.6, 118.6, 82.5, 52.2, 47.3, 46.3, 45.9, 42.8, 42.4, 38.8, 38.3, 36.6, 36.1, 35.7, 34.2, 29.5, 27.5, 23.0, 21.3, 20.9, 18.1, 12.1.

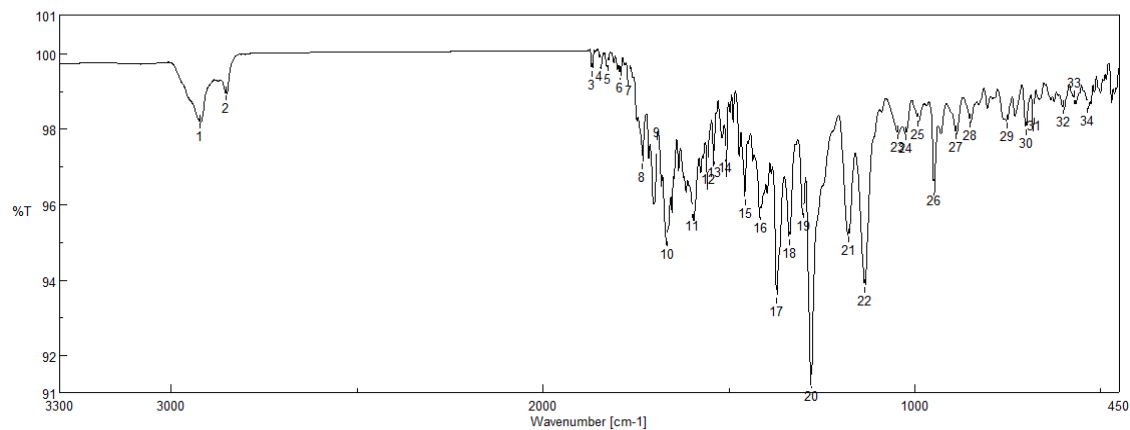
MS (MALDI+, DCTB) *m/z*: calcd. for C₁₁₆H₁₀₁F₂₄N₄O₁₆ ([M+H]⁺): 2261.6824; found: 2261.6851.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{\max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 536 (36300).

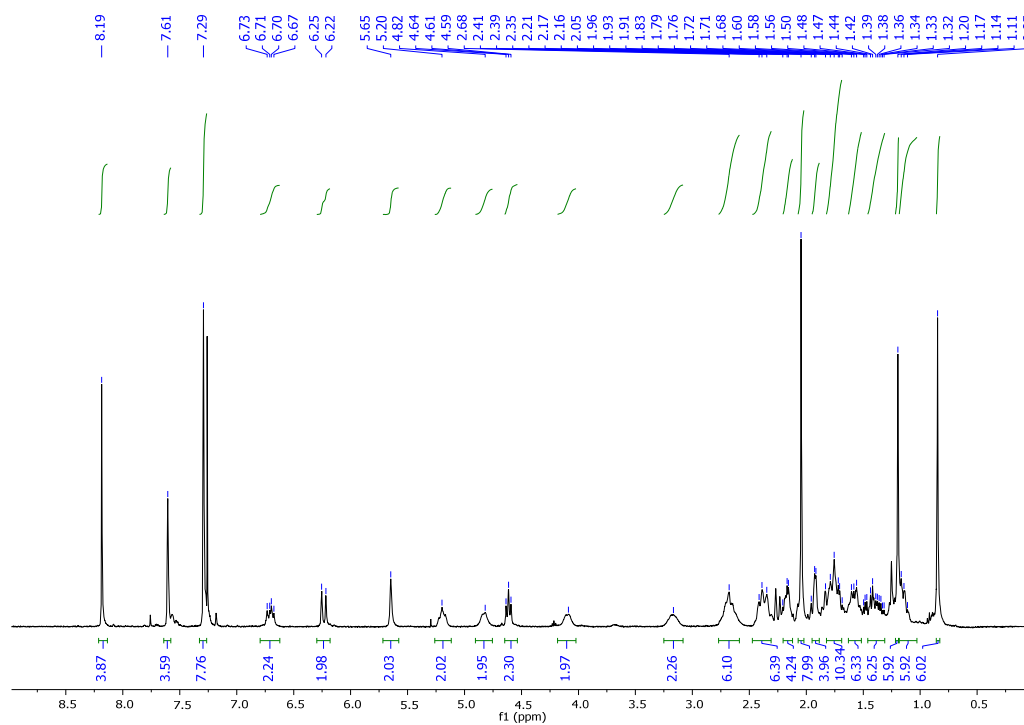
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex} =421 nm) λ_{\max} / nm: 581.

τ / nm (CHCl_3 , χ_2): 5.45 (1.01).

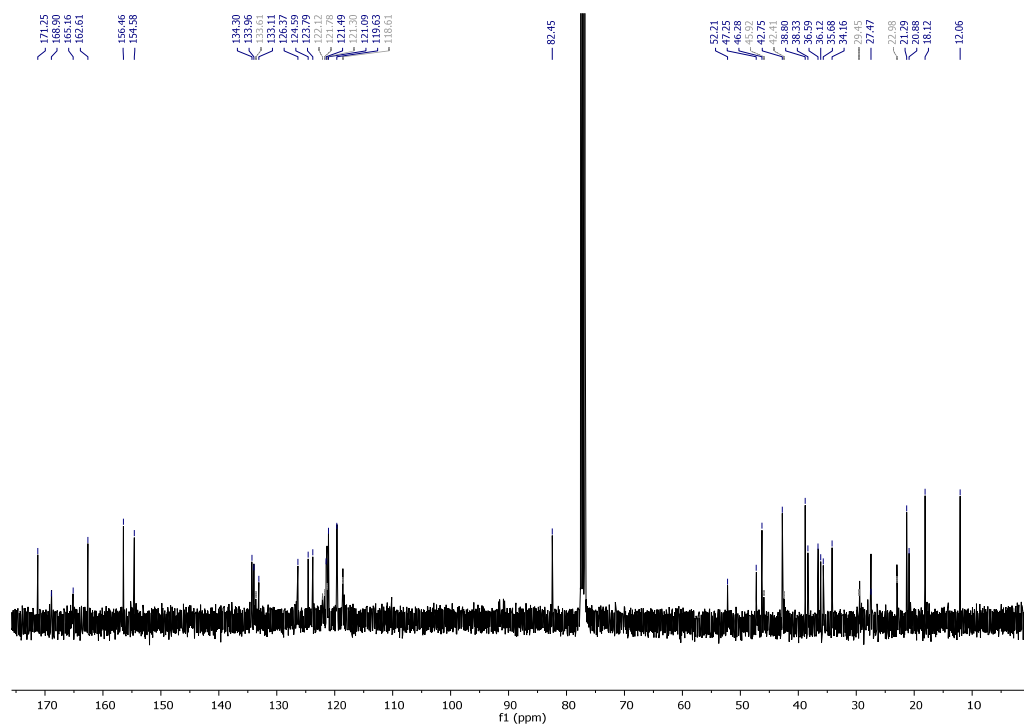
Φ (CHCl_3 $\lambda_{\text{ex}}=420 \text{ nm}$): 0.96 ± 0.01 .



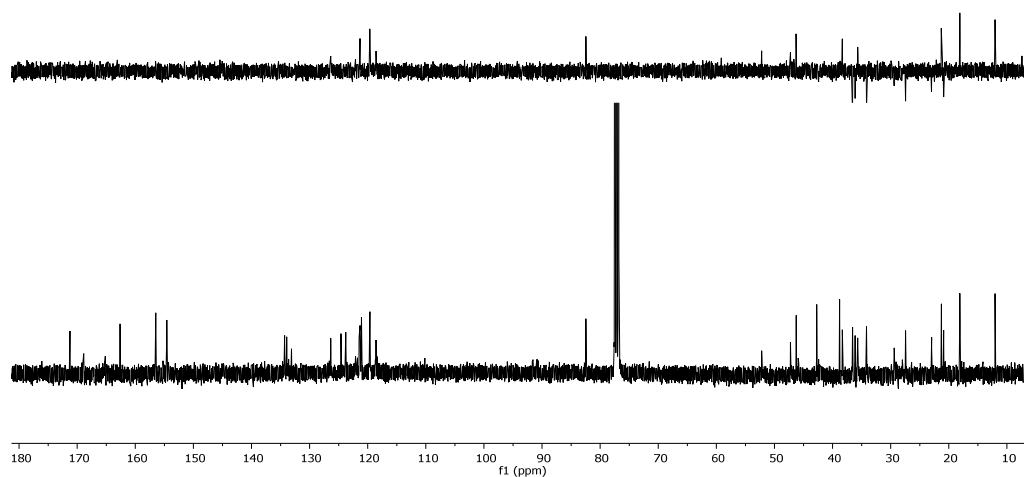
FT-IR (KBr)



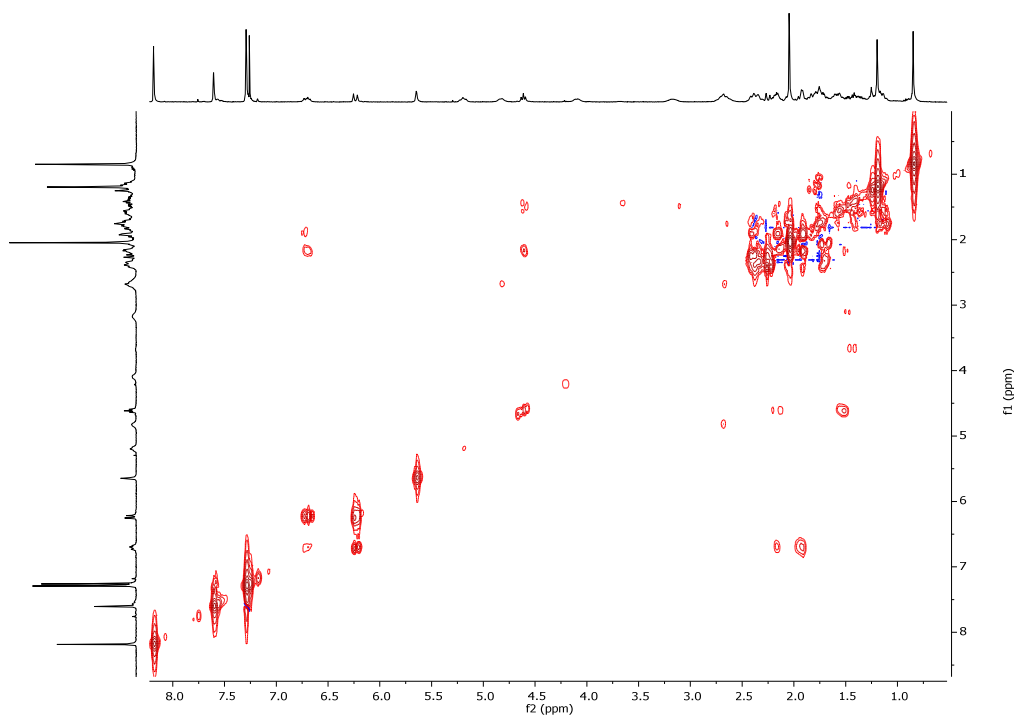
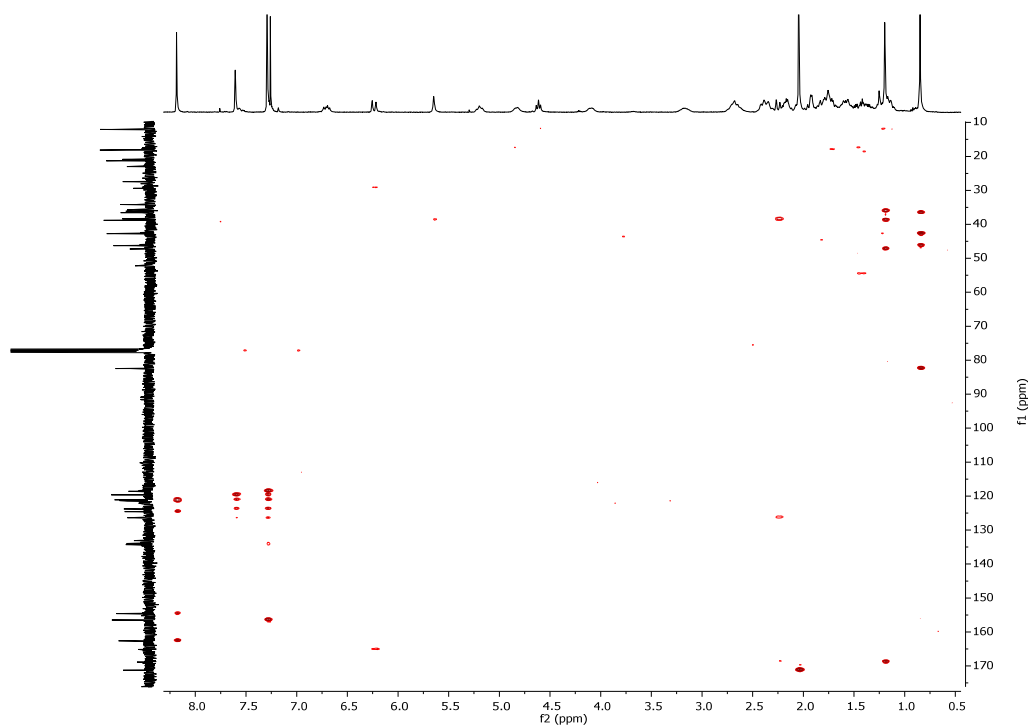
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

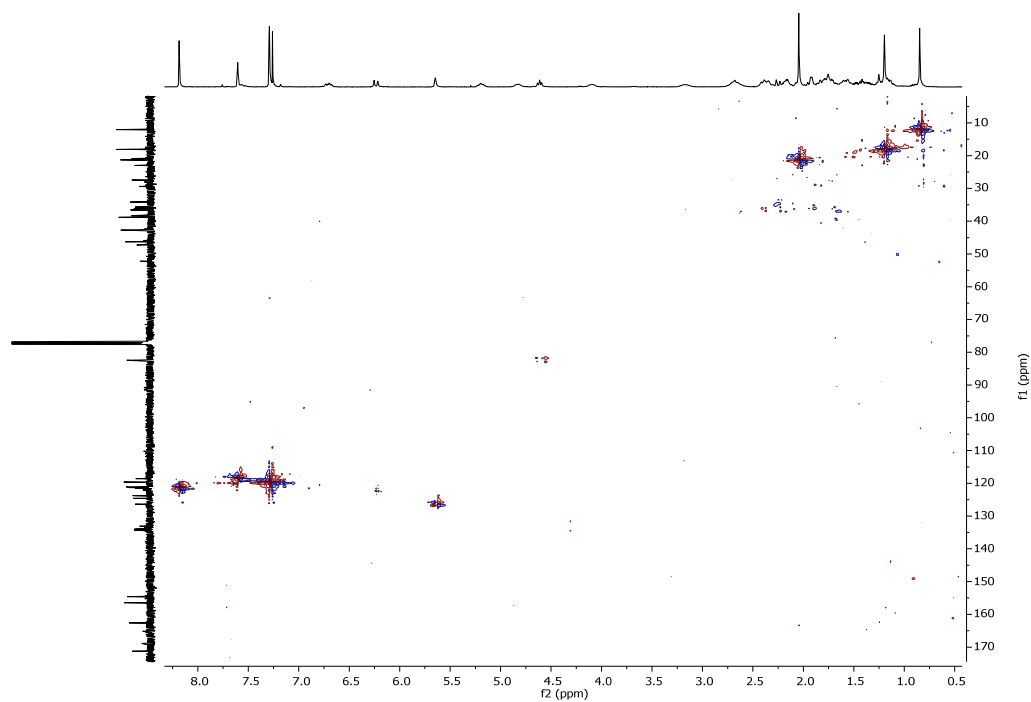


^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3)

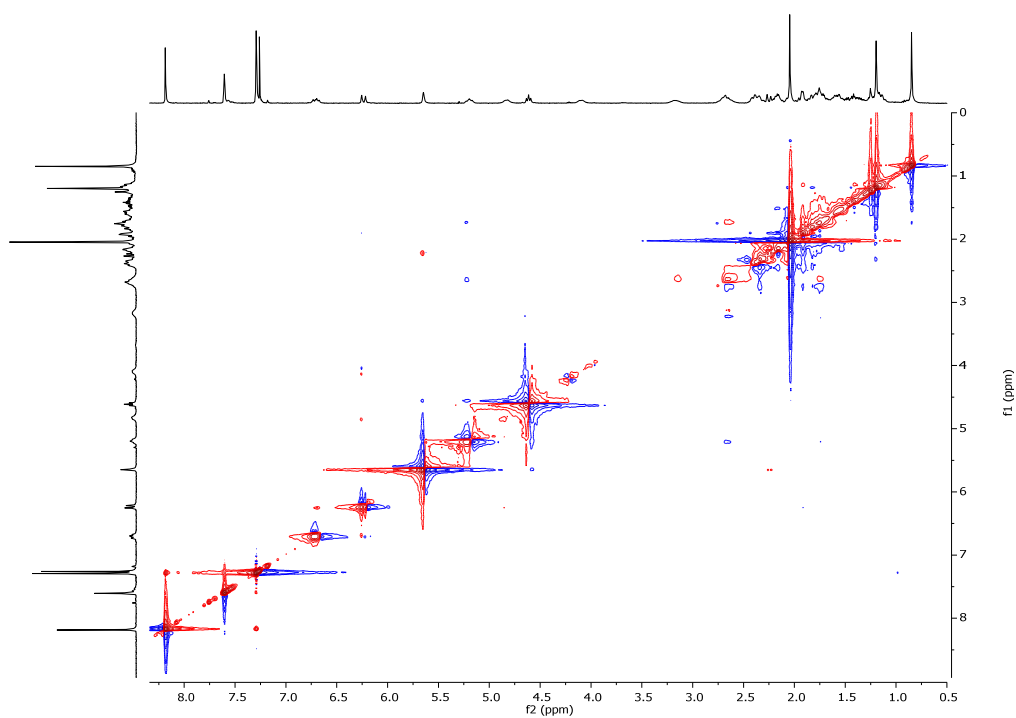


^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)

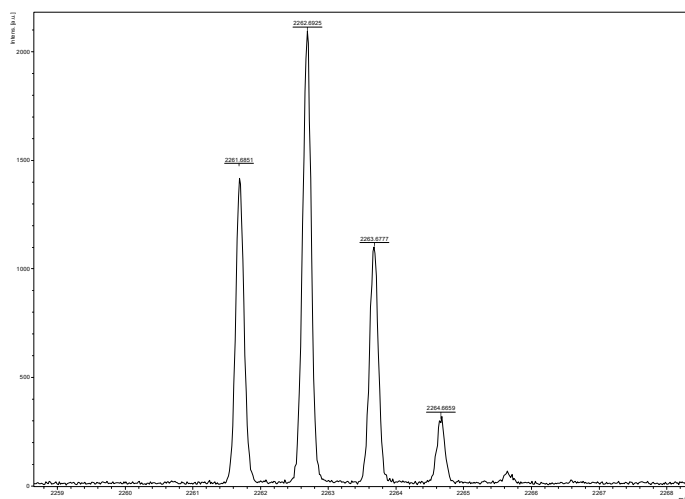
 **^1H - ^1H -COSY NMR (400MHz, CDCl_3)** **^1H - ^{13}C -HMBC NMR (400MHz, CDCl_3)**



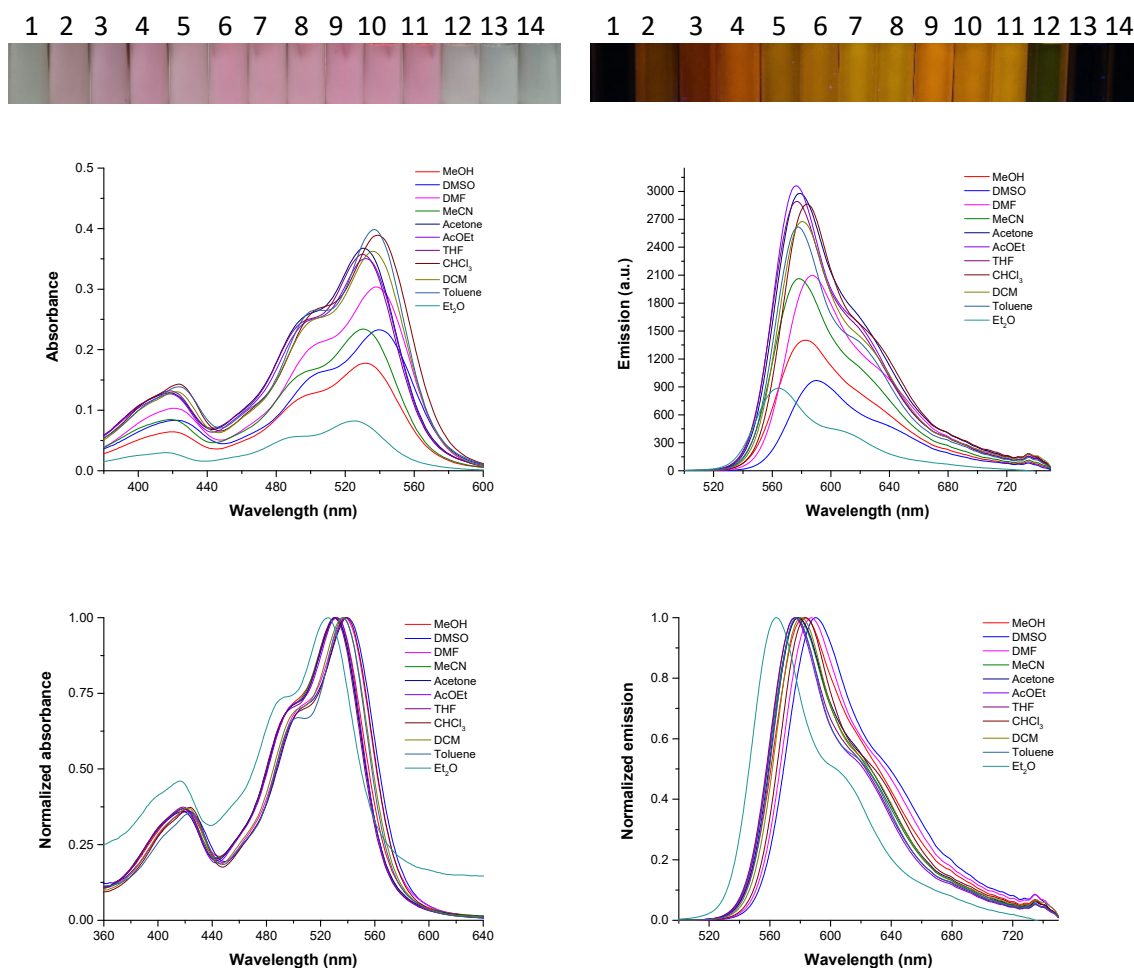
^1H - ^{13}C -HMQC NMR (400MHz, CDCl_3)



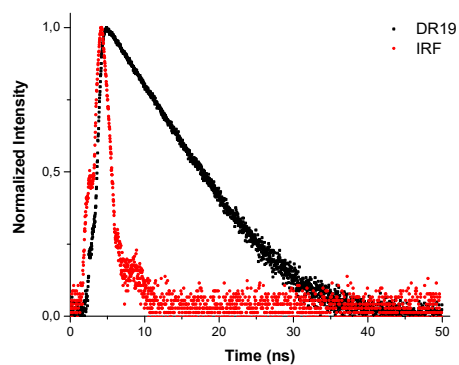
^1H - ^1H -NOESY NMR (400MHz, CDCl_3)



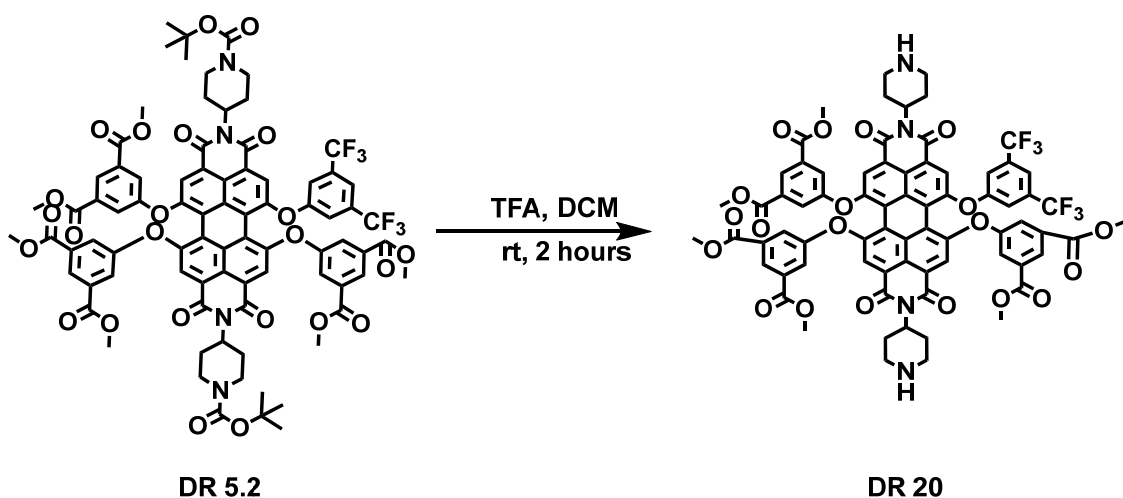
HR-MS (MALDI+, DCTB)



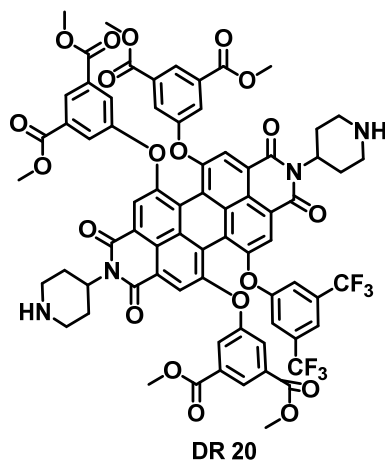
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 421 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 421 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.

Removal of N-Boc protecting groups.**Synthesis:**

Trifluoroacetic acid (300 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,7,12-tris(dimethyl-5-oxyisophthalate)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR5.2**) (50.0 mg, 0.03 mmol) in CH_2Cl_2 (450 μ l). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with CH_2Cl_2 , washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a red solid, that exhibits orange emission in solid state.



***N,N'*-Bis(piperidin-4-yl)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,7,12-tris(dimethyl-5-oxyisophthalate)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR20**)** was obtained in 93% yield (40.8 mg, 0.03 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3452 (N-H), 2954 (C-H), 2923 (C-H), 2853 (C-H), 1730 (C=O), 1703 (C=O), 1665 (C=O), 1591, 1505, 1459, 1431, 1375, 1320, 1278, 1246, 1173, 1134, 1107, 999, 793, 755, 720.

¹H NMR (300 MHz, MeOD) δ: 8.52 (s, 3H), 8.11 (s, 2H), 8.07 (s, 3H), 7.54 (s, 8H), 5.30 – 5.19 (m, 2H), 3.83 (s, 18H), 3.54 – 3.47 (m, 4H), 3.21 – 3.06 (m, 4H), 3.01 – 2.85 (m, 4H), 2.03 – 1.93 (m, 4H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 169.6, 162.1, 160.8, 158.5, 124.5, 124.3, 116.9, 116.6, 116.3, 116.0, 114.5, 112.2, 112.1, 110.9, 109.7, 108.5, 108.4, 107.6, 106.6, 105.1, 105.0, 52.7, 52.5, 45.7, 29.7.

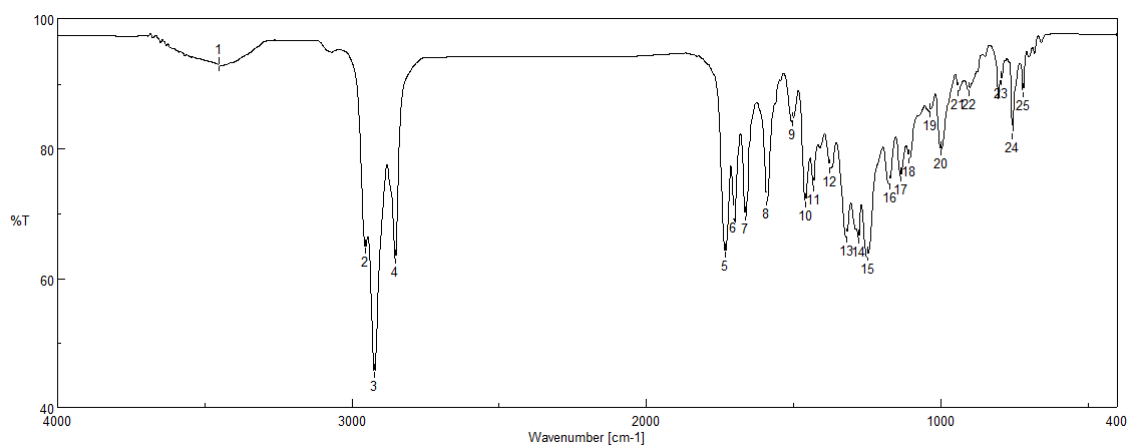
MS (MALDI+, DIT) m/z: calc. for C₇₂H₅₅F₆N₄O₂₀ ([M+H]⁺):1409.3308; exp.: 1409.3328.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 540 (17500).

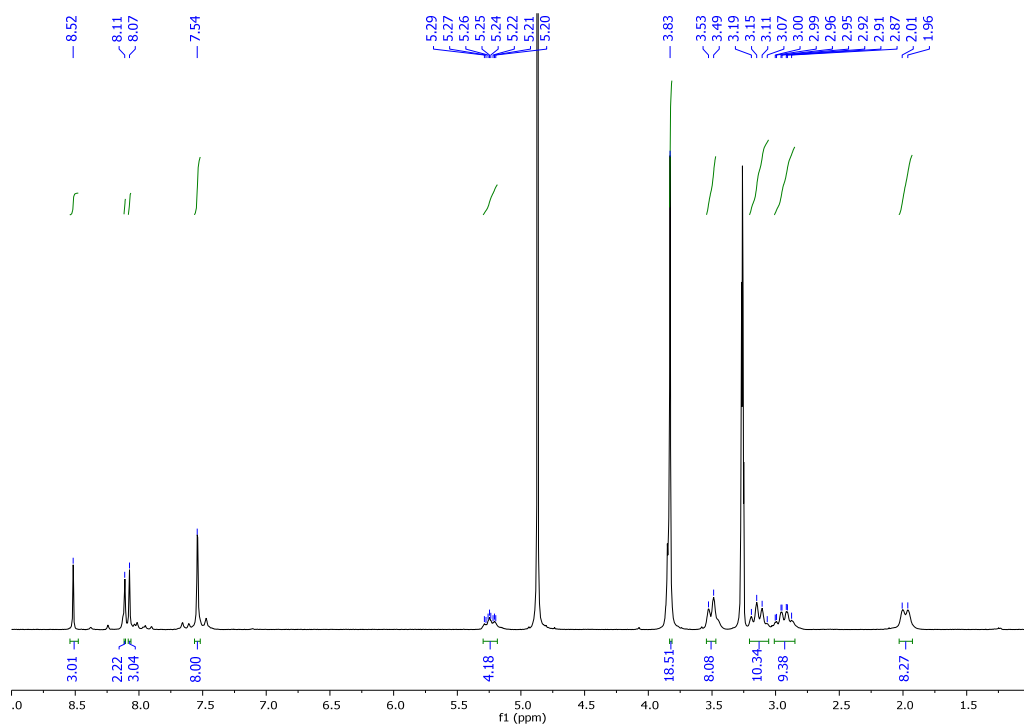
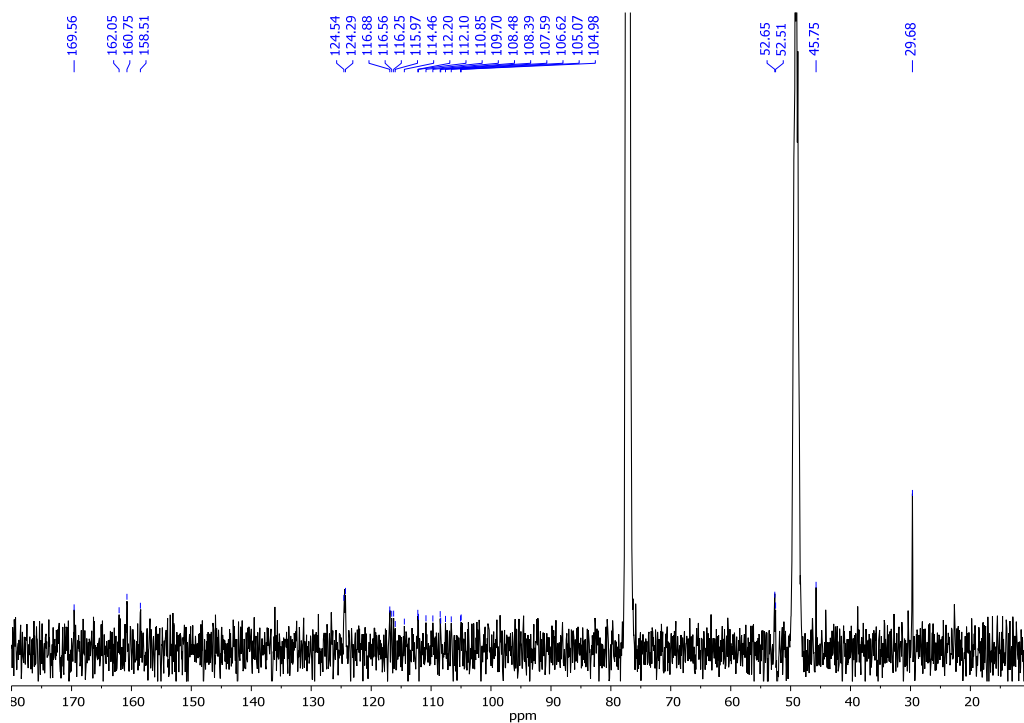
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=504 nm) λ_{max} / nm: 584.

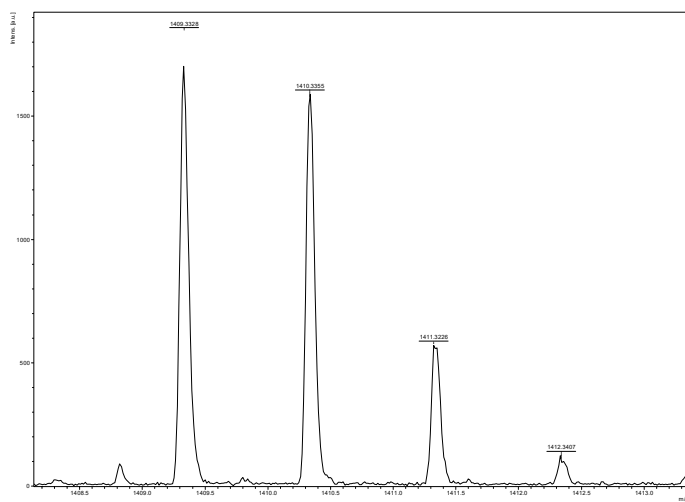
τ / ns (CHCl₃, χ₂): 5.88 (1.08).

Φ (CHCl₃, λ_{ex}=427 nm): 0.81 ± 0.01.

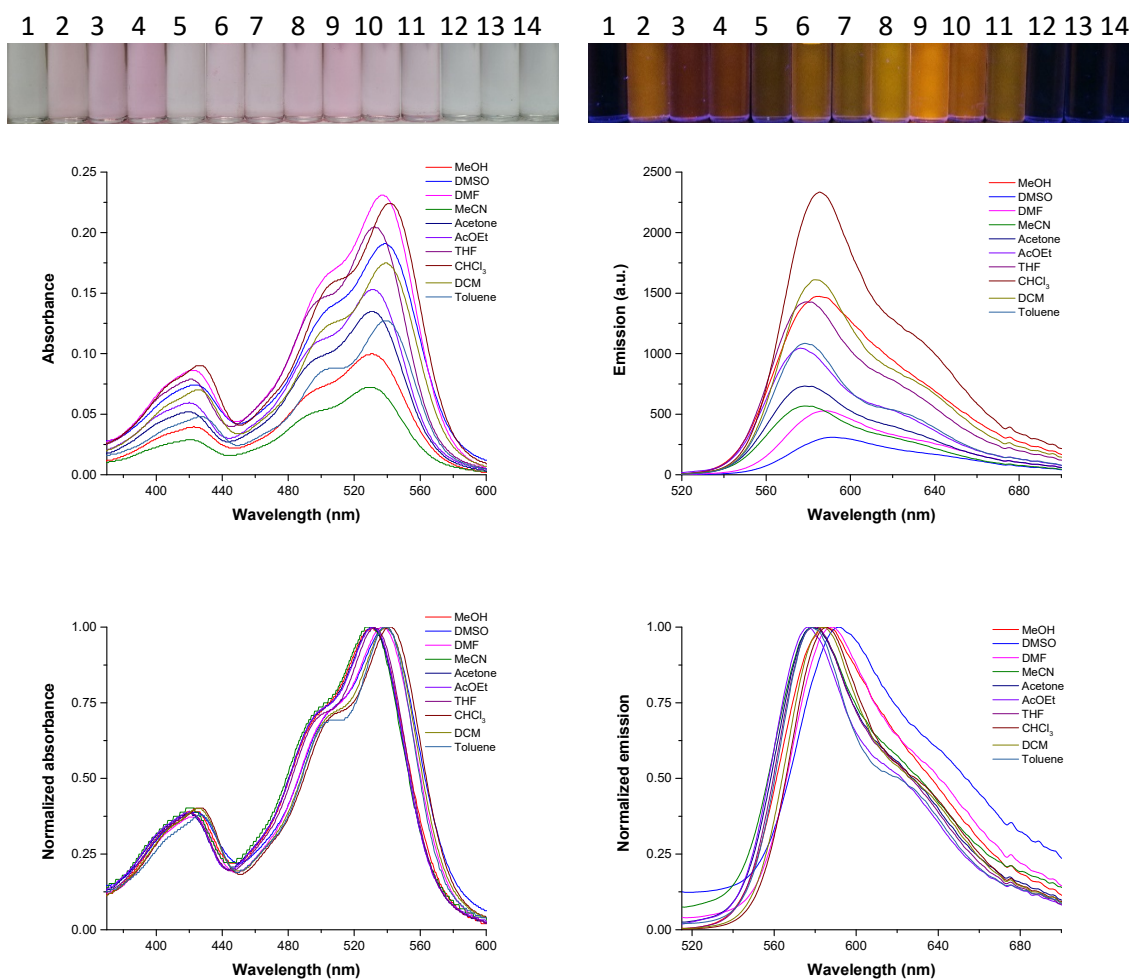


FT-IR (KBr)

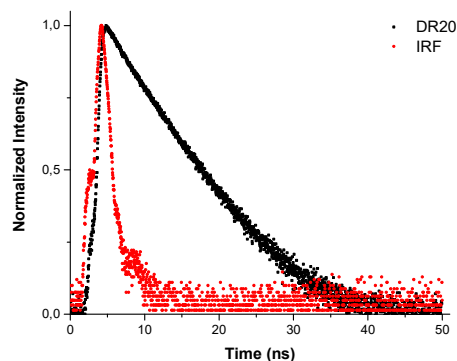
**¹H NMR (300 MHz, MeOD)****¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)**



HR-MS (MALDI+, DIT)

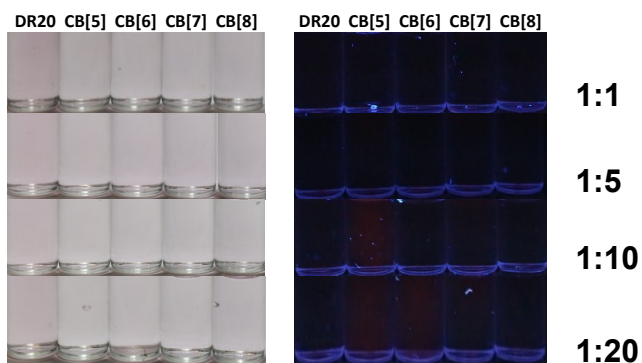


Solventochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 504 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 504 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



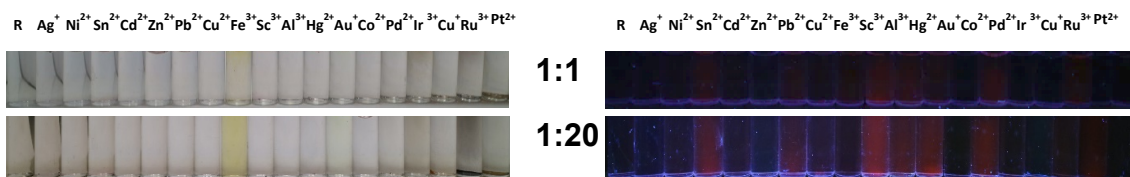
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.

Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **positive** for **DR 20** with **CB[5]** and **CB[6]**.

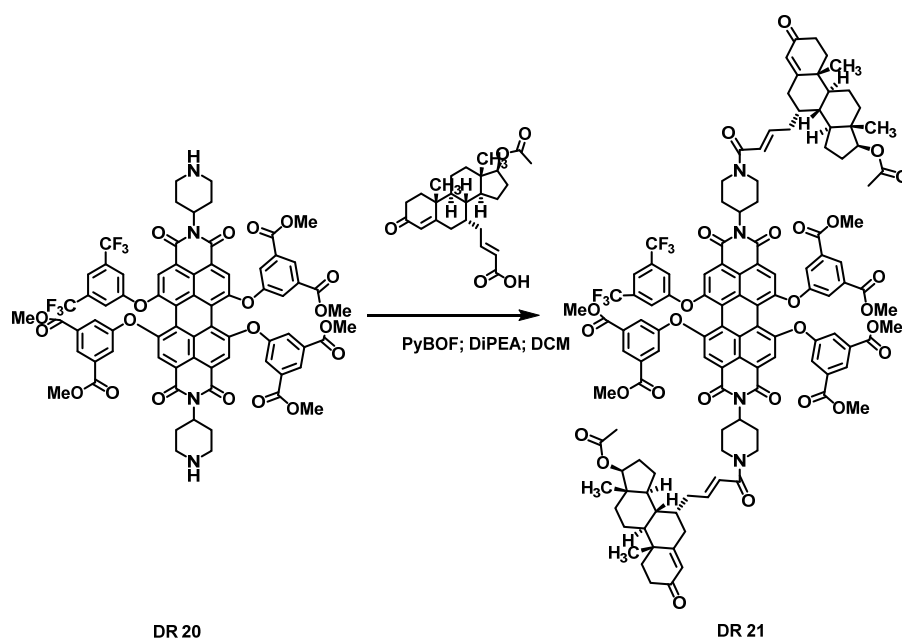


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cucurbituril of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye, dye with CB[5], CB[6], CB[7] and CB[8].

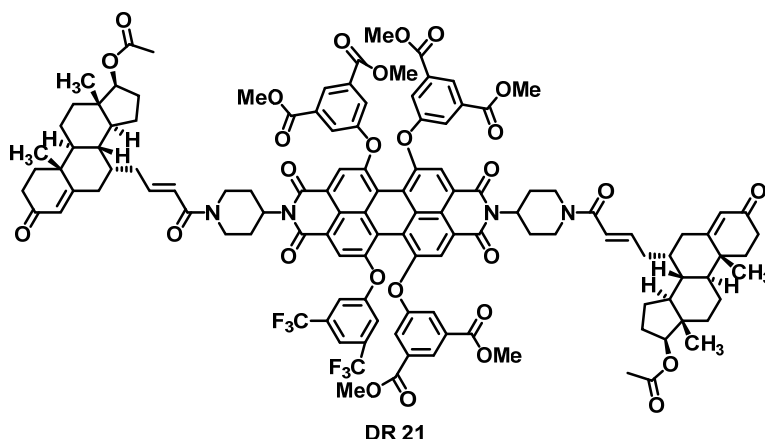
Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **positive** for **DR 20** with some cations and **negative** for the rest.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cations of 1:1 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye with Ag⁺, Ni²⁺, Sn²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Sc³⁺, Al³⁺, Hg²⁺, Au⁺, Co²⁺, Pd²⁺, Ir³⁺, Cu⁺ and Ru³⁺.

Introduction of testosterone derivative groups.**Synthesis:**

10 μl (0.05 mmol) of *N,N*-diisopropylethylamine were added to a stirred solution of (4-androsten-17 β -acetoxy-3-one-7 α -yl)but-2-enoic acid (11.8 mg, 0.03 mmol) dissolved in 700 μl of CH_2Cl_2 . Then, *N,N'*-bis(*N*-((4-androsten-17 β -acetoxy-3-one-7 α -yl)but-2-enyl)carbonylpiperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR19**) (20.0 mg, 0.01 mmol) dissolved in CH_2Cl_2 (1 ml) was added to the previous solution. Finally, 14.8 mg (0.03 mmol) of PyBOP was aggregated. The reaction mixture was stirred at 25 C for two hours. The solvent was removed under vacuum and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH}$, 50:3:3) to afford the perylene diimide.



N,N'-bis(((4-androsten-17B-acetoxy-3-one-7 α -yl)but-2-enyl)piperidine-1-carboxamide)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)-6,7,12-tris(dimethyl-5-oxisophthalate)perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (DR21) was obtained in 80% yield (25.0 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:3): 0.80.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2953 (C-H), 2919 (C-H), 2850 (C-H), 1730 (C=O), 1703 (C=O), 1665 (C=O), 1613, 1591, 1505, 1459, 1431, 1369, 1323, 1281, 1242, 1180, 1138, 1104, 1041, 1026, 999, 842, 804, 755, 720, 700.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.65 (s, 2H), 8.35 (s, 2H), 8.33 (s, 1H), 8.16 (s, 3H), 7.70 (s, 3H), 7.65 (s, 3H), 7.49 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.82–6.63 (m, 2H), 6.25 (d, *J* = 31.5 Hz, 2H), 5.68 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.84 (s, 2H), 4.62 (s, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.88 (d, *J* = 5.2 Hz, 18H), 3.18 (s, 2H), 2.70 (s, 6H), 2.39 (d, *J* = 19.5 Hz, 6H), 2.17 (s, 4H), 2.05 (s, 6H), 1.93 (s, 3H), 1.76 (s, 7H), 1.59 (s, 12H), 1.20 (d, *J* = 5.8 Hz, 12H), 0.85 (s, 12H).

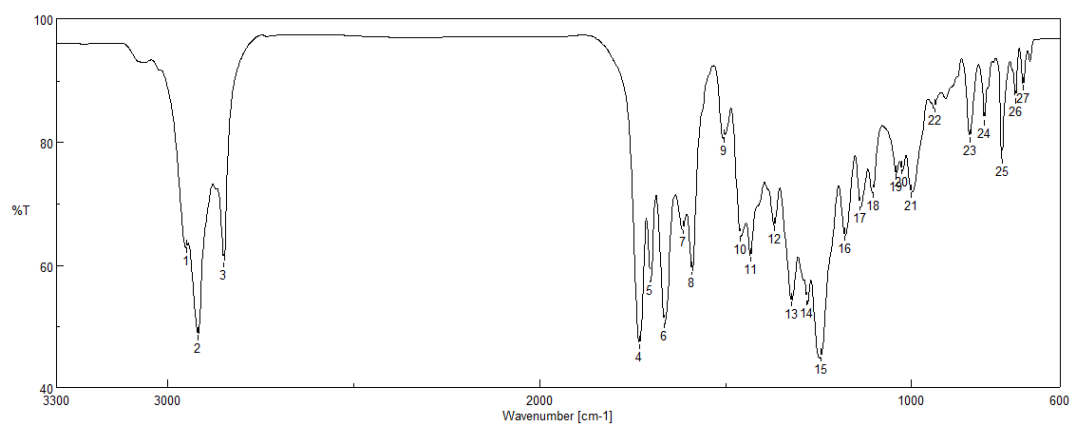
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ : 171.3, 165.0, 162.9, 155.7, 154.9, 132.7, 126.7, 126.4, 124.4, 124.1, 122.2, 82.5, 52.7, 52.1, 47.2, 46.3, 42.8, 38.8, 38.4, 36.6, 36.1, 35.8, 34.2, 29.9, 27.5, 23.0, 21.3, 20.9, 18.1, 14.3, 12.1.

MS (MALDI⁺, DCTB) *m/z*: calcd. for C₁₂₂H₁₁₈F₆N₄O₂₈Na ([M+Na]⁺): 2223.7729; found: 2223.7843.

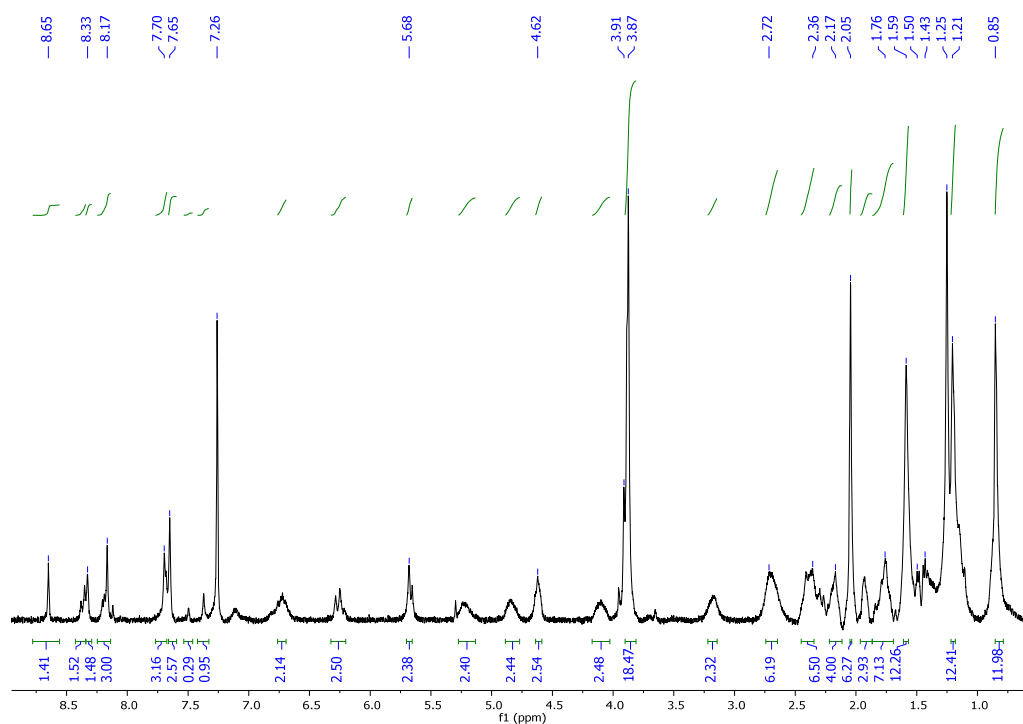
UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{\max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 539 (25500).

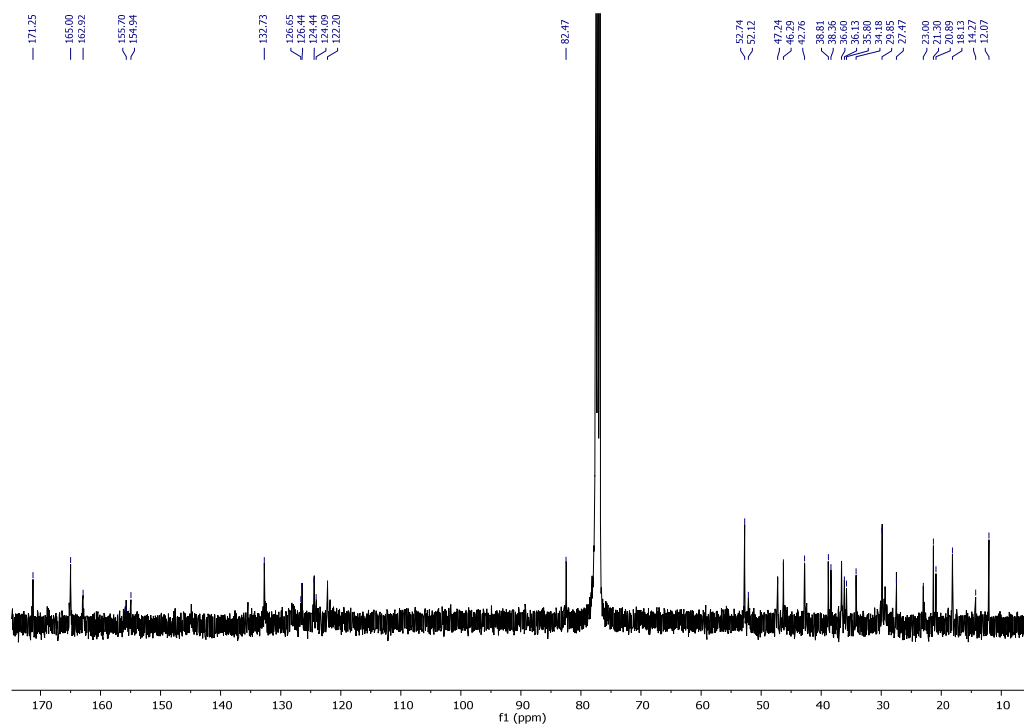
Emission (CH₂Cl₂ λ_{ex} =504 nm) λ_{\max} / nm: 584.

τ / ns (CHCl₃, χ^2): 6.12 (1.06).

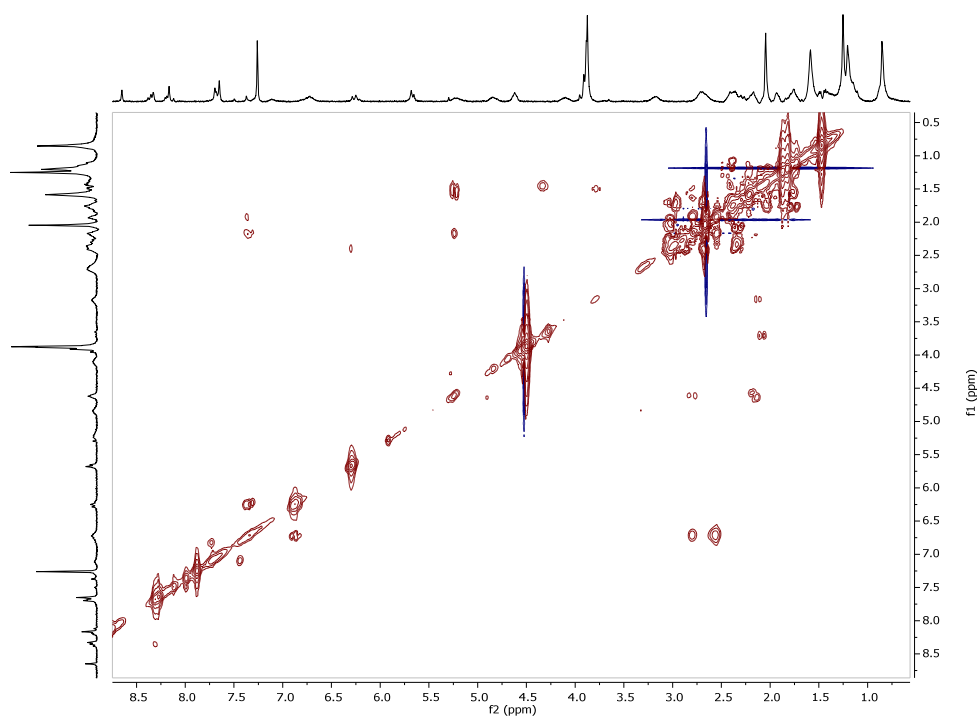
Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=413 \text{ nm}$): 0.86 ± 0.01 .

FT-IR (KBr)

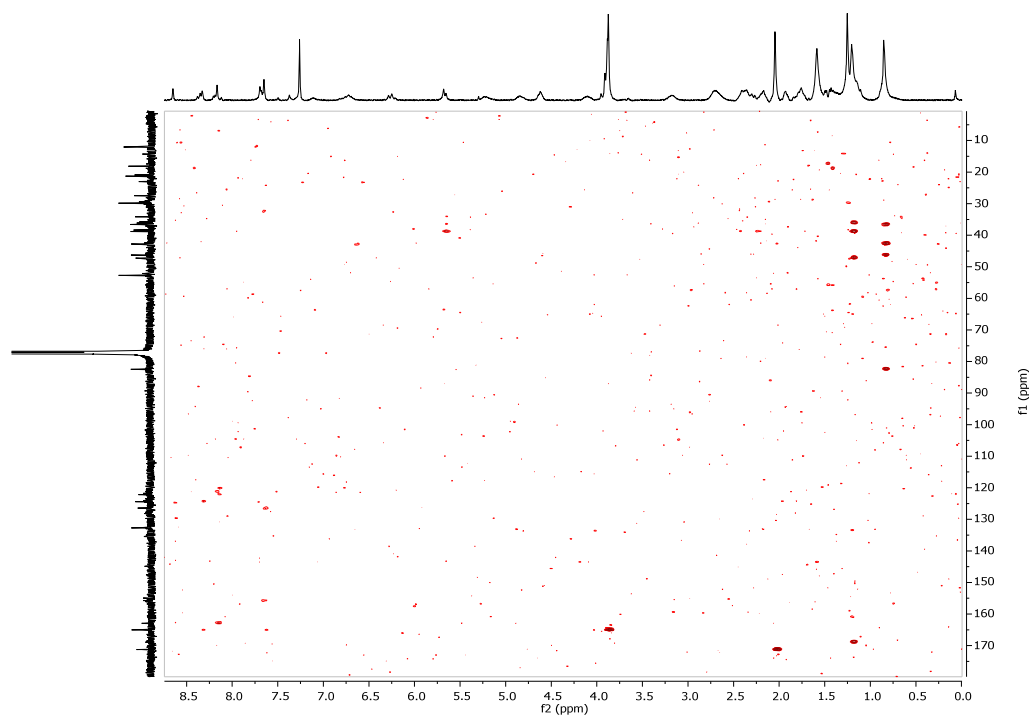
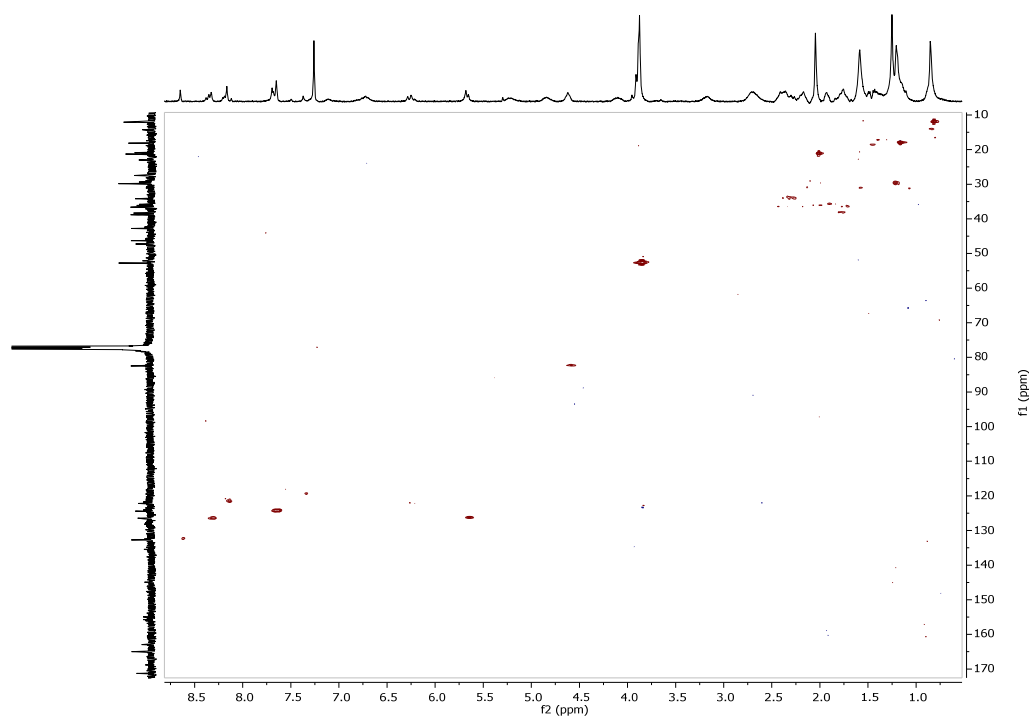
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

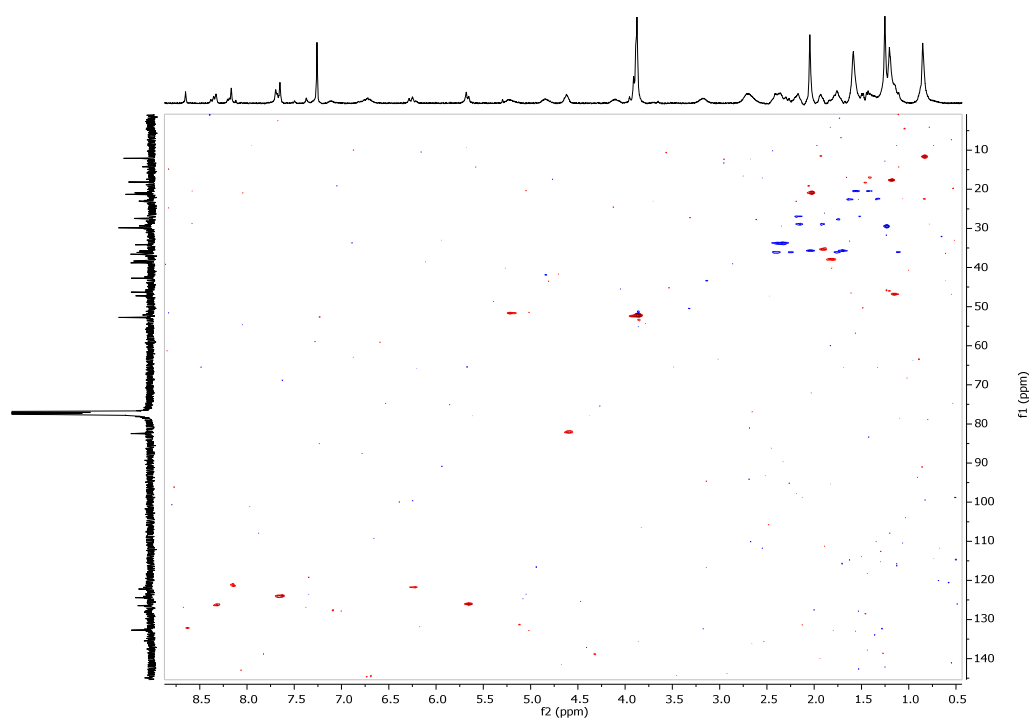


^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3)

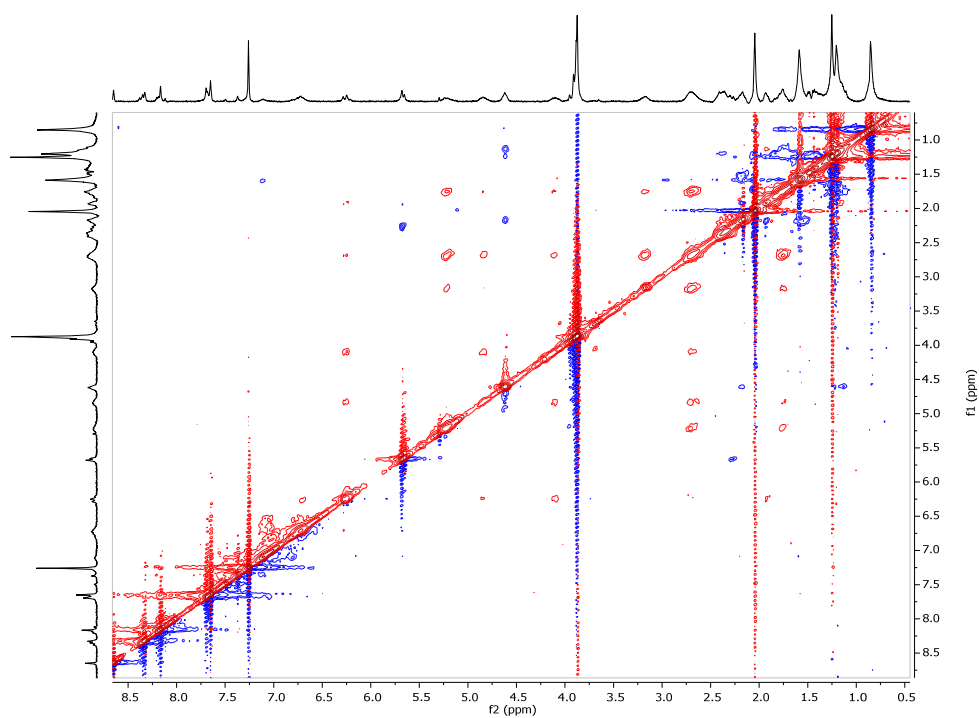


^1H - ^1H -COSY NMR (400 MHz, CDCl_3)

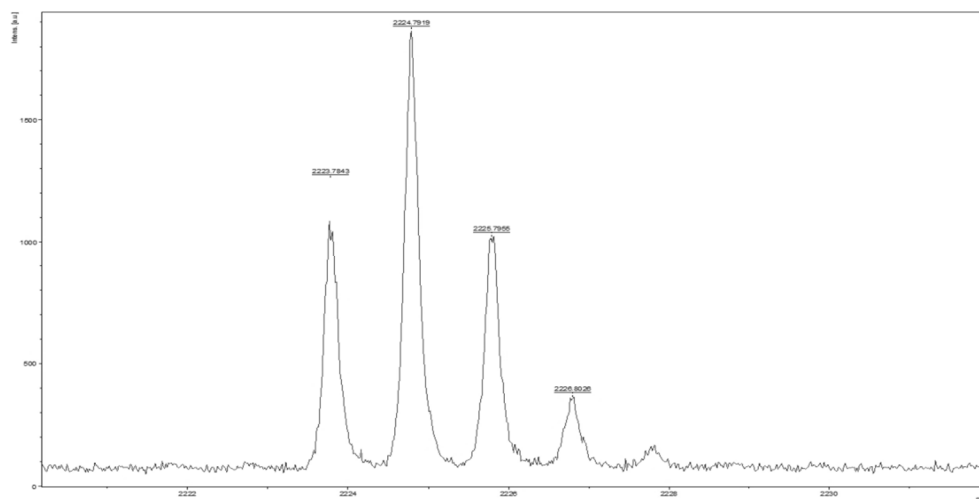
 **^1H - ^{13}C -HMBC NMR (400MHz, CDCl_3)** **^1H - ^{13}C -HMQC NMR (400MHz, CDCl_3)**



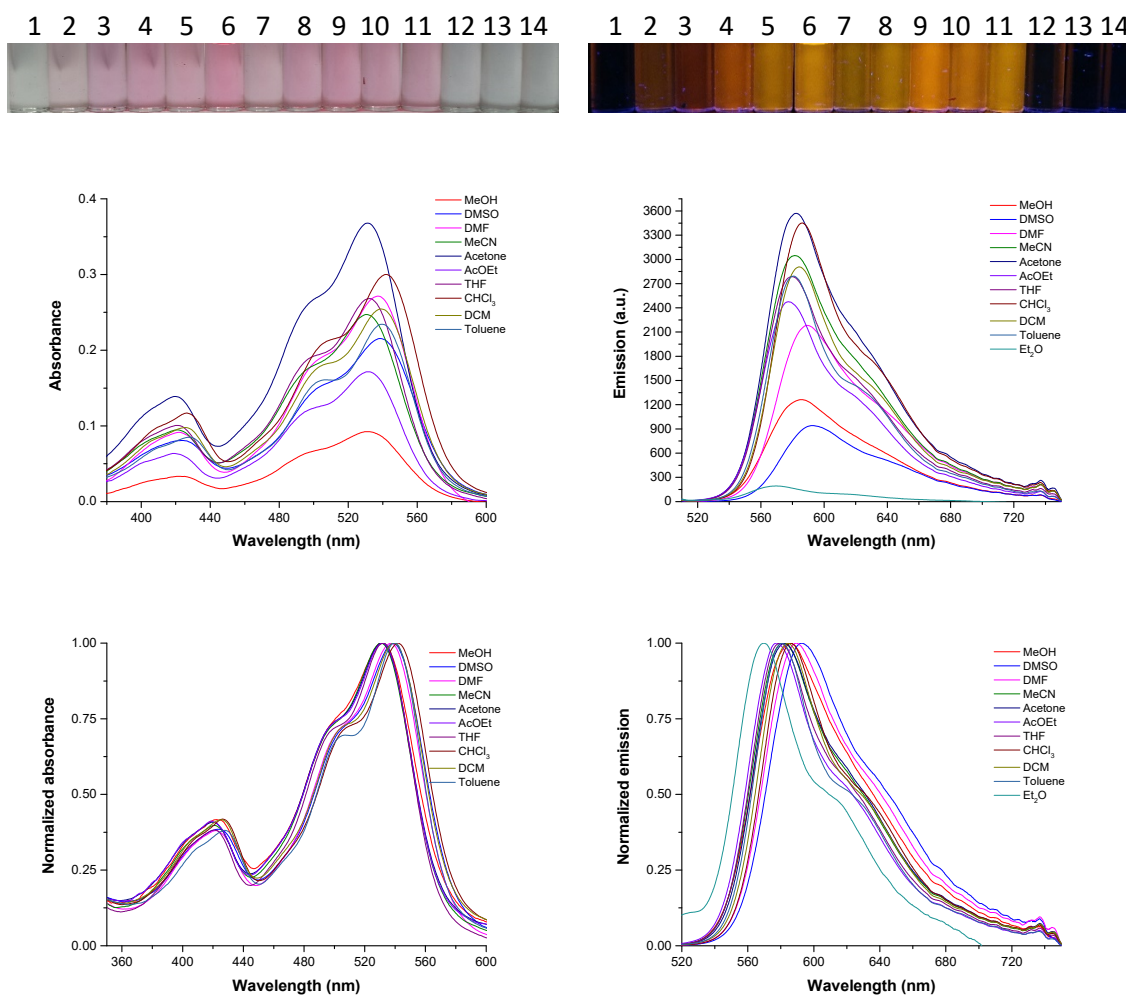
^1H - ^{13}C -HSQC NMR (400MHz, CDCl_3)



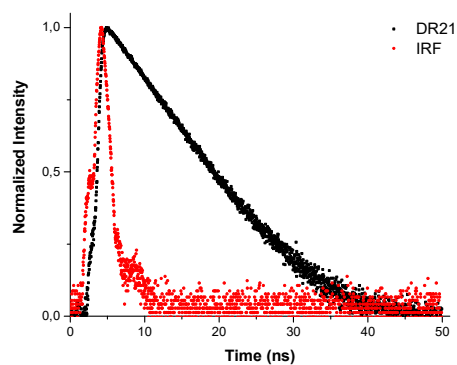
^1H - ^1H -NOESY NMR (400MHz, CDCl_3)



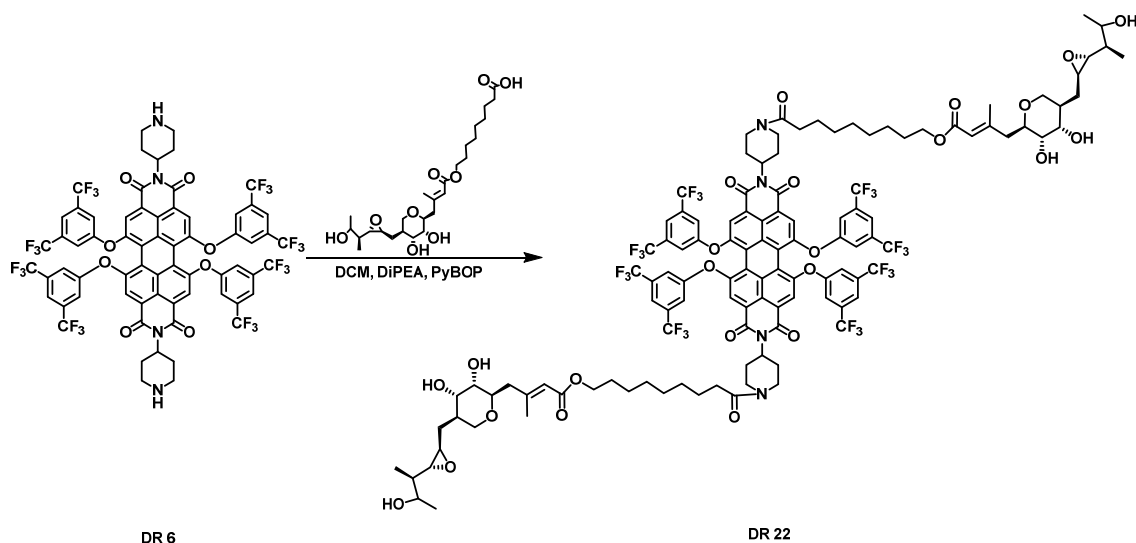
HR-MS (MALDI+, DCTB)



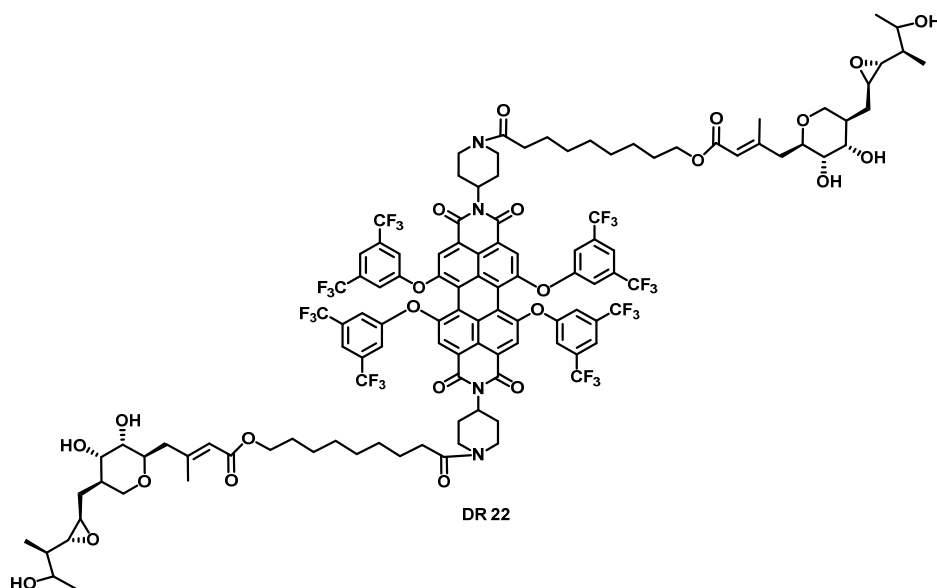
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 504 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 504 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 580 nm.

Introduction of mupirocin derivative groups.**Synthesis:**

10 μl (0.05 mmol) of *N,N*-diisopropylethylamine were added to a stirred solution of mupirocin 92% (13.6 mg, 0.03 mmol) dissolved in 700 μl of CH_2Cl_2 . Then, *N,N'*-bis(piperidin-4-yl)-1,6,7,12-tetrakis(3,5-bis(trifluoromethyl)phenoxy)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR6**) (20.0 mg, 0.01 mmol) dissolved in CH_2Cl_2 (1 ml) was added to the previous solution. Finally, 14.2 mg (0.03 mmol) of PyBOP was aggregated. The reaction mixture was stirred at 25 C for two hours. The solvent was removed under vacuum and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH}$, 50:3:3) to afford the perylene diimide.



***N,N'*-Bis(*N*-(mupirocin)carbonylpiperidin-4-yl)-1-(3,5-bis(trifluoromethyl)-phenoxy)-6,7,12-tris(dimethyl-5-oxyisophthalate)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR22)** was obtained in 56% yield (18.6 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.27.

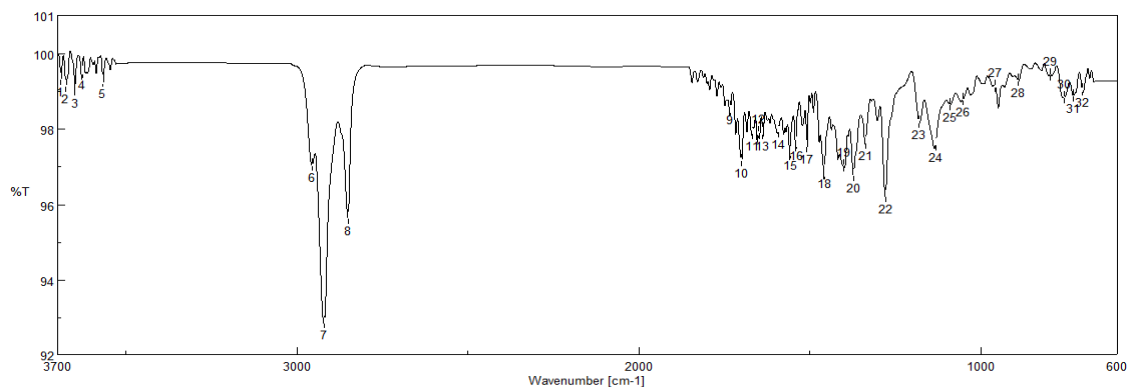
FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3647 (O-H), 2954 (C-H), 2919 (C-H), 2850 (C-H), 1730 (C=O), 1699 (C=O), 1668 (C=O), 1650, 1637, 1591, 1557, 1508, 1455, 1400, 1372, 1337, 1278, 1180, 1132, 1089, 1051, 957, 890 797,

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.19 (s, 4H), 7.61 (s, 4H), 7.29 (s, 8H), 5.72 (d, *J* = 13.4 Hz, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.80 (d, *J* = 10.4 Hz, 2H), 4.07–4.03 (m, 6H), 3.84 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.74 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 3.65 (s, 1H), 3.54 (dd, *J* = 11.7 y 2.9 Hz, 2H), 3.44 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.35–3.26 (m, 1H), 3.14 (t, *J* = 12.6 Hz, 3H), 2.79 (td, *J* = 5.6 y 2.4 Hz, 2H), 2.69 (dd, *J* = 7.9 y 2.3 Hz, 2H), 2.62-2.53 (m, 6H), 2.35–2.26 (m, 6H), 2.19 (s, 9H), 2.02 (s, 6H), 1.71 (t, *J* = 6.5 Hz, 9H), 1.47 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.41 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.31 (s, 18H), 1.20 (d, *J* = 6.2 Hz, 9H), 0.95 (dd, *J* = 14.1 y 7.1 Hz, 6H).

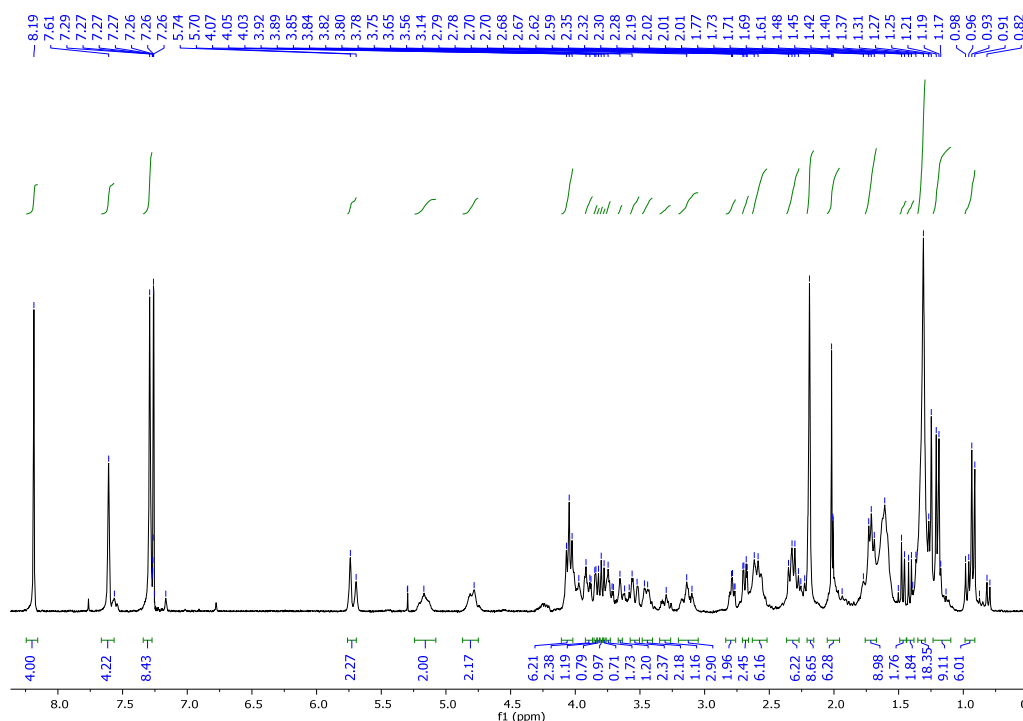
MS (MALDI⁺, DCTB) *m/z*: calc. for C₁₁₈H₁₂₀F₂₄N₄O₂₄Na ([M+Na]⁺): 2455.7801; exp.: 2455.7749.

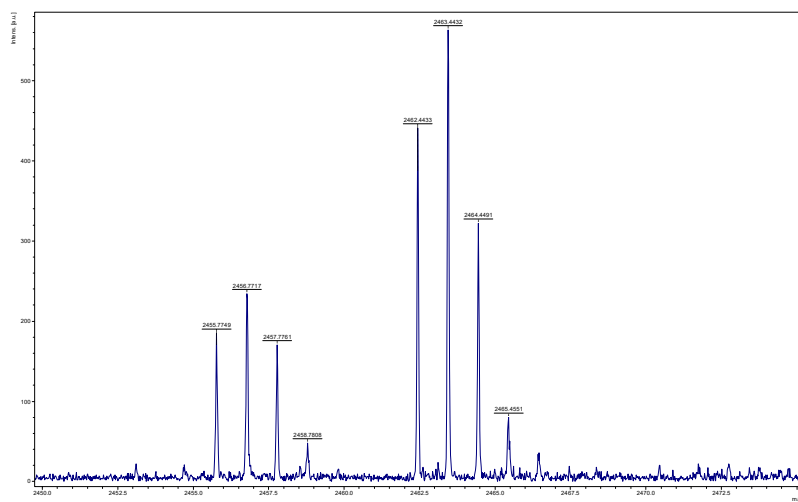
UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 535 (25700).

Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=497 nm) λ_{max} / nm: 580.

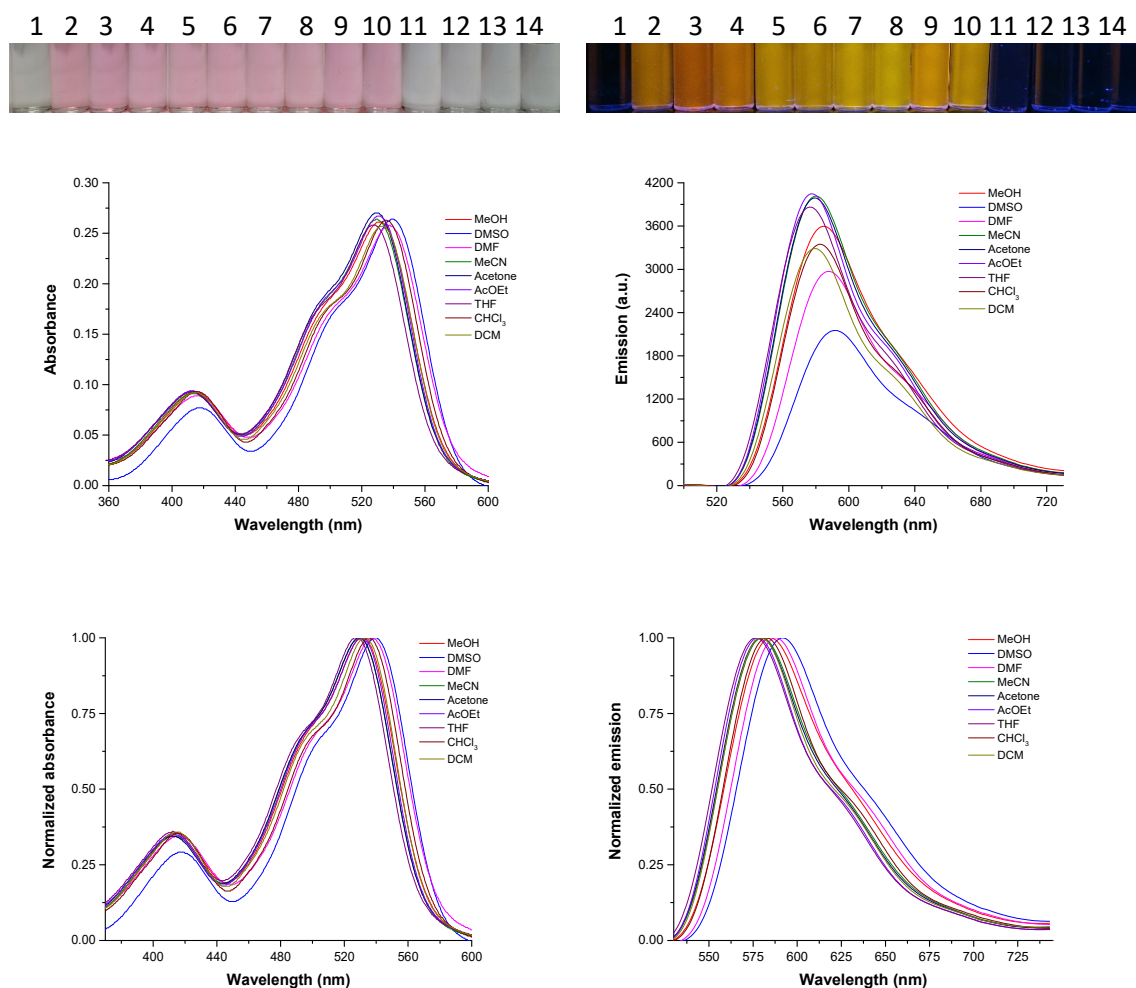
τ / nm (CHCl_3 , χ_2): 5.35 (1.07). Φ (CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{ex}}=413 \text{ nm}$): 0.62 ± 0.01 .

FT-IR (KBr)

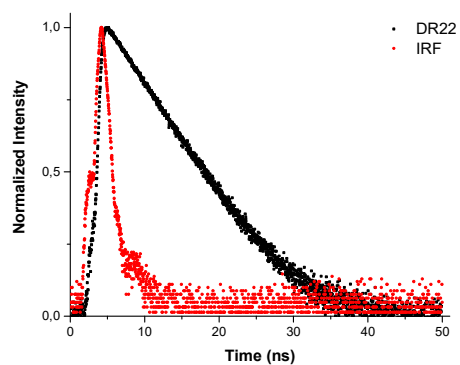
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



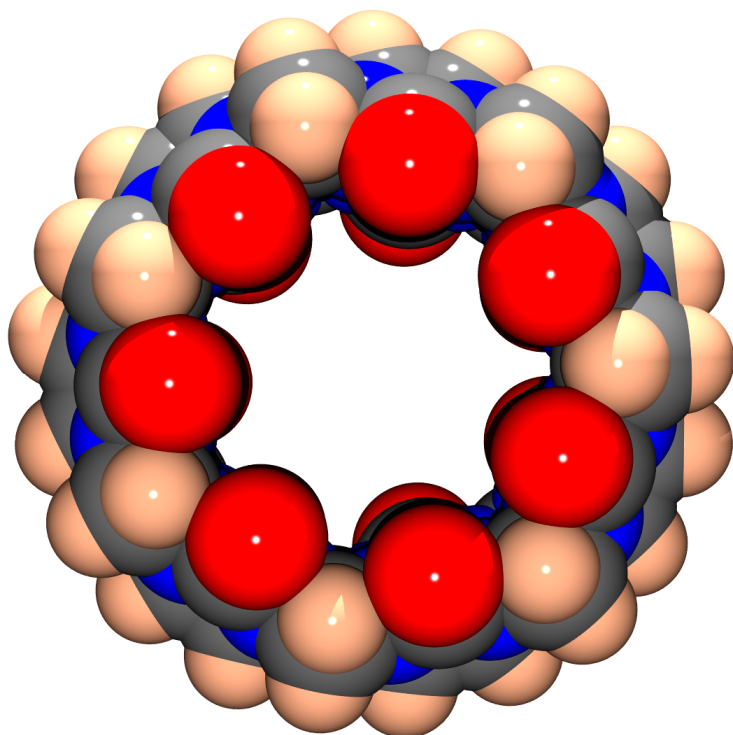
HR-MS (MALDI+, DCTB)



Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 497 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 497 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 570 nm.

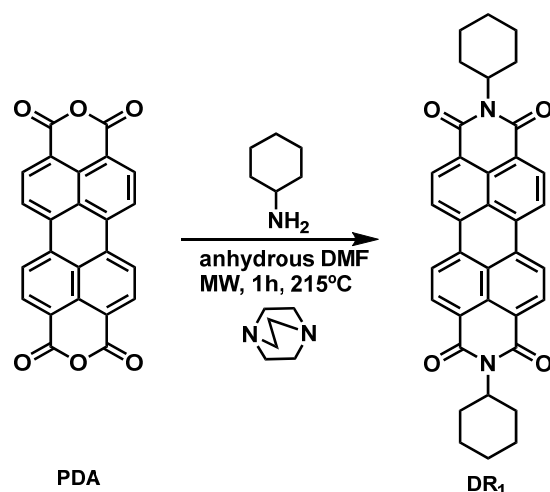


CHAPTER II.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES

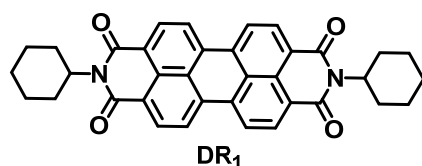
Chapter II: “Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía y estudio de asociación.”

Synthesis of precursor DR1.



Synthesis:

Perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic dianhydride (**PDA**) (0.50 g, 1.27 mmol) and 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO, 1.00 g, 8.92 mmol) were dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then, 20 ml of anhydrous DMF and cyclohexylamine (0.78 g, 6.50 mmol) were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 215°C. A colour change of the reaction mixture from orange to very dark red was observed. The reaction was poured over 50 ml of aqueous HCl 1M solution, kept stirring for one hour and, finally, filtered and washed with distilled water. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 5:2) and the product was obtained as a red solid.



N,N'-Bis(cyclohexyl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR1) was obtained in 71% yield (0.69 g, 0.90 mmol).

MP (°C): > 350°C.

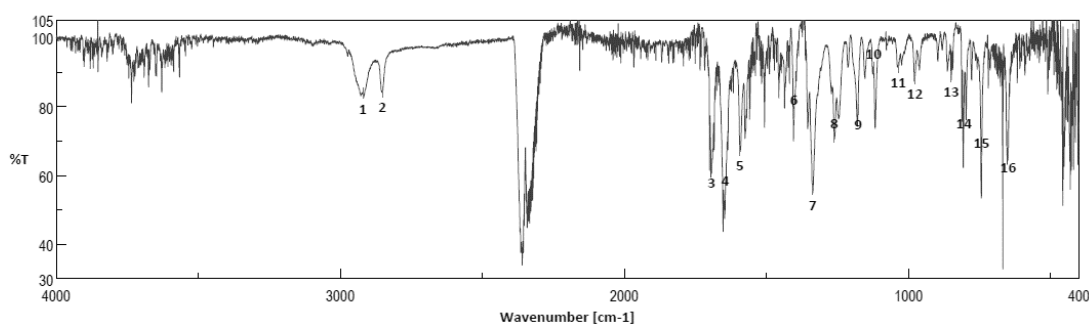
R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.45.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 2924 (C-H, aliphatic), 2852 (C-H, aliphatic), 1691 (C=O, carbamate), 1651 (C=O, imide), 1594 (C=C), 1407, 1338 (C-N), 1260, 1178, 1119, 1031, 972, 809, 743, 650 (fingerprint region).

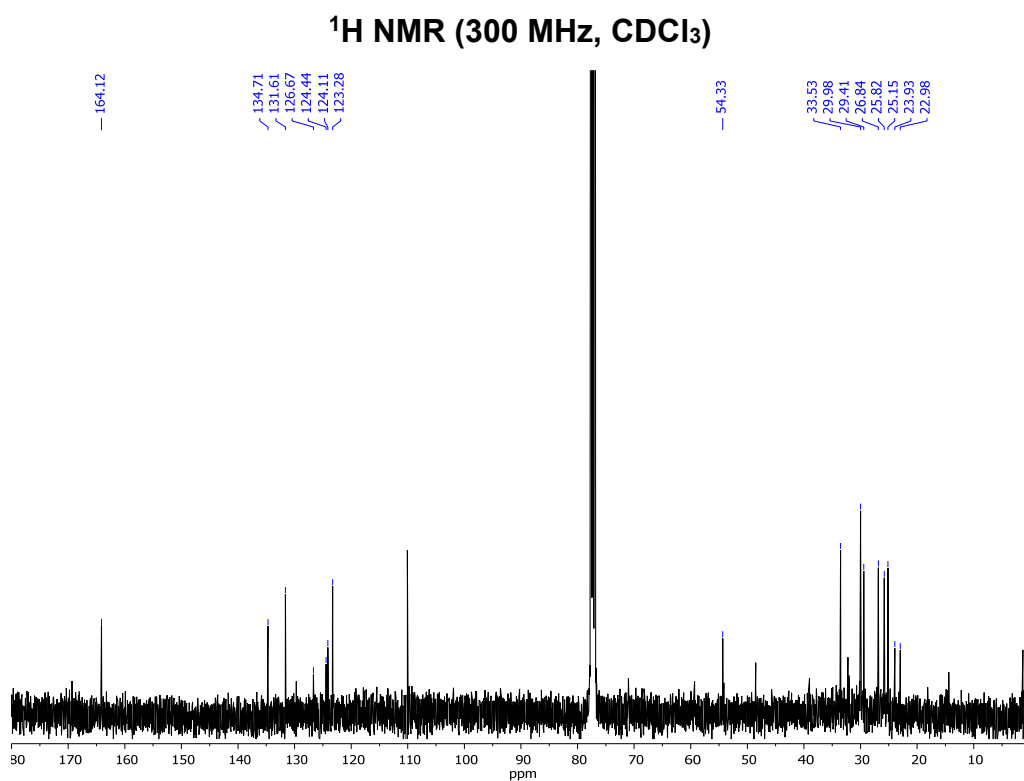
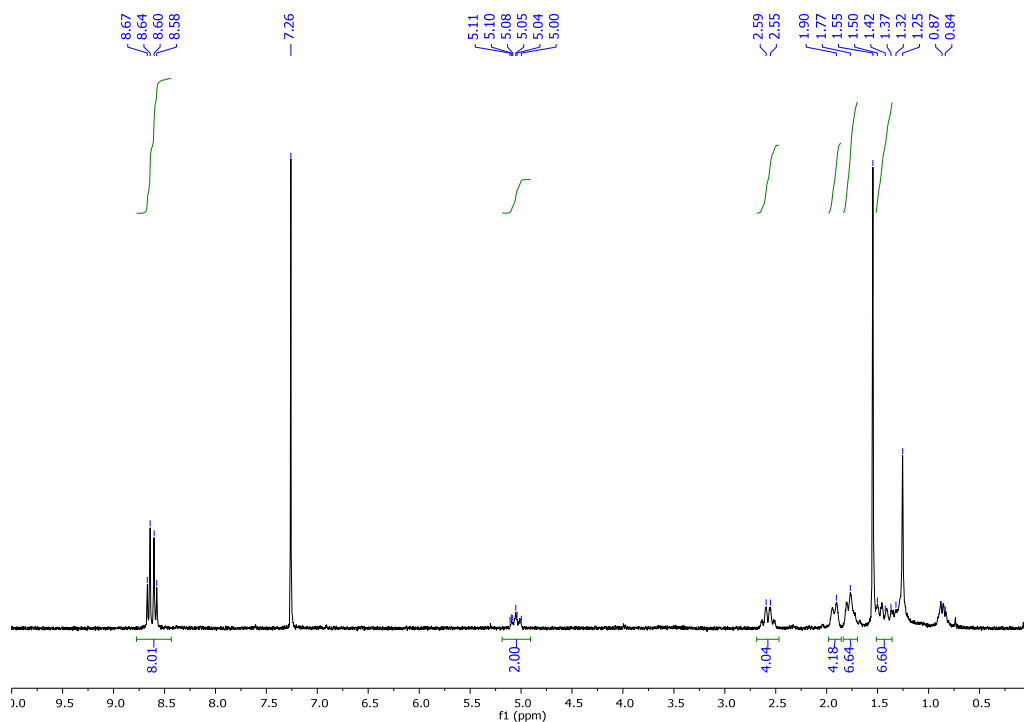
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H, Ar-H), 8.60 (d, 4H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 5.12 – 4.99 (m, 2H, N-CH), 2.66 – 2.50 (m, 4H, CH_2), 1.97 – 1.87 (m, 4H, CH_2), 1.83 – 1.70 (m, 6H, CH_2), 1.54 – 1.34 (m, 6H, CH_2).

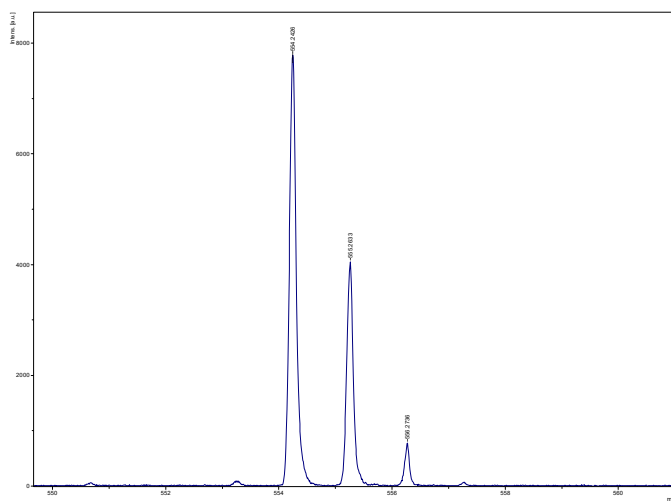
^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 164.1 (C=O), 134.7 (C_{Ar}), 131.6 (CH), 126.7 (C_{Ar}), 124.4 (C_{Ar}), 124.1 (C_{Ar}), 123.3 (CH), 54.3 (N-CH), 33.5 (CH_2), 29.9 (CH_2), 29.4 (CH_2), 26.8 (CH_2), 25.8 (CH_2), 25.2 (CH_2), 23.9 (CH_2), 23.0 (CH_2).

HR-MS (MALDI+, DCTB): m/z calcd. for $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$ ($[\text{M}]^+$): 554.2200; found: 554.2426.

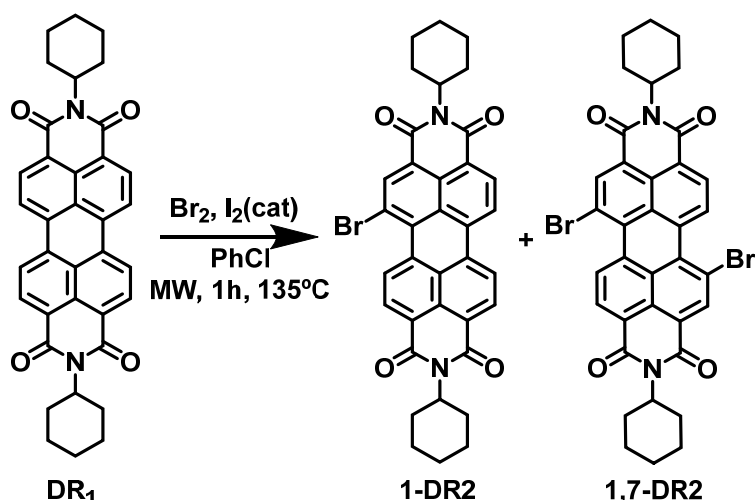


FT-IR (KBr)





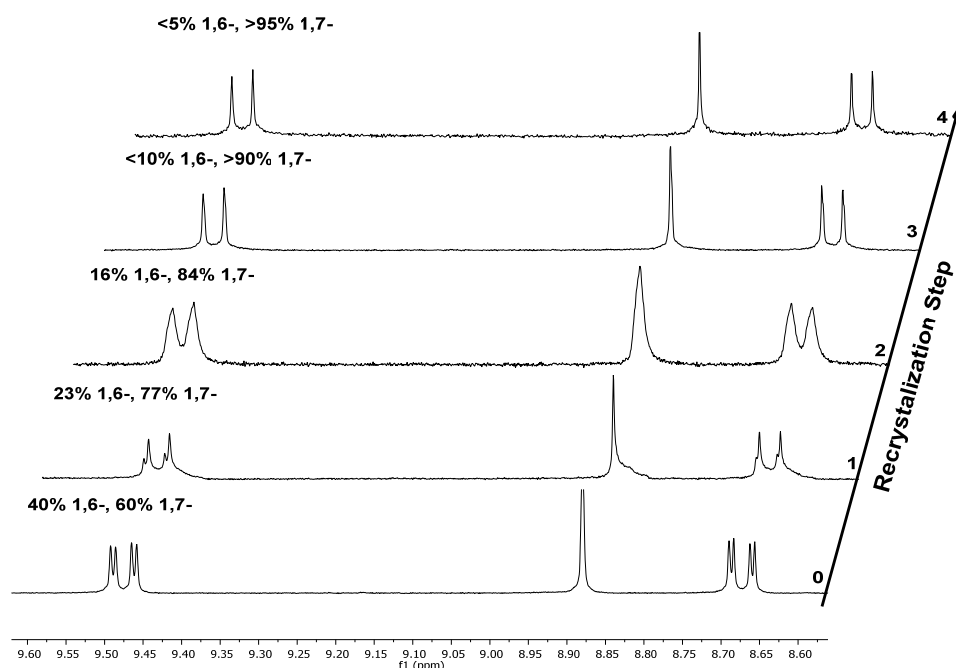
HR-MS (MALDI+, DCTB)

Bromination at PDI bay positions.**Synthesis:**

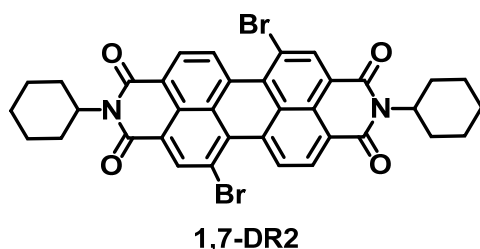
N,N'-Bis(cyclohexyl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR1**) (352.2 mg, 0.64 mmol) was dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then, 20 ml of chlorobenzene, bromine (0.23 ml, 4.44 mmol) and a catalytical amount of iodine were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 135°C. The mixture was extracted with CH₂Cl₂, washed with saturated Na₂SO₃ aqueous solution and distilled water, and the combined organic layers were dried with anhydrous Na₂SO₄. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, *n*-hexane:CH₂Cl₂; 1:1 to CH₂Cl₂:MeCN; 5:1) to afford the monosubstituted perylene diimide (260.6 mg, 0.26 mmol, 41%) as a red solid and a 4:6 mixture of 1,6- and 1,7 perylene diimide regioisomers (451.5 mg). This mixture was subjected to a repetitive recrystallization process (four cycles, solvent CH₂Cl₂:MeOH, 1:1; monitored by ¹H-NMR), yielding the 1,7 regioisomer as a red crystal (144.4 mg, 0.20 mmol, 32%).

Table 1. Recrystallization process of the disubstituted regioisomeric mixture.

step	m _{Initial} / mg	m _{Final} / mg	Recover (%)	Time / weeks
1	451.5	352.1	78.0	2
2	352.1	189.7	54.9	2
3	189.7	161.8	85.3	2
4	161.8	144.4	89.3	2



Stacked $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) spectra of each step of the recrystallization process.



***N,N'*-Bis(cyclohexyl)-1,7-dibromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (1,7-DR2)** was obtained as a red solid in 32% yield (144.4 mg, 0.20 mmol).

MP ($^{\circ}\text{C}$): > 350 $^{\circ}\text{C}$.

R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$, 50:1): 0.70.

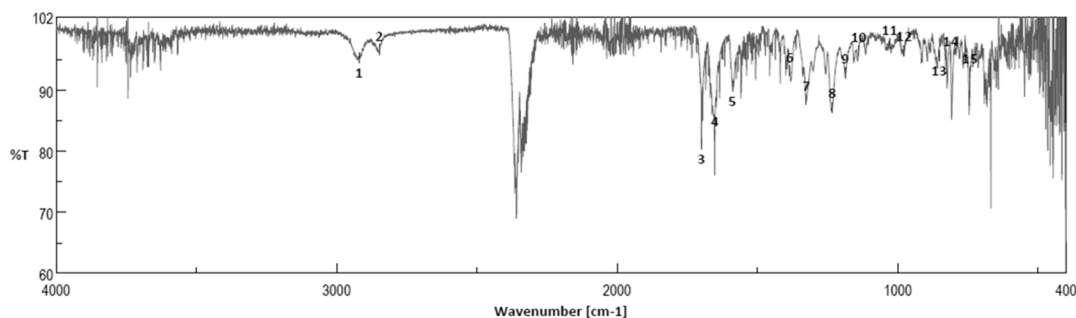
FT-IR (KBr, cm^{-1}): 2921 (C-H, aliphatic), 2848 (C-H, aliphatic), 1700 (C=O, carbamate), 1651 (C=O, imide), 1589 (C=C), 1385, 1326 (C-N), 1233, 1188, 1139, 1029 (C-Br), 977, 853, 811, 742 (fingerprint region).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 9.48 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, Ar-H), 8.87 (s, 2H, Ar-H), 8.68 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, Ar-H), 5.13 – 4.92 (m, 2H, N-CH), 2.64 – 2.46 (m, 4H,

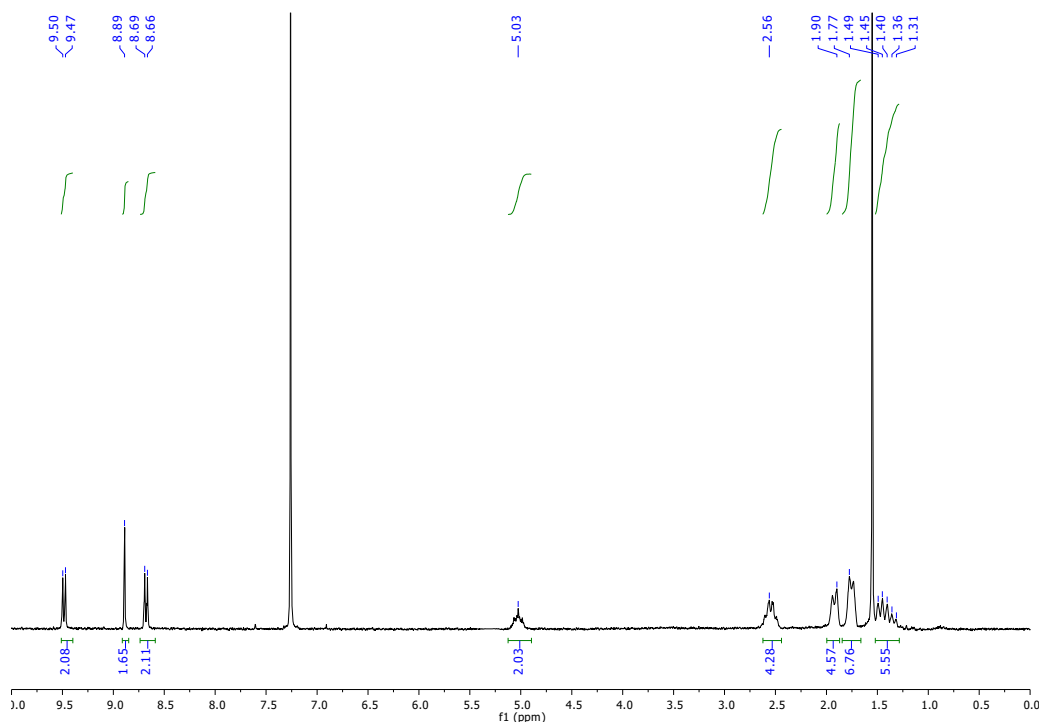
CH₂), 1.98 – 1.87 (m, 4H, CH₂), 1.82 – 1.69 (m, 6H, CH₂), 1.52 – 1.29 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 163.8 (C), 163.4 (C), 162.9 (C), 162.5 (C), 138.2 (C), 138.1 (C), 133.1 (C), 132.9 (C), 132.7 (C), 132.4 (C), 130.1 (C), 129.9 (C), 129.3 (C), 128.6 (CH), 128.2 (C), 127.1 (C), 124.0 (C), 123.8 (C), 123.4 (C), 123.1 (C), 121.6 (C), 120.8 (CH), 54.4 (CH), 29.2 (CH₂), 26.7 (CH₂), 25.5 (CH₂).

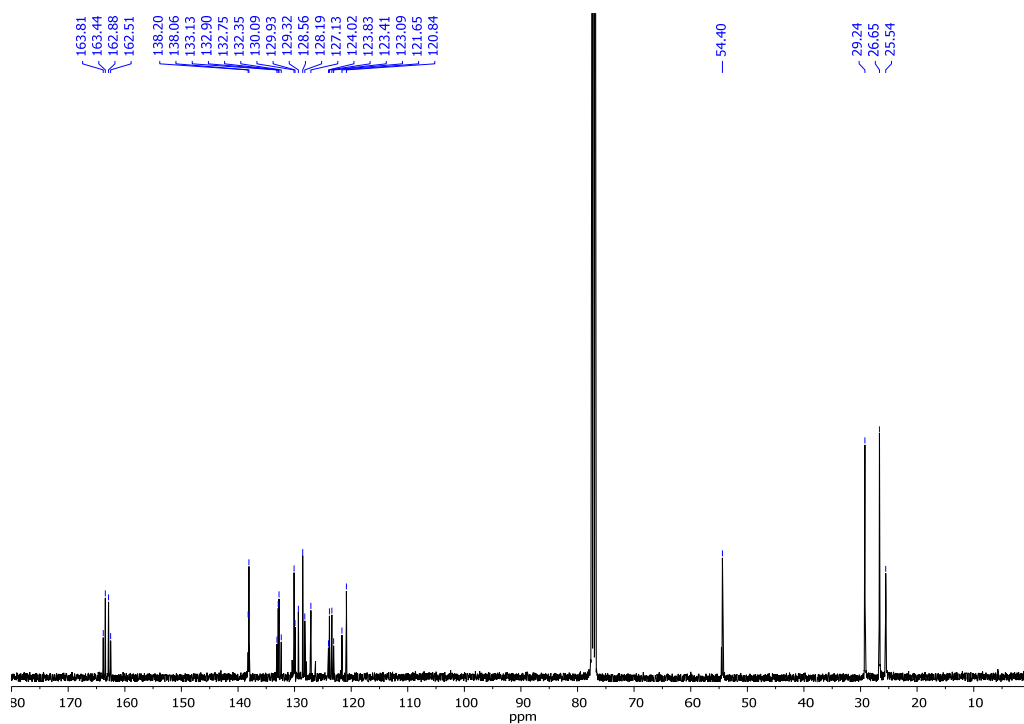
HR-MS (MALDI+, DCTB): *m/z* calcd. for C₃₆H₂₈Br₂N₂O₄ ([M]⁺): 710.0410; found: 710.0403.



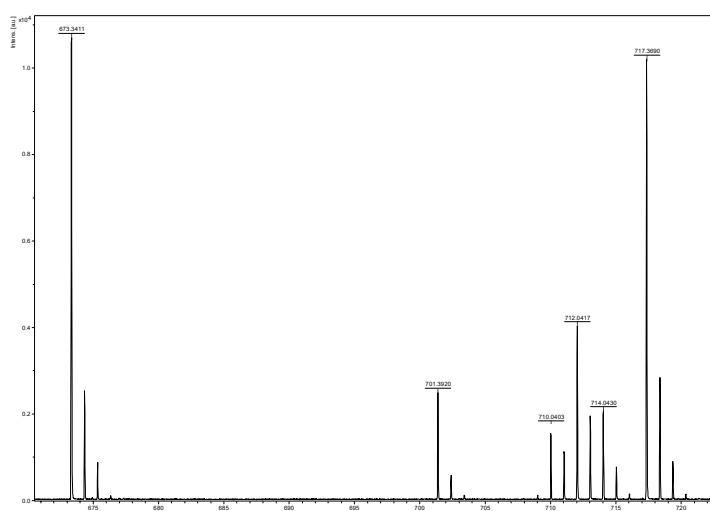
FT-IR (KBr)



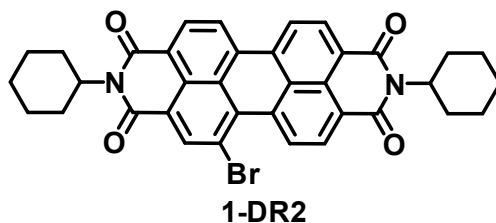
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI+, DCTB)



***N,N'*-Bis(cyclohexyl)-1-bromoperylene-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide (1-DR2)** was obtained as a red solid in 41% yield (260.6 mg, 0.26 mmol).

MP (°C): > 350°C.

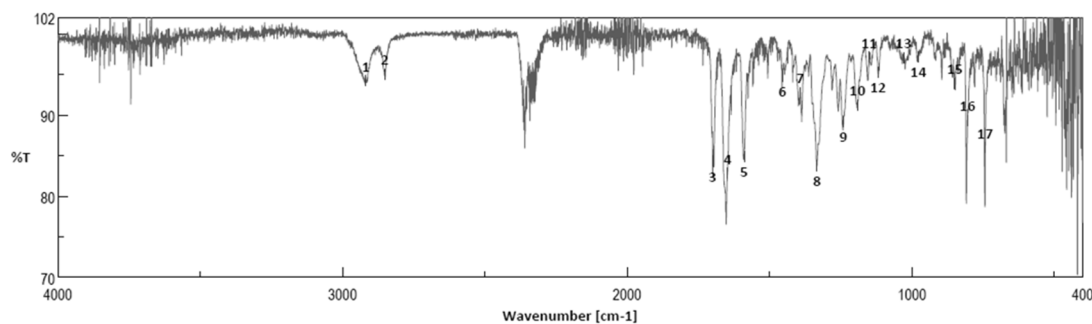
R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:1): 0.57.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2917 (C-H, aliphatic), 2851 (C-H, aliphatic), 1700 (C=O, carbamate), 1648 (C=O, imide), 1589 (C=C), 1454, 1392, 1333 (C-N), 1240, 1192, 1150, 1119, 1029 (C-Br), 977, 849, 804, 742 (fingerprint region).

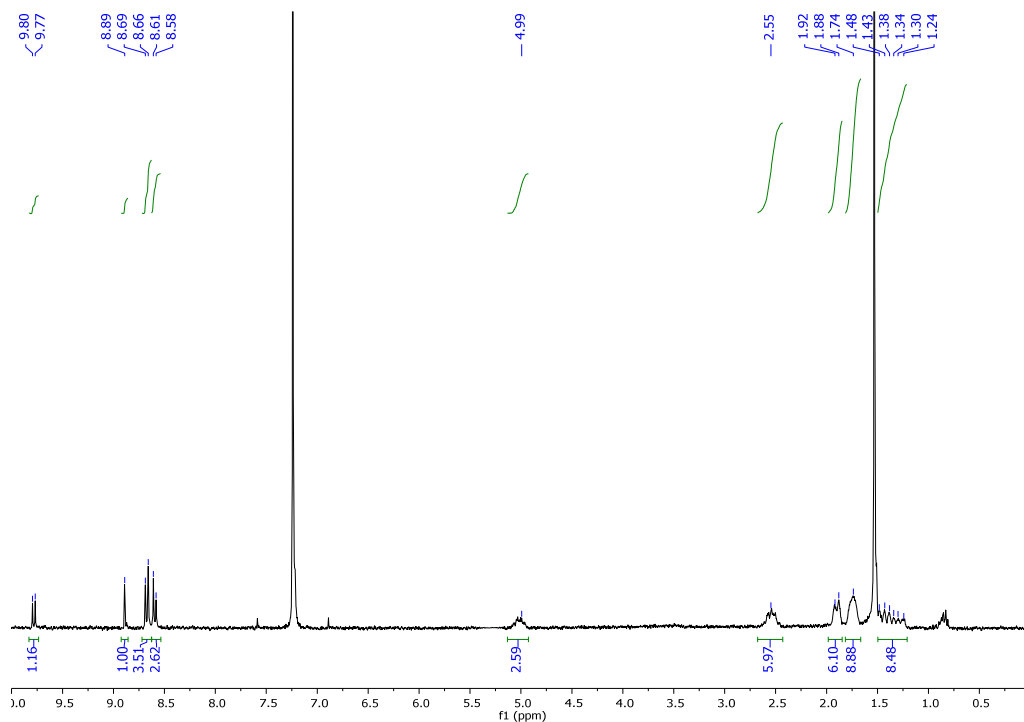
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.78 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 8.89 (s, 1H, Ar-H), 8.67 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 8.67 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 8.60 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 5.13 – 4.93 (m, 2H, N-CH), 2.66 – 2.43 (m, 4H, CH₂), 1.98 – 1.85 (m, 4H, CH₂), 1.81 – 1.66 (m, 6H, CH₂), 1.50 – 1.21 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 164.0 (C), 163.8 (C), 163.7 (C), 162.8 (C), 139.2 (C), 134.0 (C), 133.6 (C), 133.6 (C), 133.6 (C), 131.1 (CH), 130.6 (C), 128.9 (C), 128.8 (C), 128.2 (C), 128.1 (C), 127.1 (C), 124.2 (C), 124.1 (C), 123.8 (CH), 123.8 (C), 123.4 (C), 123.1 (CH), 121.0 (C), 54.4 (CH), 54.2 (CH), 29.9 (CH₂), 29.3, (CH₂) 29.2 (CH₂), 26.7 (CH₂), 26.7 (CH₂), 25.6 (CH₂).

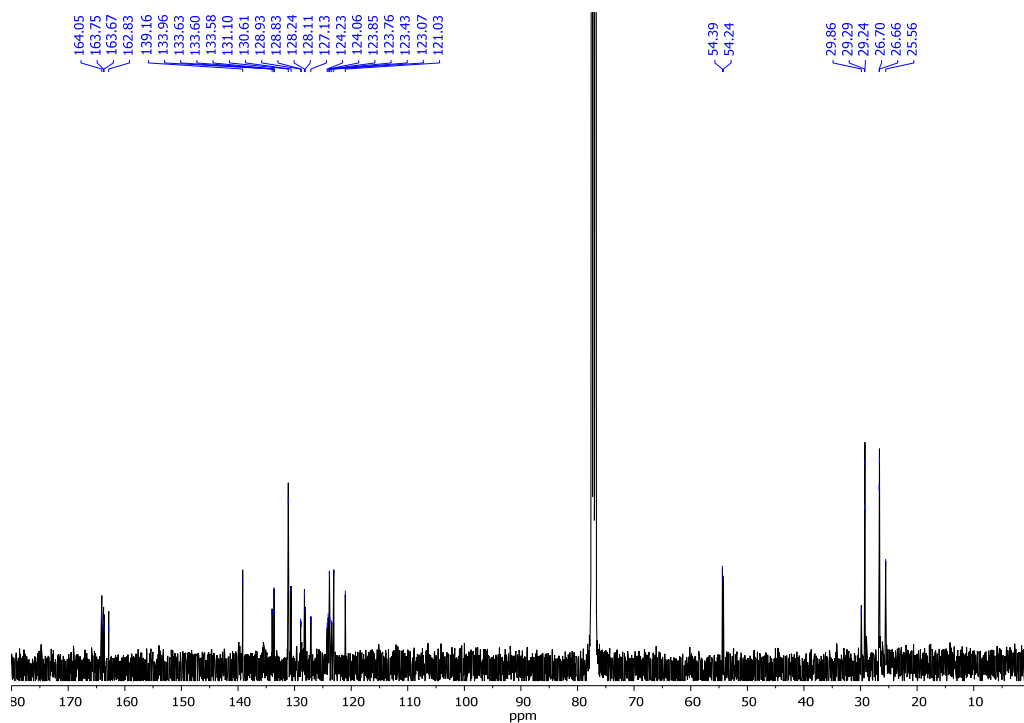
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₃₆H₂₉BrN₂O₄ ([M]⁻): 632.1305; found: 632.1246.



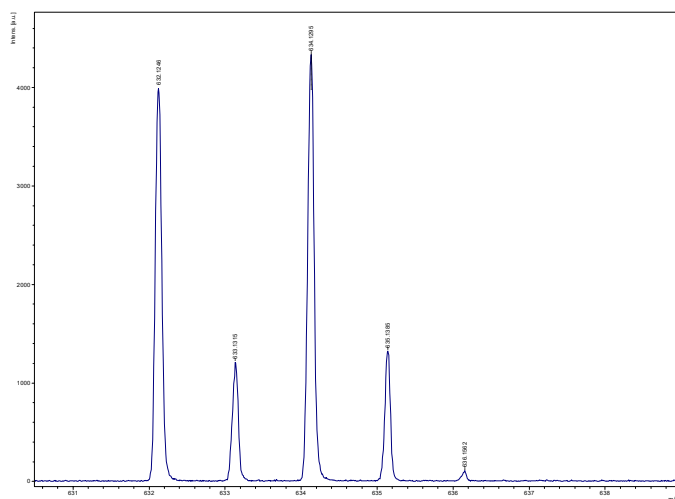
FT-IR (KBr)



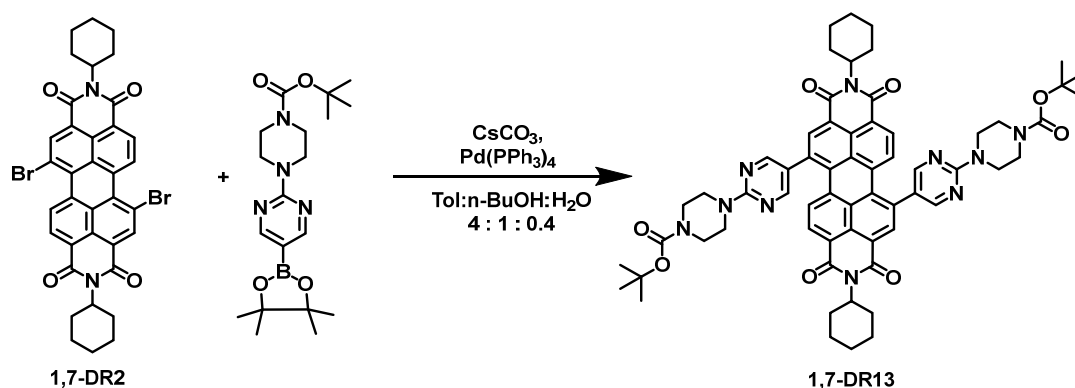
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



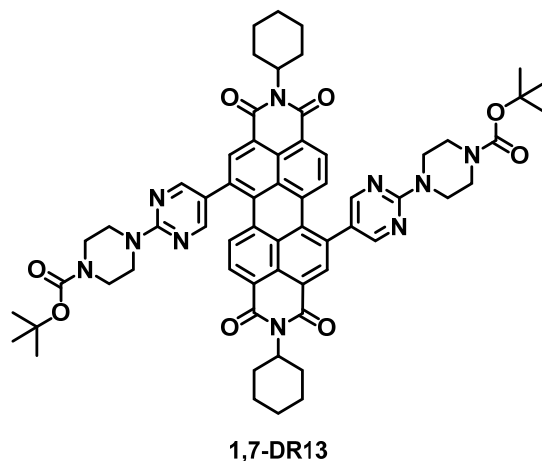
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI-, DIT)

Suzuki coupling of PDI with boronic esters.**Synthesis:**

N,N'-bis(cyclohexyl)-1,7-dibromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**1,7-DR2**) (0.12 g, 0.17 mmol) was dried in a schlenk flask under inert atmosphere. Then, 23 ml of toluene:*n*-butanol:water (4:1:0.4) were added. Finally, Pd(PPh₃) (19.6 mg, 0.017 mmol), cesium carbonate (160.0 mg, 0.50 mmol) and 2-(4-(*N*-*tert*-butyl-1-carboxylate)piperazin-1-yl)pyrimidine-5-boronic acid pinacol ester (0.13 g, 0.34 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux (95 C) for 24 hours. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 5:1) to afford the perylene diimide as a purple solid.



N,N'-Bis(cyclohexyl)-1,7-di(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidine)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**1,7-DR13**) was obtained in 78% yield (142.4 mg, 0.13mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.45.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2972 (C-H, aromatic), 2926 (C-H, aliphatic), 2857 (C-H, aliphatic), 1696 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1588 (C=C), 1515, 1449, 1414 (CH₂-N-), 1396 (C-N), 1365, 1344, 1323, 1240, 1163, 1131 (C-N), 996, 971, 947, 856, 811, 797, 758, 852 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.46 (s, 6H, Ar-H), 8.24 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 8.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 5.08 – 4.95 (m, 2H, N-CH), 3.99 – 3.84 (m, 8H, N-CH₂), 3.66 – 3.49 (m, 8H, N-CH₂), 2.63 – 2.44 (m, 4H, CH₂), 1.98 – 1.86 (m, 4H, CH₂), 1.83 – 1.68 (m, 6H, CH₂), 1.51 (s, 18H, CH₃), 1.50 – 1.23 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 164.3 (C), 163.8 (C), 163.7 (C), 160.8 (C), 158.1 (CH), 155.0 (C), 134.9 (CH), 134.9 (CH), 134.8 (CH), 132.3 (C), 129.9 (CH), 129.6 (C), 129.3 (CH), 128.1 (C), 124.5 (C), 123.5 (C), 122.7 (C), 80.3 (C), 54.2 (CH₂), 43.9 (CH), 29.3 (CH₃), 28.6 (CH₂), 26.7 (CH₃), 24.9 (CH₂).

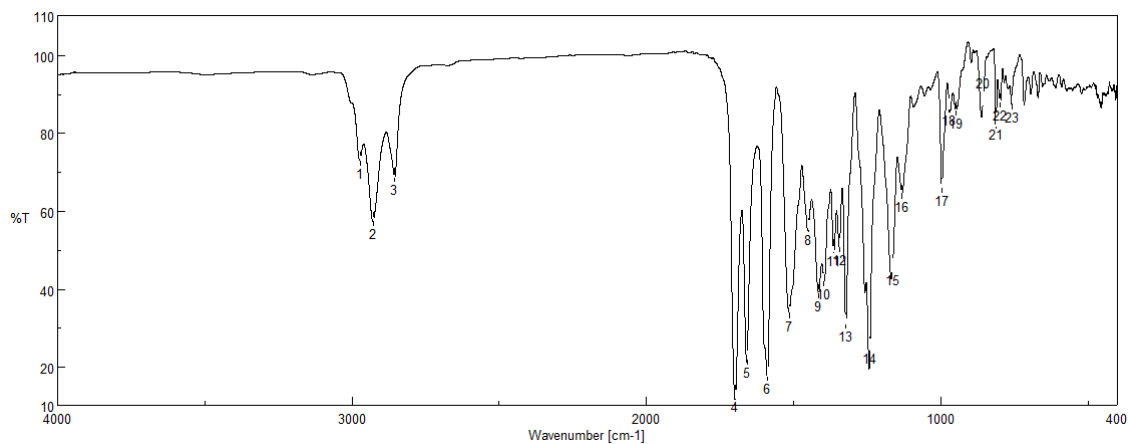
HR-MS (MALDI-, DCTB): *m/z* calcd. for C₆₂H₆₆N₁₀O₈ ([M]⁻): 1078.5060; found: 1078.5146.

UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 580 (93194).

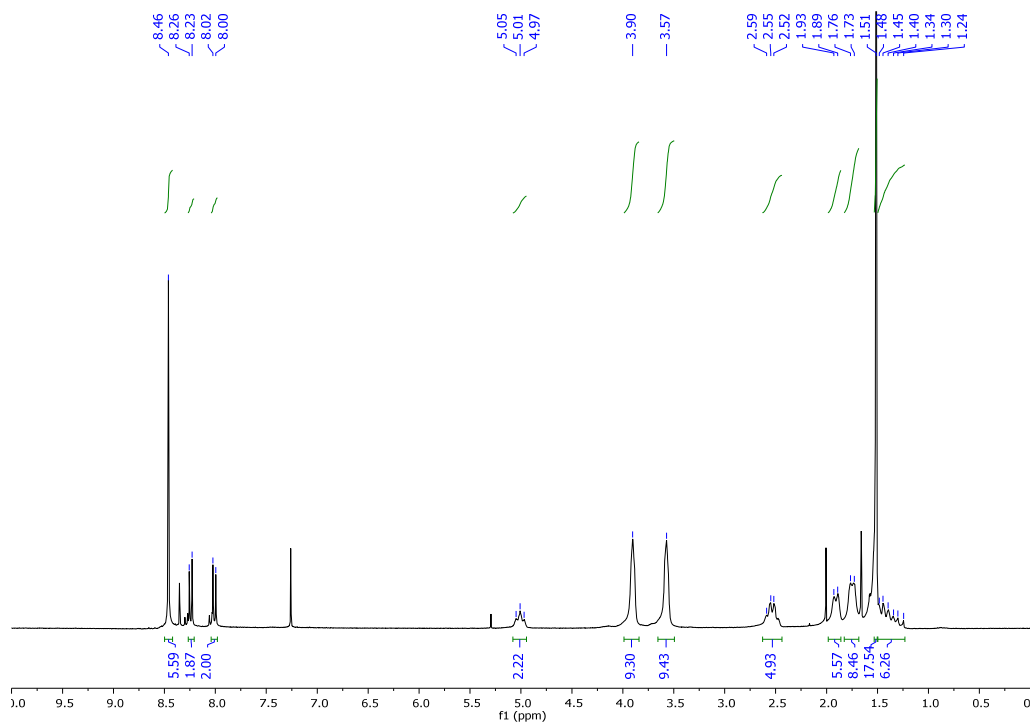
Emission (CHCl₃, λ_{ex}=416 nm) λ_{max} / nm: 707.

τ / ns (CHCl₃ χ₂): 6.29 (44.71%) and 10.19 (55.29%), (1.06).

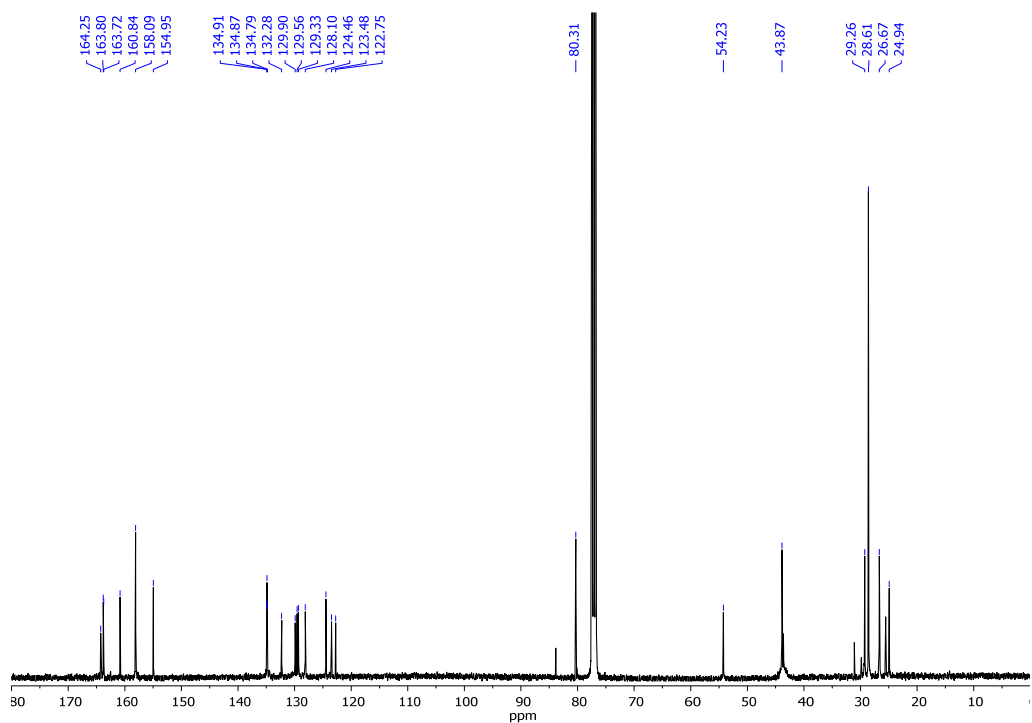
Φ (CHCl₃, λ_{ex}=430 nm): 0.27 ± 0.01.



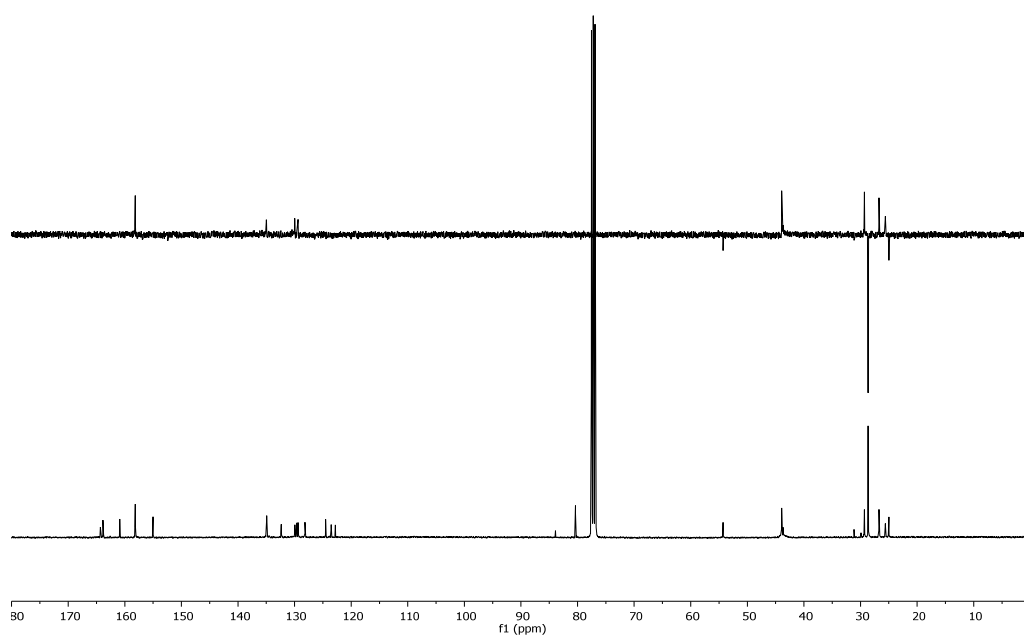
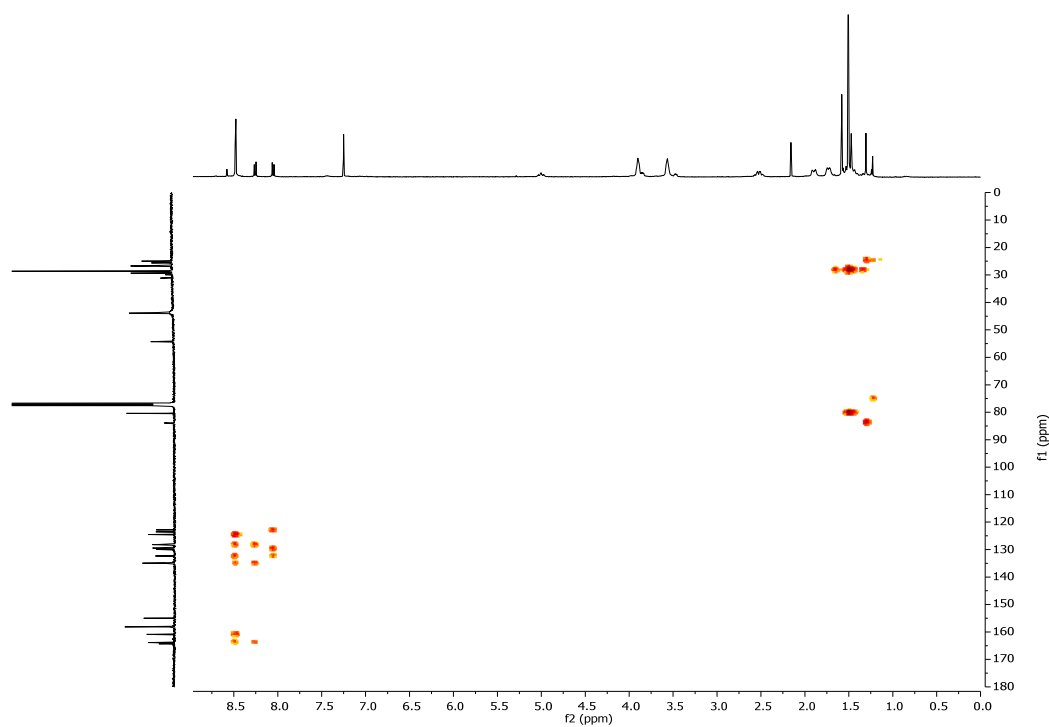
FT-IR (KBr)

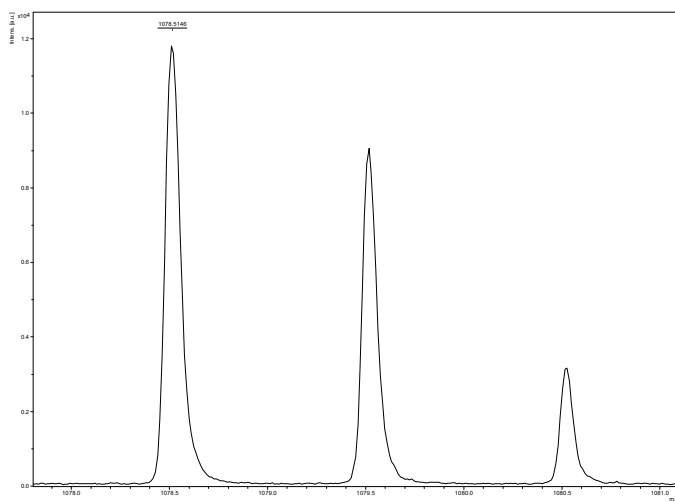


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



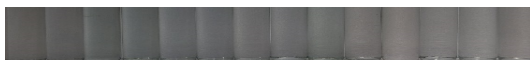
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)

 **^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)** **^1H - ^{13}C -HMBC NMR (400MHz, CDCl_3)**

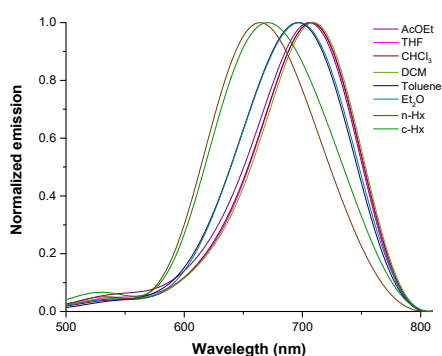
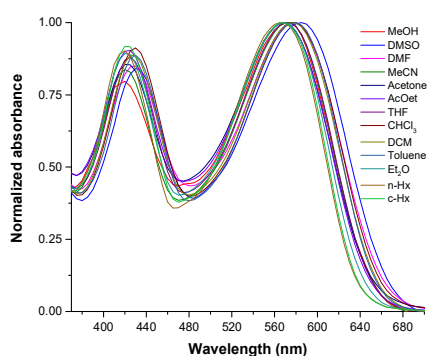
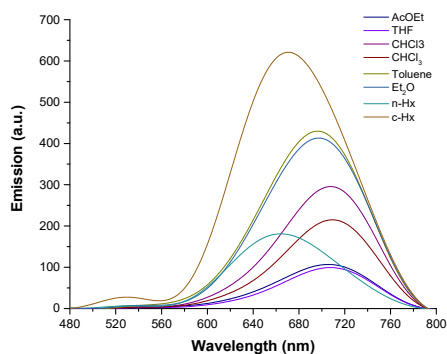
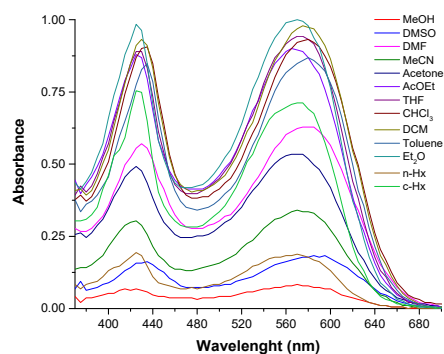


HR-MS (MALDI, DCTB)

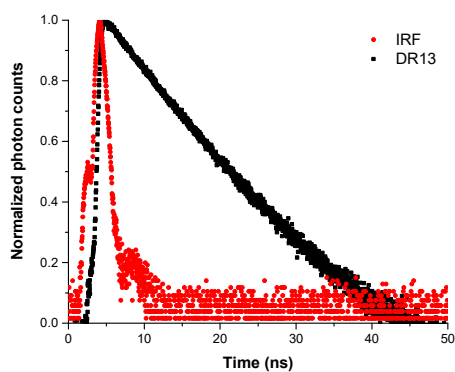
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

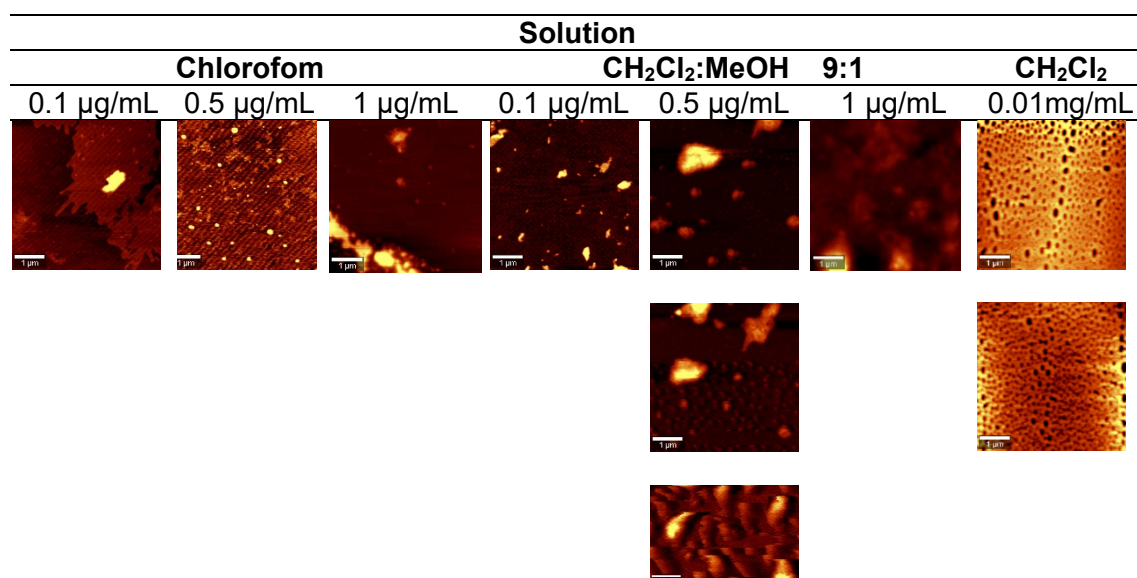


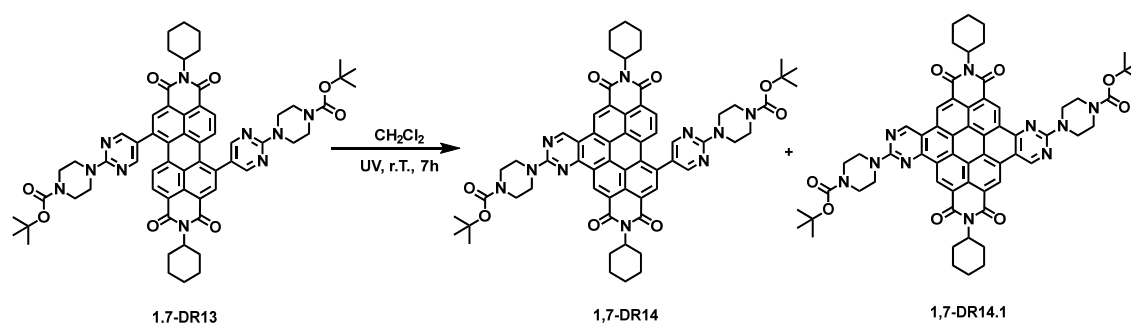
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 416 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 416 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



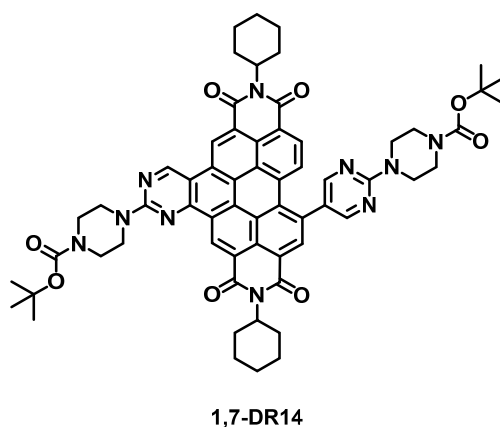
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 580 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.



Ring closure at bay positions of 1,7-disubstituted PDI.**Synthesis:**

N,N'-Bis(cyclohexyl)-1,7-di(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidine perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**1,7-DR13**) (112.1 mg, 0.10 mmol) in CH_2Cl_2 (134.4 ml) was added under inert atmosphere to a flat bottom flask, equipped with a magnetic stirrer and a cooling system. The reaction mixture was stirred under UV-VIS irradiation (50 W, 4 cm of distance) for seven hours. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH_2Cl_2 :MeCN, 5:1) to afford two perylene diimides as a black solids that show red emission in solid state.



N,N'-Bis(cyclohexyl)-12-((4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**1,7-DR14**) was obtained in 36% yield (40.8 mg, 0.04 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH_2Cl_2 :MeOH, 50:2): 0.26.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 2972 (C-H, aromatic), 2926 (C-H, aliphatic), 2857 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1661 (C=O, imide), 1595 (C=C), 1577,

1515, 1445, 1414 (CH₂-N-), 1365, 1344, 1320, 1243, 1170 (C-N), 1128, 996, 947, 863, 811, 755 (fingerprint region).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.78 (s, 1H, Ar-H), 9.59 (s, 1H, Ar-H), 9.26 (s, 1H, Ar-H), 8.71 – 8.48 (m, 4H, Ar-H), 8.41 (d, *J*=8.6 Hz, 1H, Ar-H), 5.21 – 5.05 (m, 2H, N-CH), 4.14 – 3.37 (m, 8H, N-CH₂), 3.75 – 3.61 (m, 8H, N-CH₂), 2.75 – 2.58 (m, 4H, CH₂), 2.09 – 1.90 (m, 8H, CH₂), 1.87 – 1.80 (m, 2H, CH₂), 1.59 (s, 9H, CH₃), 1.55 (s, 9H), 1.49 – 1.39 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 163.8 (C), 161.0 (C), 159.2 (C), 157.8 (CH), 156.5 (C), 155.0 (C), 135.3 (CH), 133.9 (C), 133.6 (C), 132.7 (C), 131.9 (C), 129.1 (CH), 128.6 (C), 128.2 (C), 127.6 (CH), 126.6 (C), 125.6 (CH), 124.6 (C), 122.2 (C), 120.3 (C), 80.3 (C), 54.7 (CH₂), 44.0 (CH), 29.9 (CH₂), 29.4 (CH₂), 29.3 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.7 (CH₂), 26.8 (CH₃), 25.7 (CH₂).

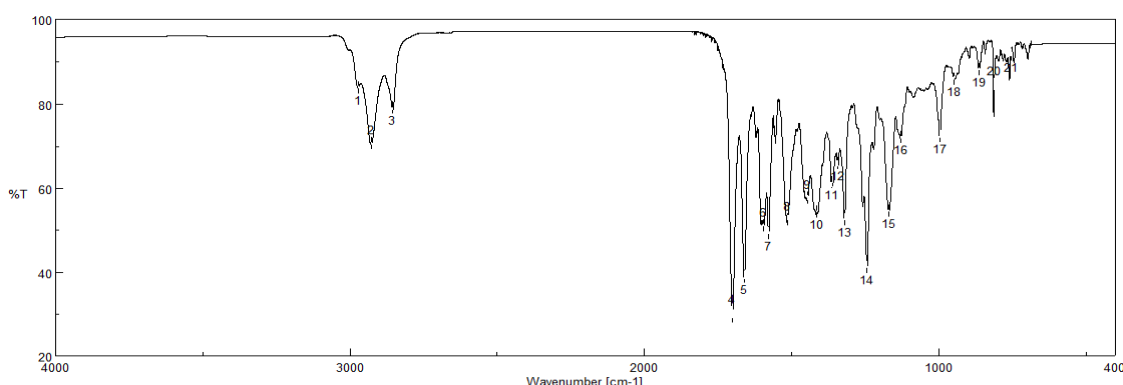
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₆₂H₆₄N₁₀O₈ ([M]⁻): 1076.4903; found: 1076.5053.

UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 565 (17200).

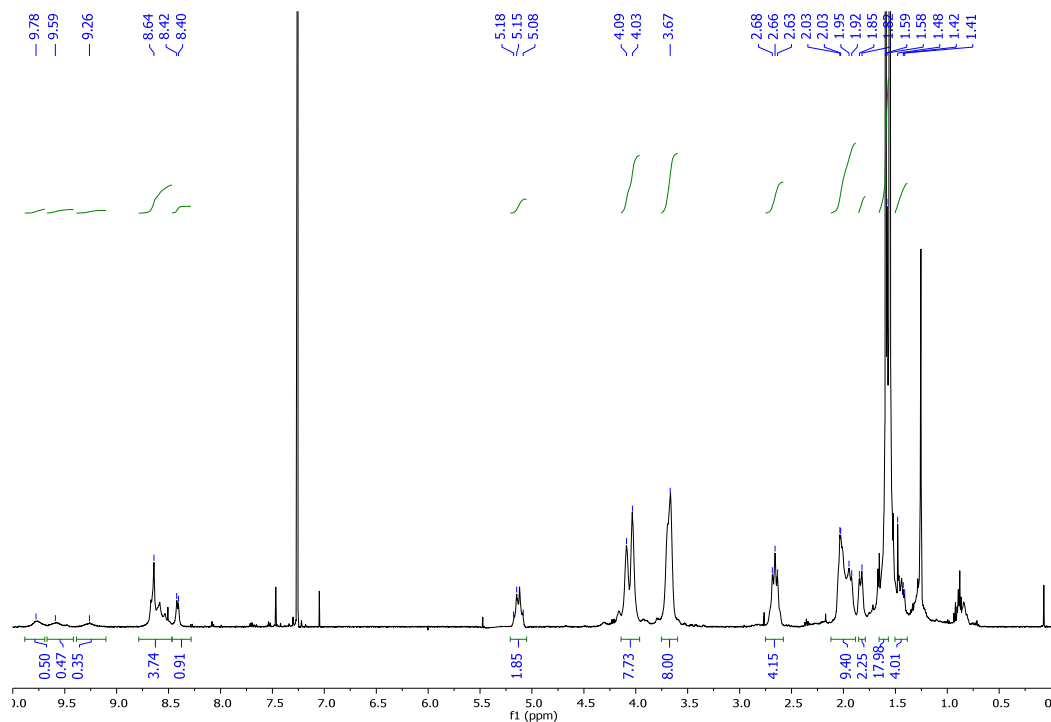
Emission (CHCl₃, λ_{ex}=416 nm) λ_{max} / nm: 663.

τ / ns (CHCl₃, χ₂): 7.20 (37.81%) and 9.32 (68.13%).

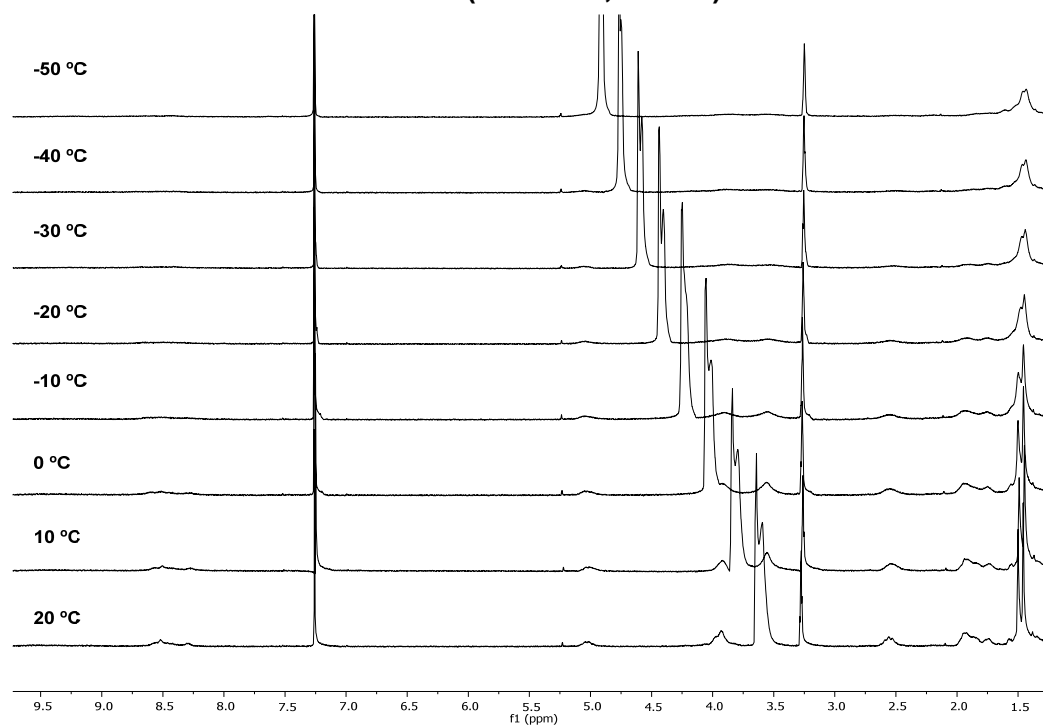
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=450 nm): 0.61 ± 0.01.



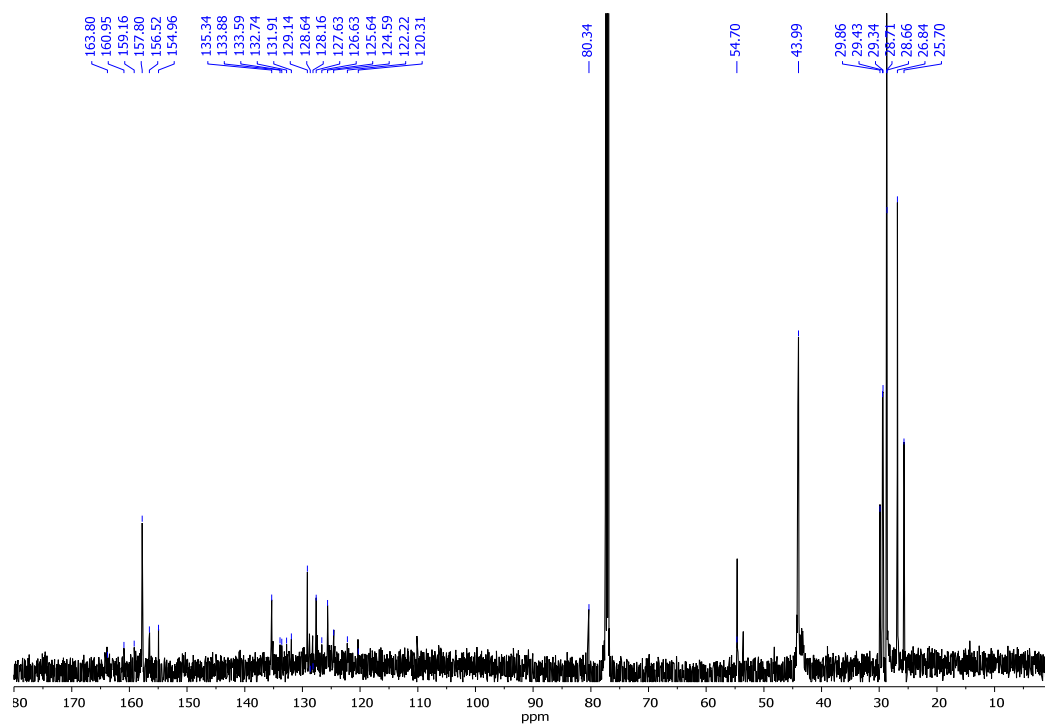
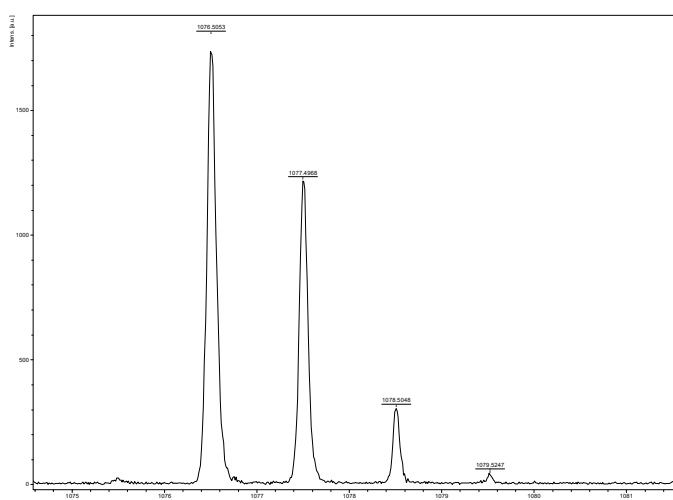
FT-IR (KBr)



¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)



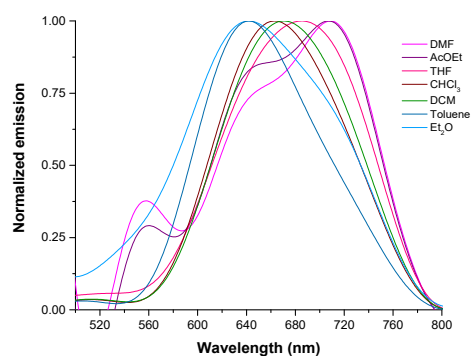
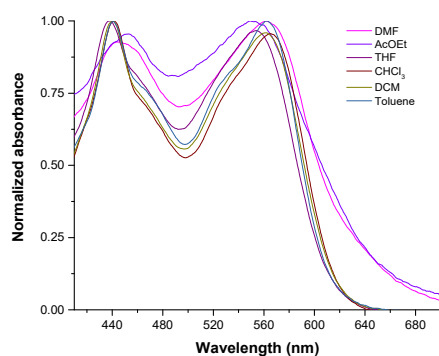
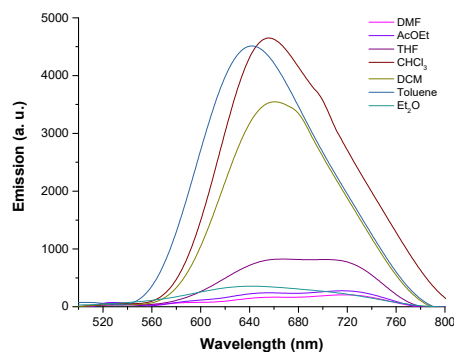
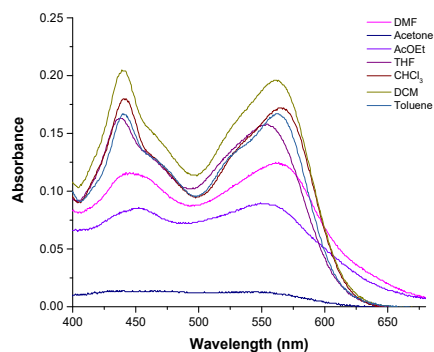
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) at different temperatures.

 **^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3)****HR-MS (MALDI-, DIT)**

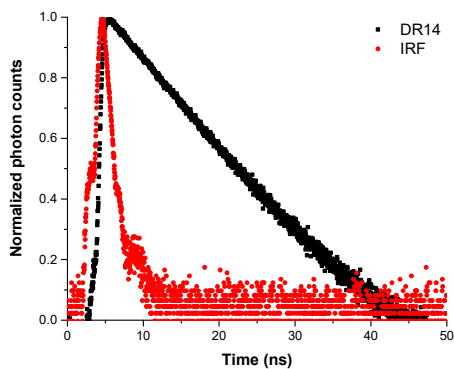
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



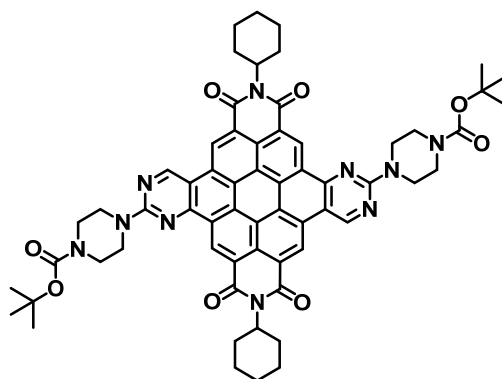
Solvatochromism Tests: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 416 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 416 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 663 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.

Solution						
Chlorofom			CH ₂ Cl ₂ :MeOH 9:1		CH ₂ Cl ₂	
0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.01mg/mL



1,7-DR14.1

***N,N'*-Bis(cyclohexyl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-(2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (1,7-DR14.1)** was obtained in 34% yield (38.3 mg, 0.03 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.10.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2954 (C-H, aromatic), 2919 (C-H, aliphatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1706 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1602 (C=C), 1567, 1518, 1462, 1375, 1320, 1257, 1170 (C-N), 961, 804, 720 (fingerprint region).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 10.79 (s, 4H, Ar-H), 10.56 (s, 2H, Ar-H), 5.34 – 5.21 (m, 2H, N-CH), 4.85 – 4.74 (m, 8H, N-CH₂), 3.91 – 3.78 (m, 8H, N-CH₂), 2.71 – 2.57 (m, 4H, CH₂), 2.12 – 1.94 (m, 10H, CH₂), 1.92 – 1.85 (m, 2H, CH₂), 1.59 (s, 18H, CH₃), 1.58 (s, 18H, CH₃), 1.49 – 1.40 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 173.5 (C), 172.8 (C), 154.5 (CH), 129.7 (CH), 129.2 (C), 128.8 (C), 126.9 (CH), 124.0 (C), 118.6 (C), 117.1 (CH), 114.7 (C), 114.2 (C), 80.2 (C), 54.2 (CH₂), 43.6 (CH₂), 38.7 (CH), 34.0 (CH₂), 31.9 (CH₂), 30.4 (CH₂), 29.7 (CH₃), 29.3 (CH₂), 28.9 (CH₂), 28.5 (CH₃), 24.4 (CH₂), 23.7 (CH₂), 22.9 (CH₂), 22.7 (CH₂).

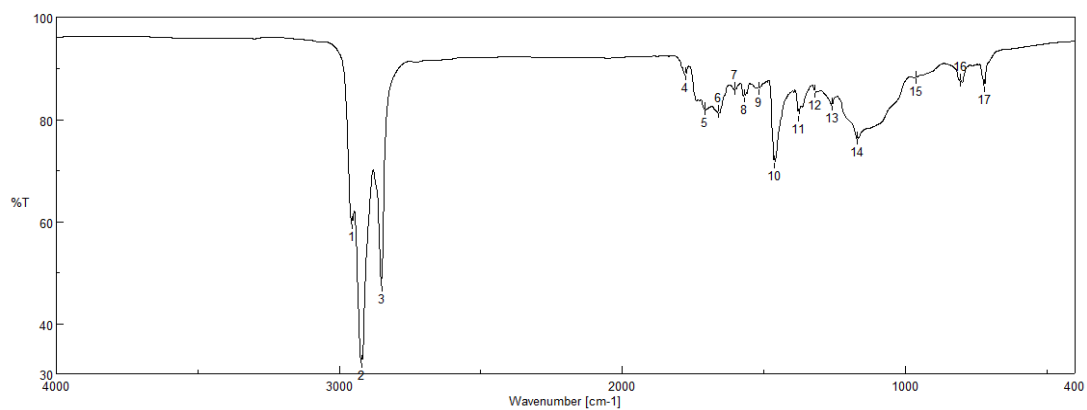
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₆₂H₆₂N₁₀O₈ ([M]⁻): 1074.4747; found: 1074.4869.

UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 566 (14700).

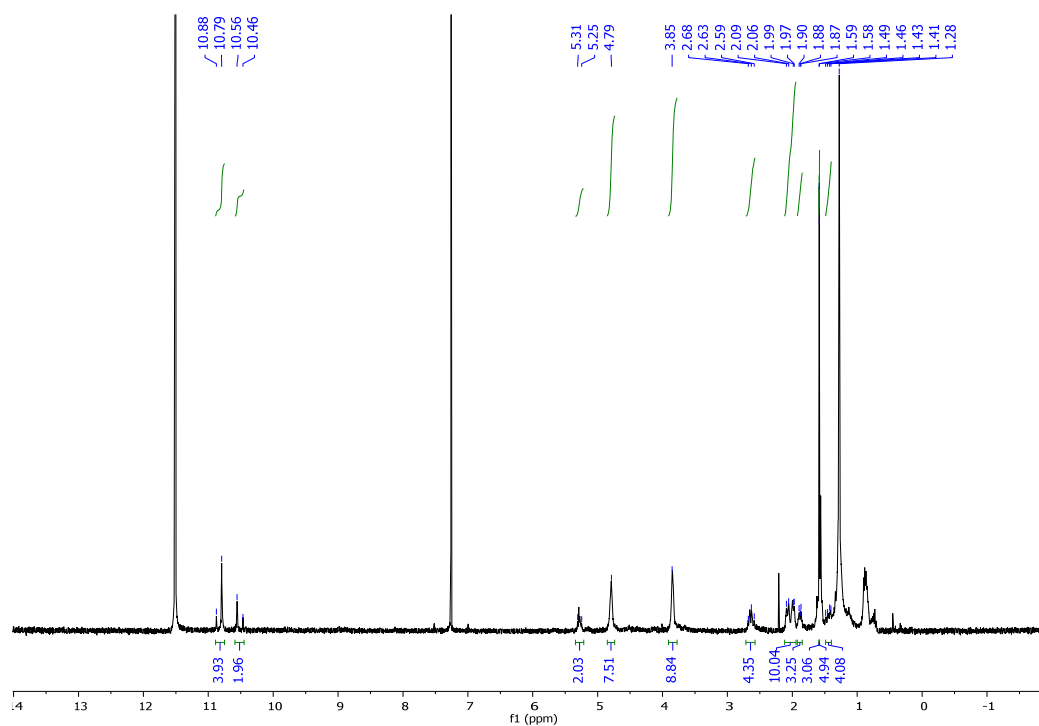
Emission (CHCl₃ λ_{ex}=450 nm) λ_{max} / nm: 600.

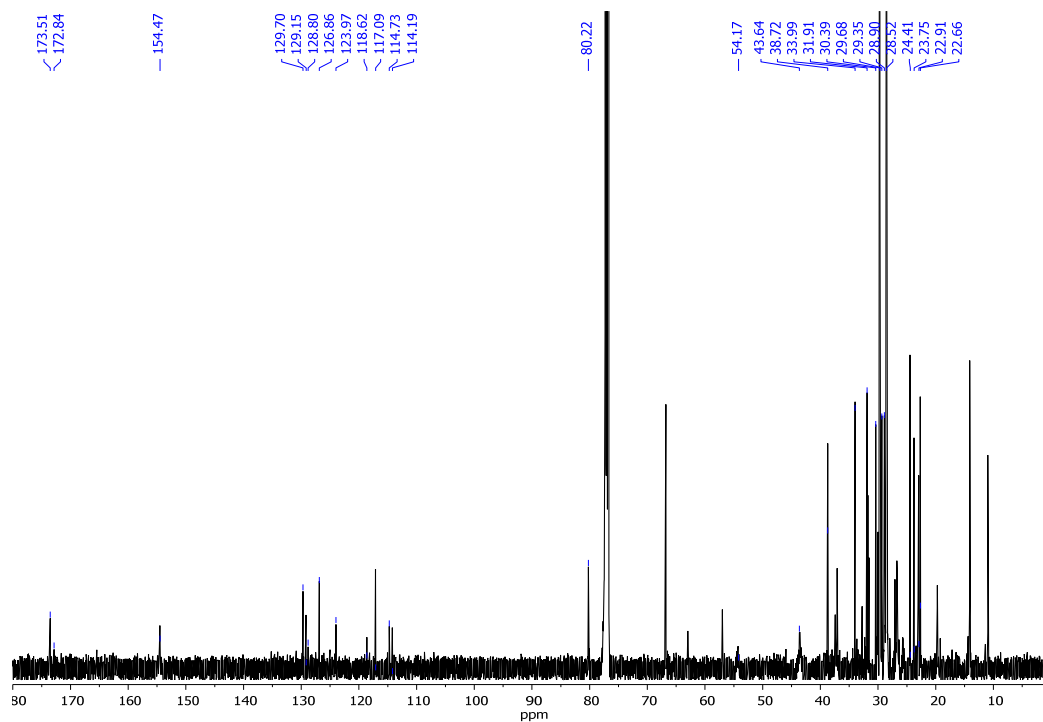
τ / ns (CHCl₃, χ²): 6.79 (35.20%) and 10.59 (64.80%), (1.03).

Φ (CHCl₃, λ_{ex}=450 nm): 0.53 ± 0.01.

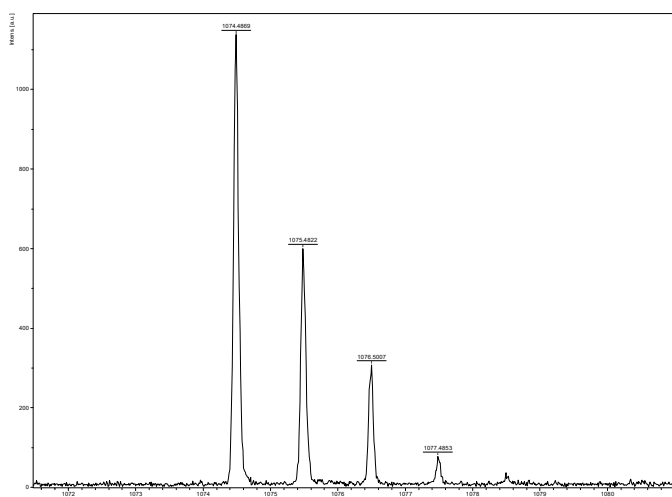


FT-IR (KBr)

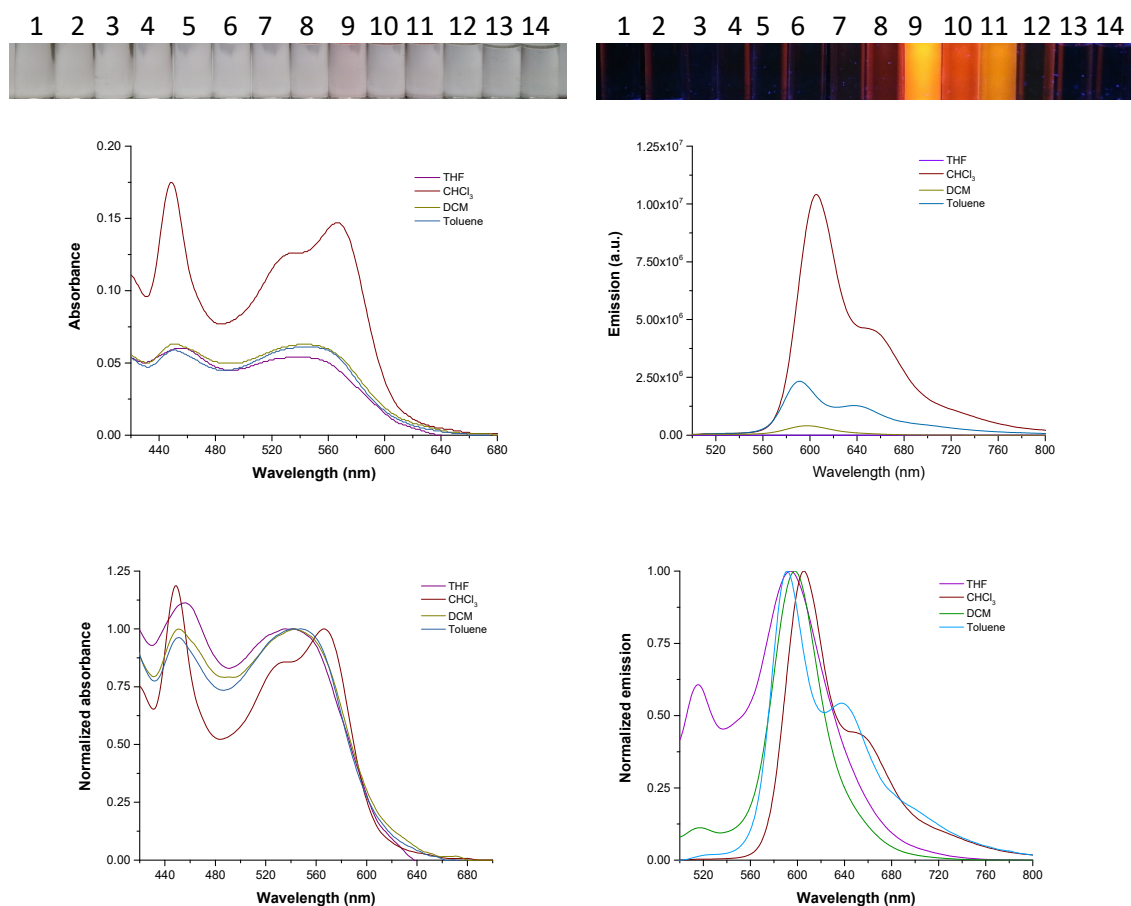
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



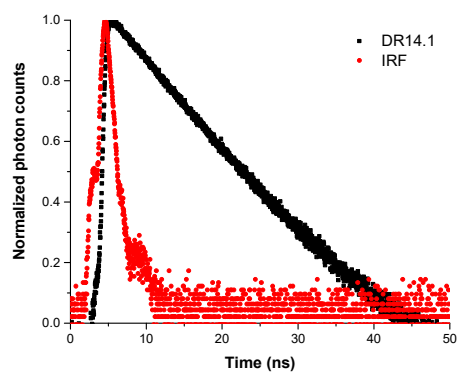
¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI-, DIT)



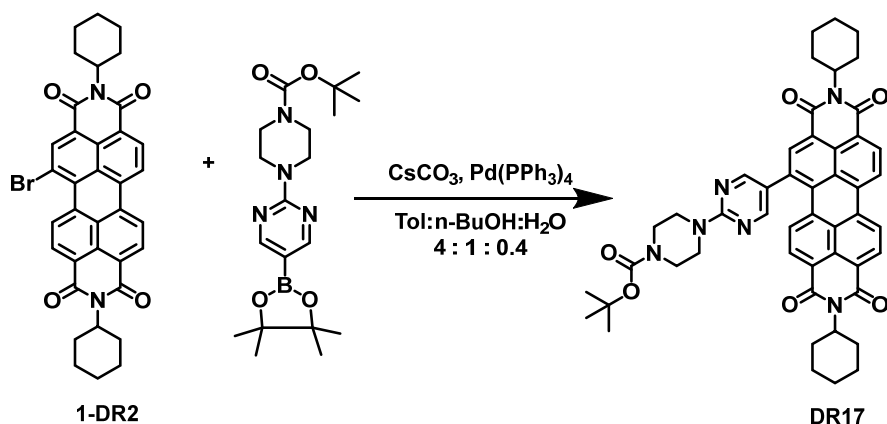
Solvatochromism: Up: Photos under white and of 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 450 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 450 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



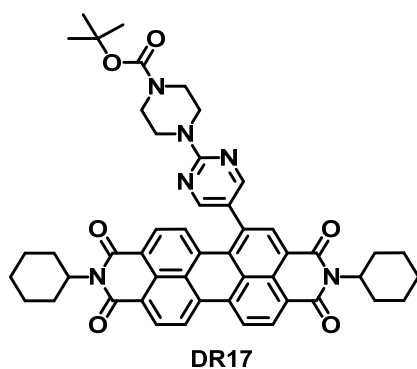
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 605 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.

Solution						
Chlorofom			CH ₂ Cl ₂ :MeOH 9:1		CH ₂ Cl ₂	
0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.01mg/mL

Suzuki coupling with a boronic ester.**Synthesis:**

N,N'-Bis(cyclohexyl)-1-bromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**1-DR2**) (0.25 g, 0.39 mmol) was dried in a schlenk flask under inert atmosphere. Then, 53.3 ml of toluene:*n*-butanol:water (4:1:0.4) were added. Finally, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (45.01 mg, 0.039 mmol), cesium carbonate (320.0 mg, 1.18 mmol) and 2-(4-(*N*-*tert*-butyl-1-carboxylate)piperazin-1-yl)pyrimidine-5-boronic acid pinacol ester (0.31 g, 0.81 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux (95 C) for 24 hours. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH_2Cl_2 :MeCN, 5:1) to afford the perylene diimide as a black solid that shows red emission in solid state.



N,N'-Bis(cyclohexyl)-1-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidine)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR17**) was obtained in 67% yield (215.0 mg, 0.26 mmol).

MP (°C): 234-236 °C.

R_f (CH_2Cl_2 :MeOH, 50:2): 0.42.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 2968 (C-H, aromatic), 2926 (C-H, aliphatic), 2853 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1588 (C=C), 1511, 1501, 1449, 1417 (CH₂-N-), 1397, 1326, 1240, 1166 (C-N), 1128, 996, 968, 898, 863, 808, 752 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.41 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.29 (s, 2H), 8.27 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 5.08 – 4.90 (m, 2H, N-CH), 3.95 – 3.81 (m, 4H, N-CH₂), 3.62 – 3.49 (m, 4H, N-CH₂), 2.62 – 2.43 (m, 4H, CH₂), 1.98 – 1.86 (m, 4H, CH₂), 1.84 – 1.68 (m, 6H, CH₂), 1.50 (s, 9H, CH₃), 1.47 – 1.20 (m, 6H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ : 163.9 (C=O), 163.9 (C=O), 163.8 (C=O), 163.7 (C=O), 160.8 (Cquat-N), 157.8 (CH), 154.9 (Cquat-N), 135.7 (CH), 135.5 (CAr), 134.8 (CAr), 134.4 (CAr), 132.6 (CAr), 131.4 (CH), 131.0 (CH), 130.4 (CH), 129.3 (CAr), 129.2 (CH), 128.3 (CAr), 127.6 (CAr), 125.0 (CAr), 123.9 (CAr), 123.8 (CH), 123.5 (CAr), 123.1 (CAr), 122.9 (CH), 80.3 (C), 54.3 (CH₂), 54.2 (CH₂), 43.89 (CH), 29.3 (CH₃), 28.62 (CH₂), 26.69 (CH₃), 25.58 (CH₂).

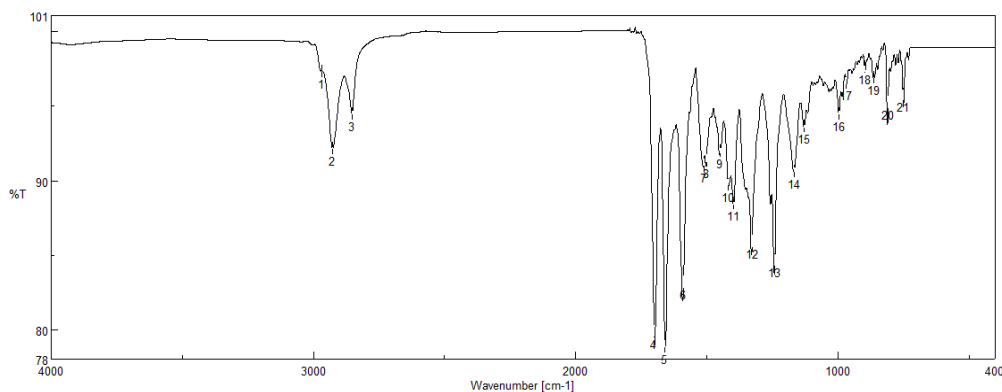
HR-MS (MALDI-, DIT): m/z calcd. for C₄₉H₄₈N₆O₆ ([M]⁺): 816.3630; found: 816.3665.

UV-VIS (CHCl₃ λ_{max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 538 (45541).

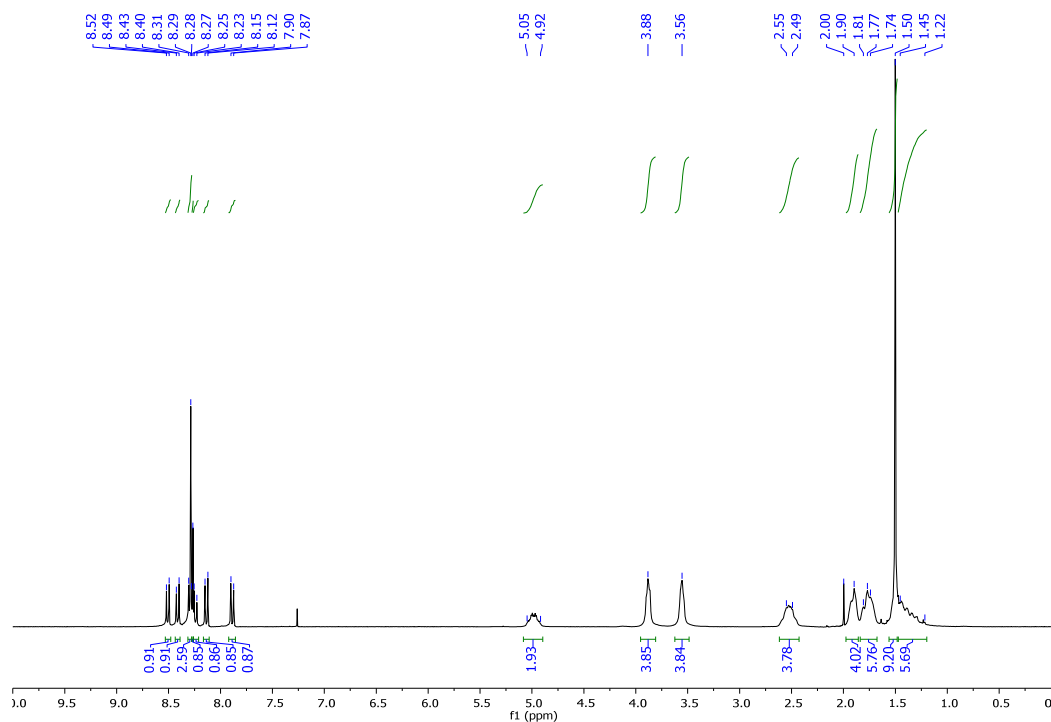
Emission (CHCl₃, λ_{ex} =450 nm) λ_{max} / nm: 593.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ^2): 3.89 (1.10).

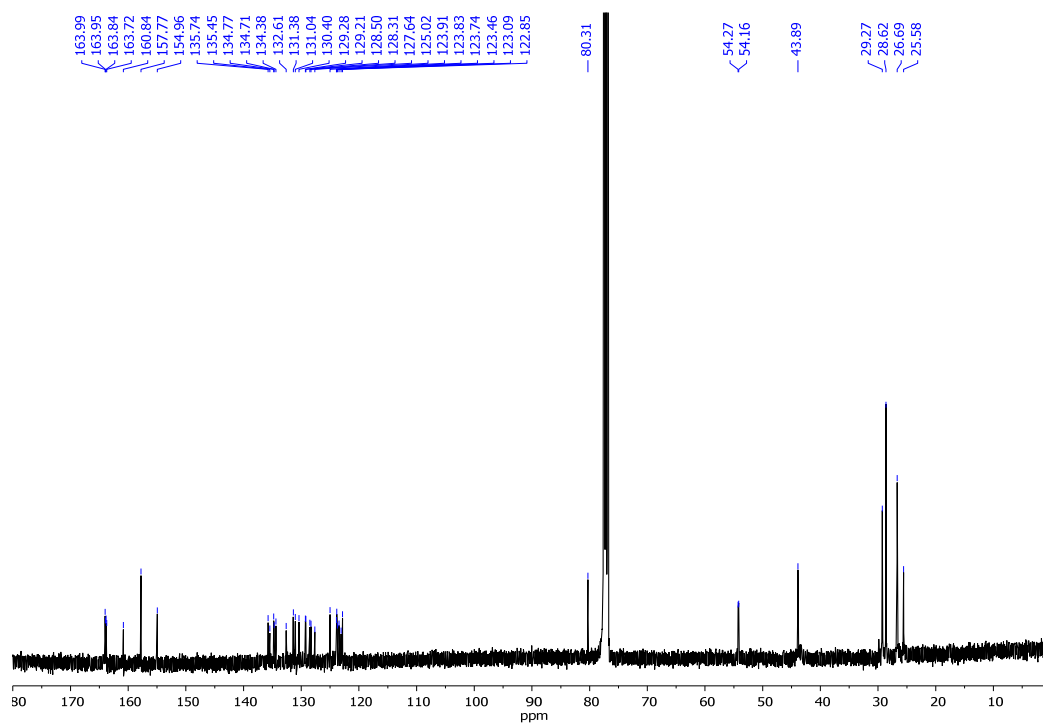
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex} =460 nm): 0.18 ± 0.01.



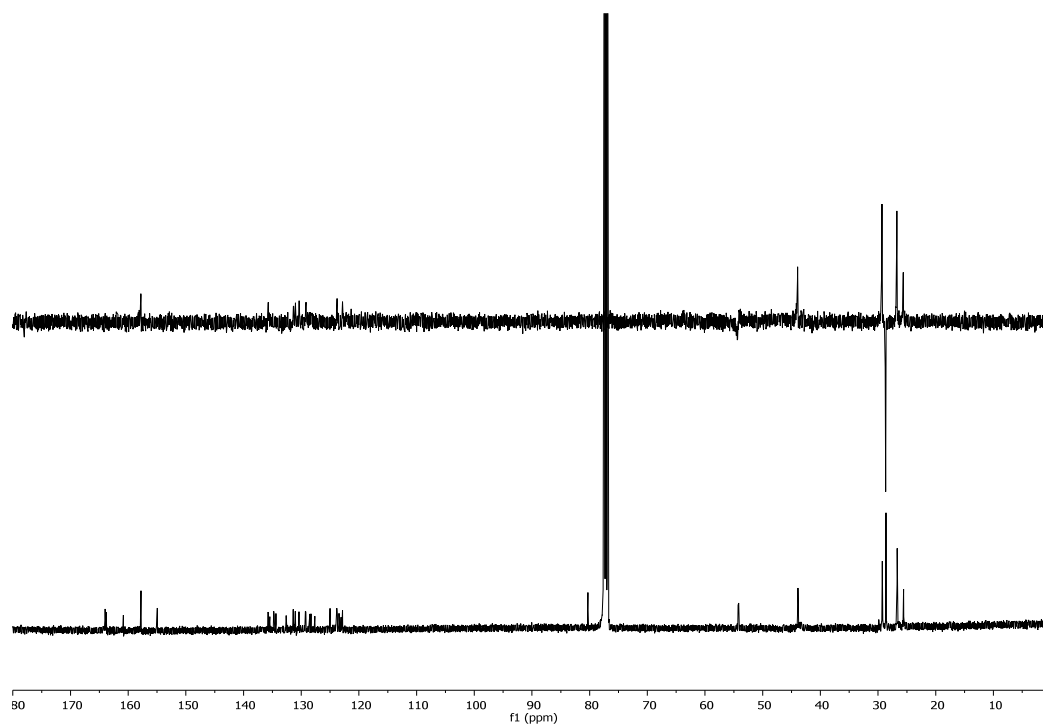
FT-IR (KBr)



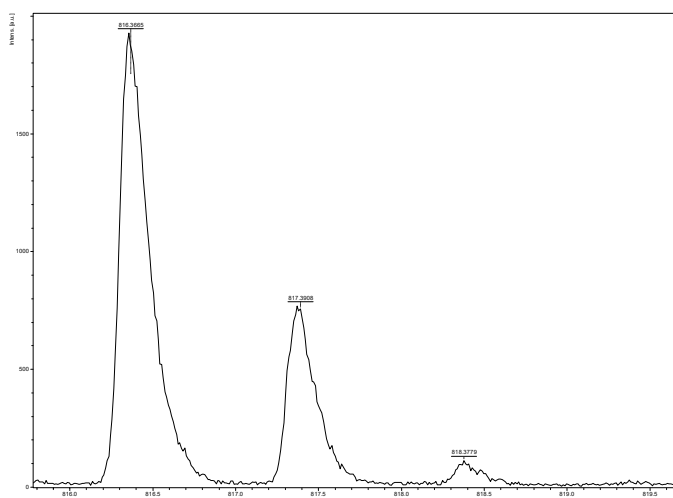
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



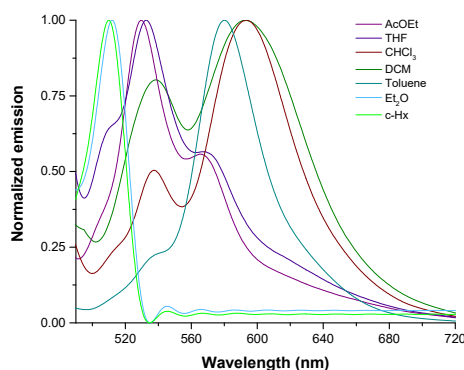
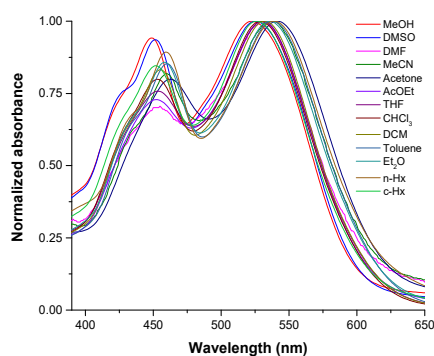
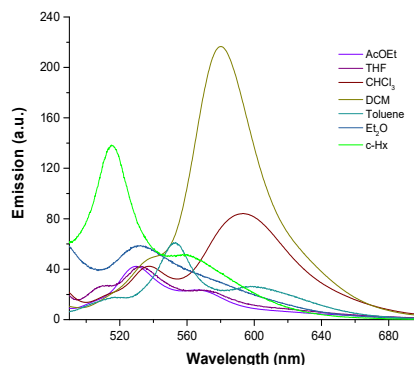
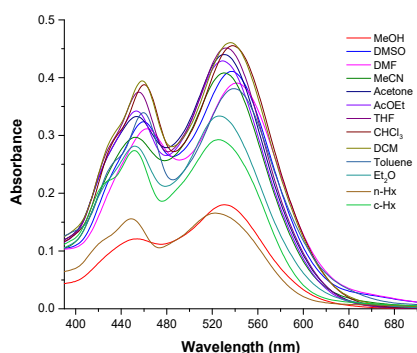
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)



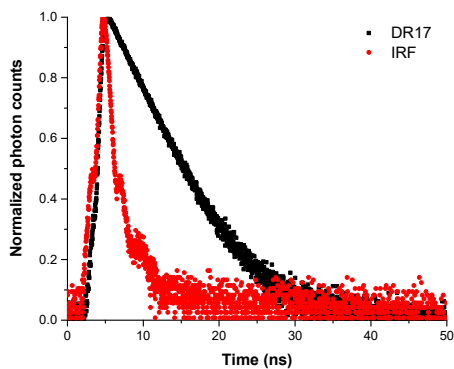
^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI-, DIT)



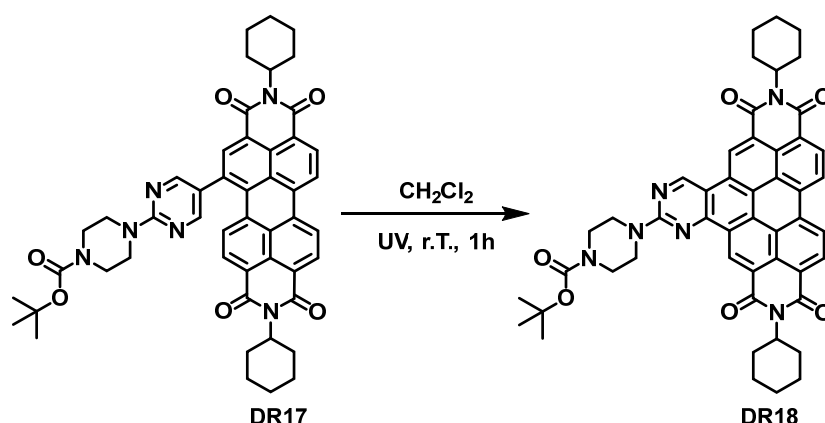
Solvatochromism: Up: Photos under white and of 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 450 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 450 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



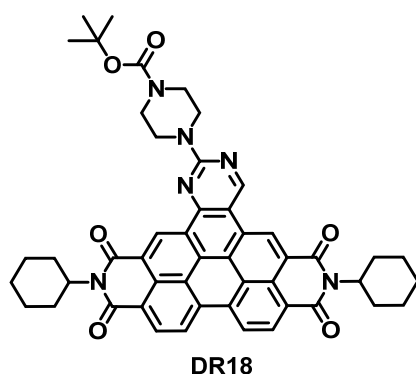
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 600 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.

Solution					
Chlorofom			CH ₂ Cl ₂ :MeOH 9:1		
0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL

Ring closure at bay positions of monosubstituted PDI.**Synthesis:**

N,N'-Bis(cyclohexyl)-1-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidine)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR17**) (0.20 g, 0.24 mmol) in CH₂Cl₂ (240 ml) was added under inert atmosphere to a flat bottom flask, equipped with a magnetic stirrer and a cooling system. The reaction mixture was stirred under UV-VIS irradiation (50 W, 4 cm of distance) for one hour. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 5:1) to afford the perylene diimide as a black solid that shows red emission in solid state.



N,N'-Bis(cyclohexyl)-[6,7-*e*]-[2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin]perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR18**) was obtained in 90% yield (179.1 mg, 0.22 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.24.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 2926 (C-H, aliphatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1654 (C=O, imide), 1595 (C=C), 1557, 1522, 1452, 1403 (CH₂-N-), 1365, 1337, 1320, 1253, 1242, 1170 (C-N), 1121, 1082, 999, 964, 894, 808, 745 (fingerprint region).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.62 (s, 1H, Ar-H), 10.35 (s, 1H, Ar-H), 10.06 (s, 1H, Ar-H), 9.35 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 9.34 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 9.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, Ar-H), 9.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, Ar-H), 5.24 – 5.05 (m, 2H, N-CH), 4.80 – 4.74 (m, 4H, N-CH₂), 3.84 – 3.78 (m, 4H, N-CH₂), 2.64 – 2.51 (m, 4H, CH₂), 2.05 – 1.96 (m, 4H, CH₂), 1.93 – 1.84 (m, 6H, CH₂), 1.58 (s, 9H, CH₃), 1.56 – 1.53 (m, 6H, CH₂).

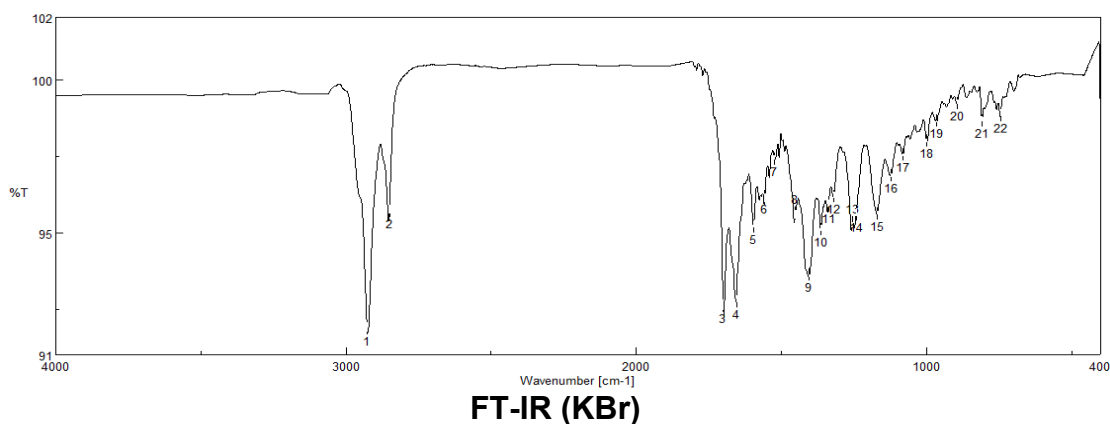
HR-MS (MALDI-, DCTB): m/z calcd. for C₄₉H₄₆N₆O₆ ([M]⁻): 814.3473; found: 814.3839.

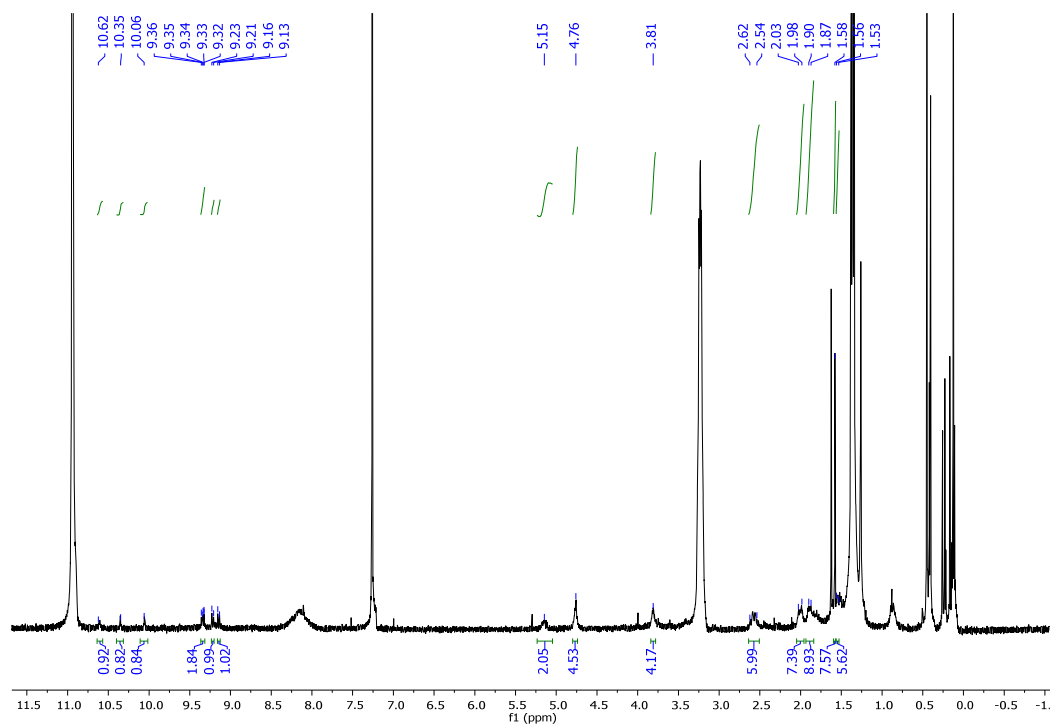
UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 458 (2498).

Emission (CHCl₃, λ_{ex} =434 nm) λ_{max} / nm: 481.

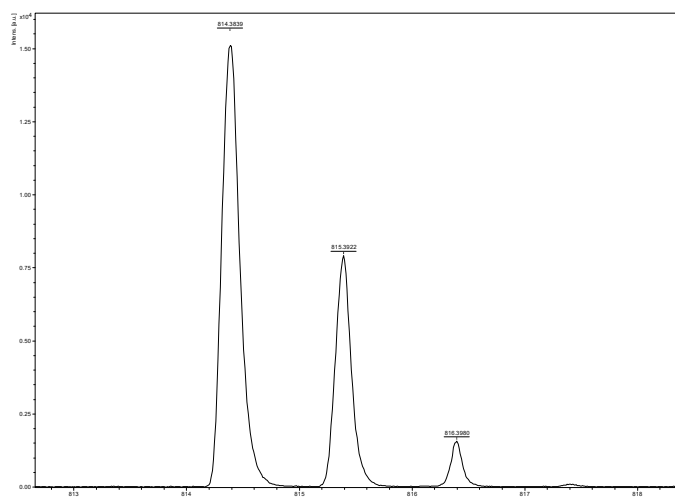
τ / ns (CHCl₃, χ^2): 2.00 (78.62%) and 5.32 (21.38%), (1.14).

Φ (CHCl₃, λ_{ex} =434 nm): 0.30 ± 0.01.

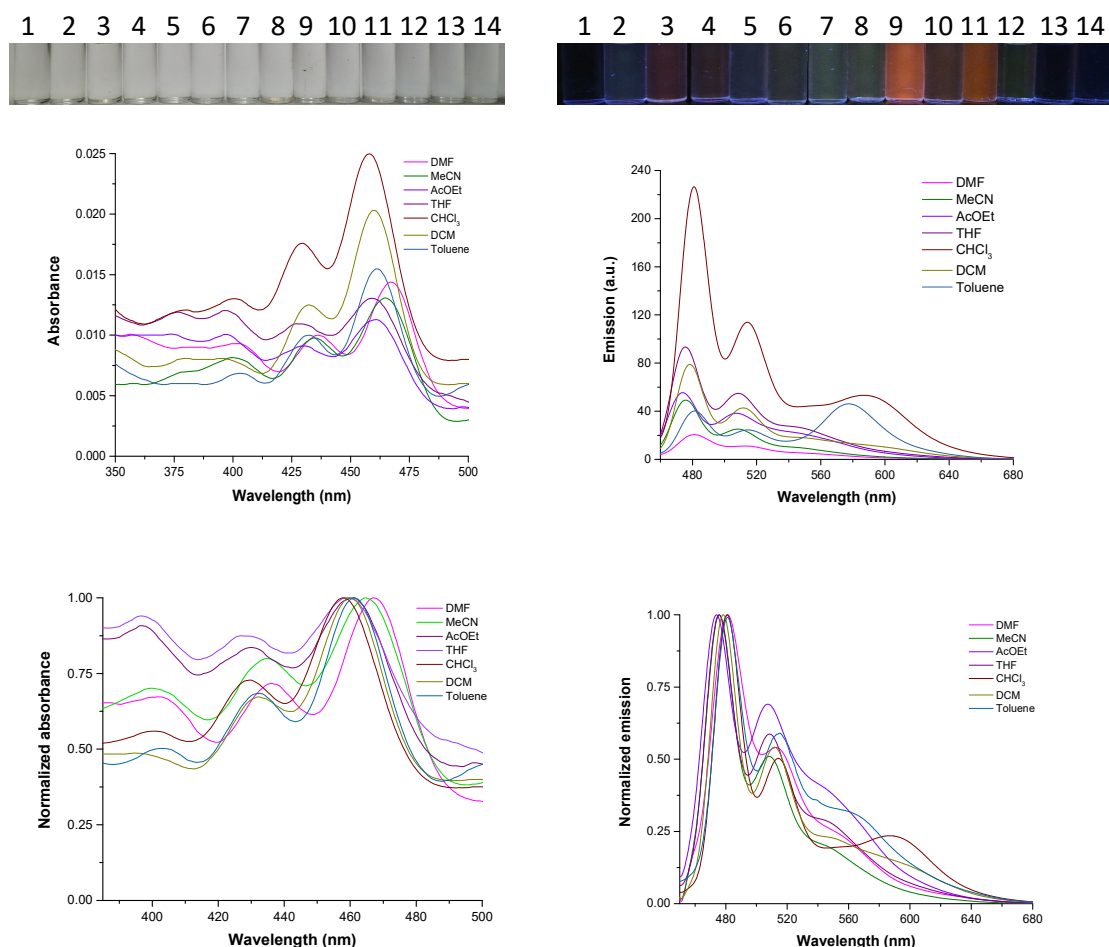




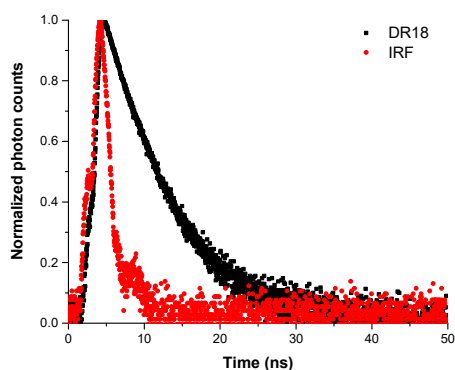
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI, DCTB)



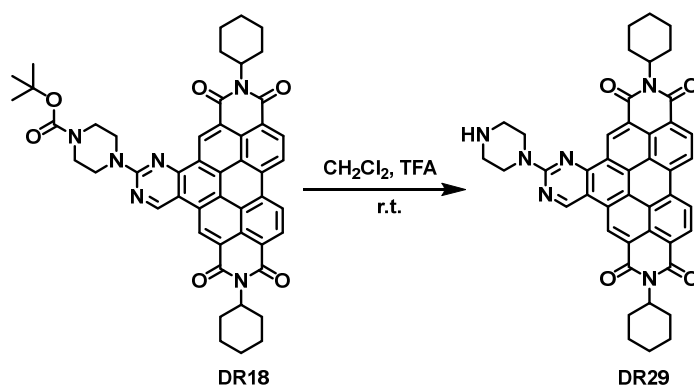
Solvatochromism: Up: Photos under white and of 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 434 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 434 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



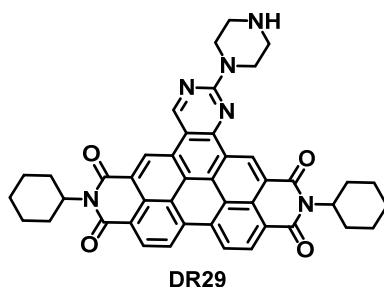
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 404 nm and the emission wavelength 480 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.

Solution					
Chlorofom			CH ₂ Cl ₂ :MeOH		9:1
0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL

Removal of *N*-Boc protecting groups.**Synthesis:**

Trifluoroacetic acid (600 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis(cyclohexyl)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR18**) (0.10 g, 0.12 mmol) in CH_2Cl_2 (2.0 ml). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with CH_2Cl_2 , washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a purple solid.



***N,N'*-Bis(cyclohexyl)-[6,7-*e*]-2-(1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR29)** was obtained in 70% yield (61.30 mg, 0.08 mmol).

MP ($^{\circ}\text{C}$): > 350 $^{\circ}\text{C}$.

R_f (CH_2Cl_2 :MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3515 (N-H, amine), 2926 (C-H, aliphatic), 2853 (C-H, aliphatic), 1703 (C=O, imide), 1598 (C=C), 1560, 1452 (CH₂-N-), 1361 (C-N), 1323, 1257, 1201, 1134 (C-N), 1065, 1030, 898, 863, 808, 745, 724, 685, 647(fingerprint region).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.39 (s, 1H, Ar-H), 9.37 (s, 1H, Ar-H), 9.35 (s, 1H, Ar-H), 9.23 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-H), 9.16 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-H), 5.23 – 5.08 (m, 2H, N-CH), 4.77 – 4.62 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.85 – 3.73 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.63 – 2.50 (m, 4H, CH_2), 2.06 – 1.96 (m, 4H, CH_2), 1.93 – 1.78 (m, 6H, CH_2), 1.59 – 1.47 (m, 6H, CH_2).

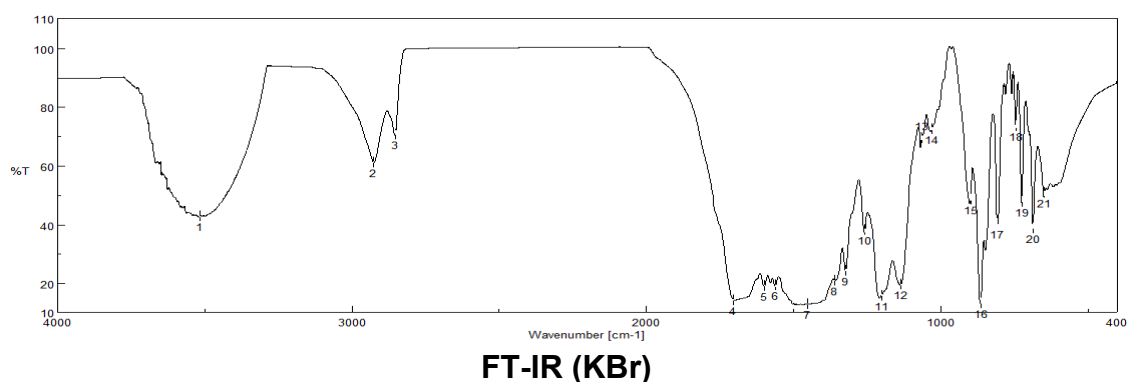
HR-MS (MALD+, DIT): m/z calcd. for $\text{C}_{44}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_4$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 715.3027; found: 715.3393.

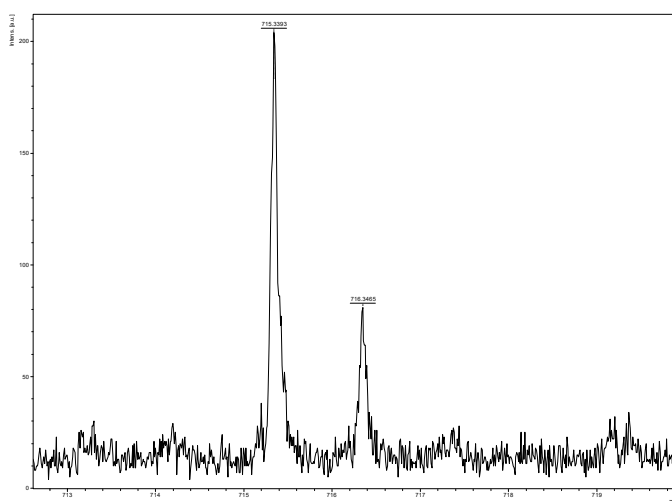
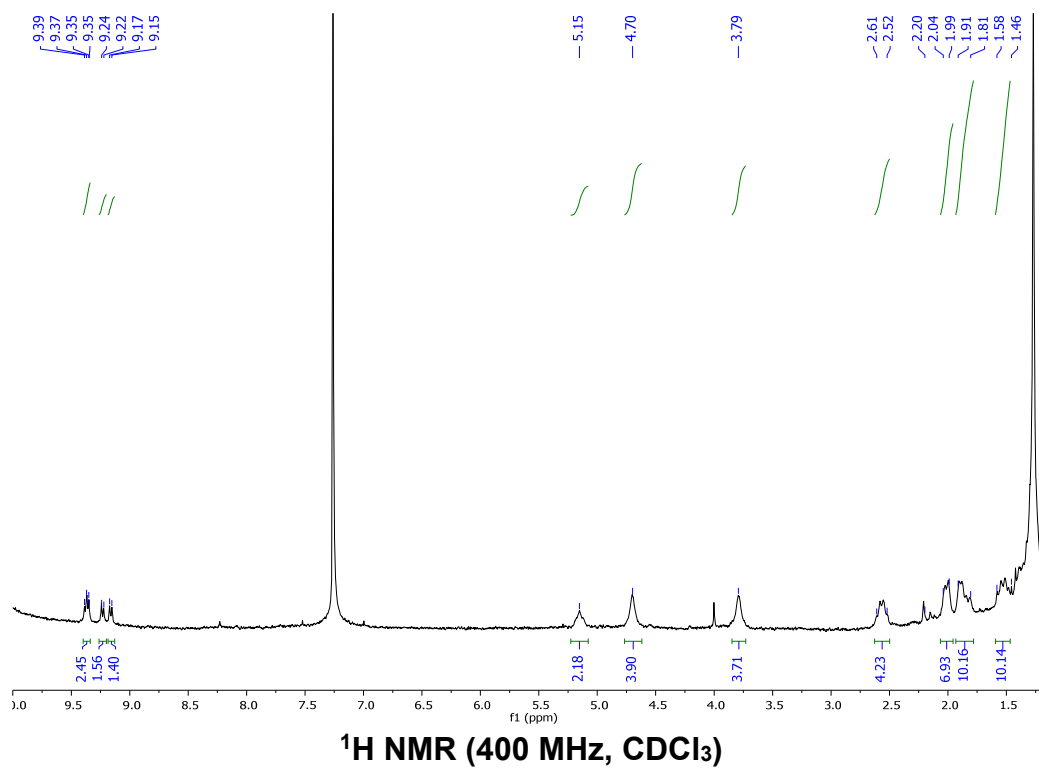
UV-VIS (CHCl_3) λ_{max} / nm ($\epsilon / \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 533 (3546).

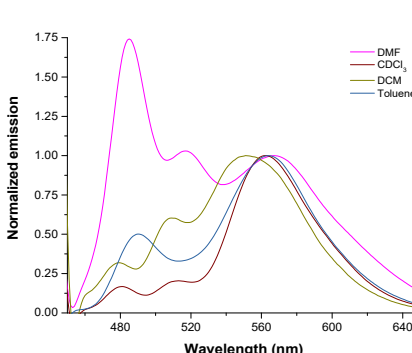
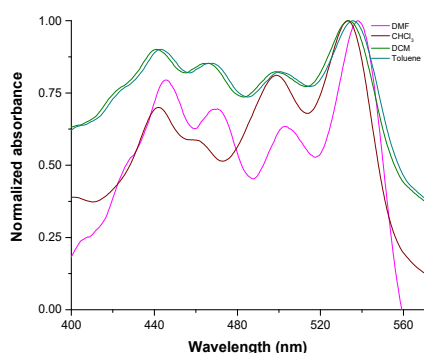
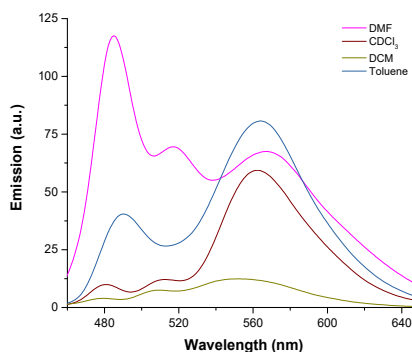
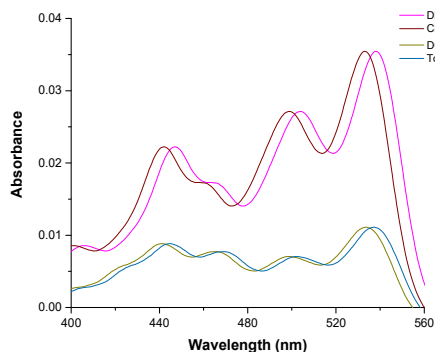
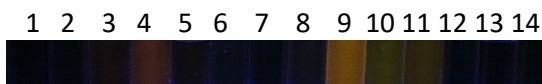
Emission (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=434$ nm) λ_{max} / nm: 563.

τ / ns (CHCl_3 , χ^2): 2.25 (9.73%) and 7.33 (90.27%), (1.05).

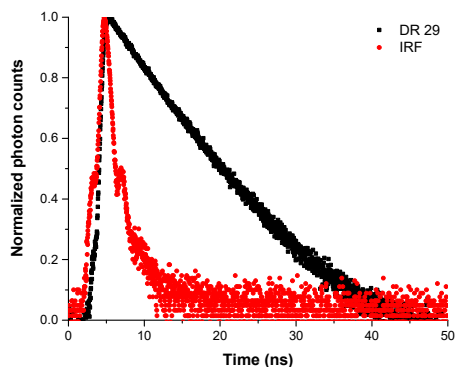
Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=434$ nm): 0.45 ± 0.01 .







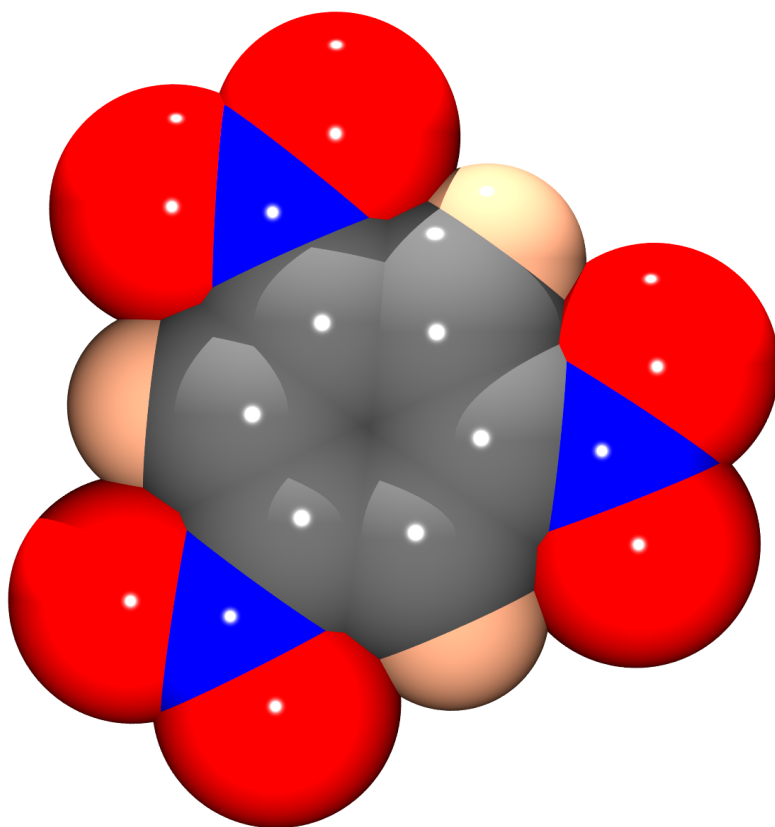
Solvatochromism: Up: Photos under white and of 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 434 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 434 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 560 nm.

Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 29**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 29**.

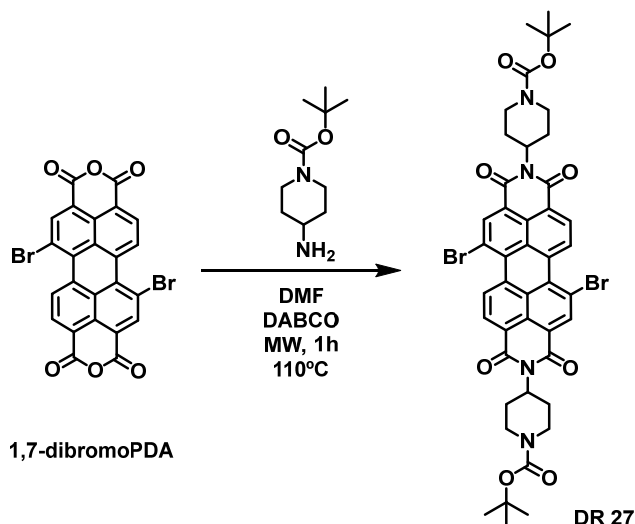


CHAPTER III.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PERYLENEDIIMIDES

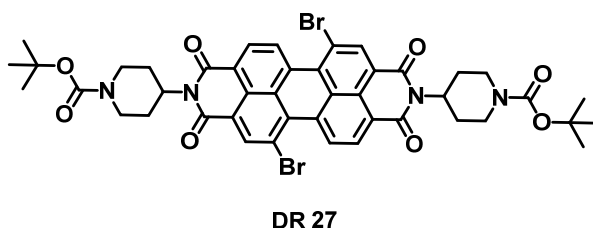
Chapter III: “*Diseño y síntesis de perilenodiimidias expandidas en el sistema conjugado π de la posición bahía solubles en agua.*”

Synthesis of precursor DR27.



Synthesis:

1,7-Dibromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic dianhydride (**1,7-dibromoPDA**) (0.40 g, 0.73 mmol) and 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO, 0.81 g, 0.73 mmol) were dried in a microwave vial under inert atmosphere. Then, 20 ml of anhydrous DMF and 4-amino-1-*tert*-butoxycarbonyl-piperidine (0.29 g, 1.45 mmol) were added. The microwave vial was sealed with a septum and irradiated for one hour at 110°C. A colour change of the reaction mixture from red to very dark red was observed. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 5:1) to yield the perylene diimide as a red solid, that shows orange emission in solid state.



N,N'-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-dibromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR 27**) was obtained in 57% yield (378.5 mg, 0.41 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.18.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2971 (C-H, aromatic), 2926 (C-H, aliphatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1588, 1560, 1501 (C=C), 1452, 1421 (C-N), 1389 (C-N), 1365, 1326, 1242, 1170, 1149 (C-N), 1114, 1041, 985, 946, 916, 863, 808 (fingerprint region).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 8.88 (s, 2H, Ar-H), 8.67 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 5.18 (tt, *J* = 12.1 and 3.9 Hz, 2H, N-CH), 4.49 – 4.17 (m, 4H, CH₂), 3.01 – 2.82 (m, 4H, CH₂), 2.74 (qd, *J* = 12.1 and 3.9 Hz, 4H, CH₂), 1.75 – 1.67 (m, 4H, CH₂), 1.51 (s, 18H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 163.3 (C), 162.8 (C), 155.0 (C), 138.2 (CH), 133.1 (C), 132.9 (C), 130.3 (CH), 129.3 (C), 128.7 (CH), 127.1 (C), 123.6 (C), 123.2 (C), 121.0 (C), 80.1 (C), 52.4 (CH), 44.2 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.6 (CH₃), 28.4 (CH₂).

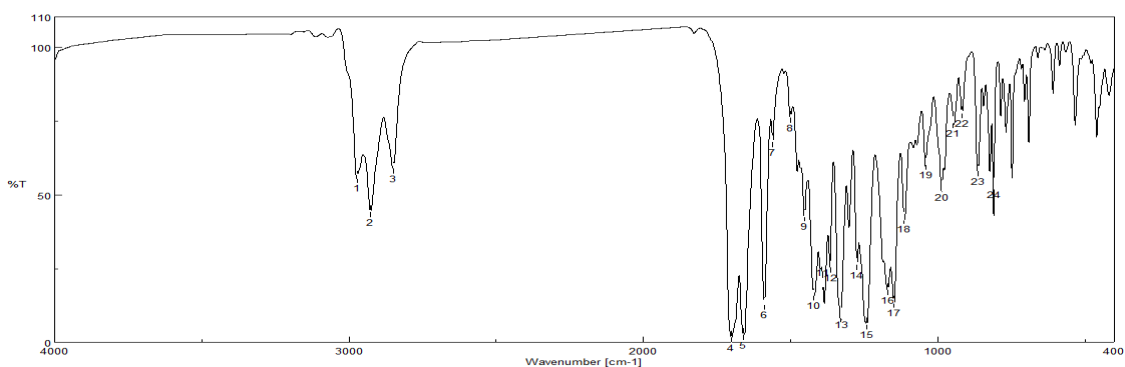
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₄₄H₄₂Br₂N₄O₈ ([M]⁻): 912.1364; found: 912.1315.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 519 (72400).

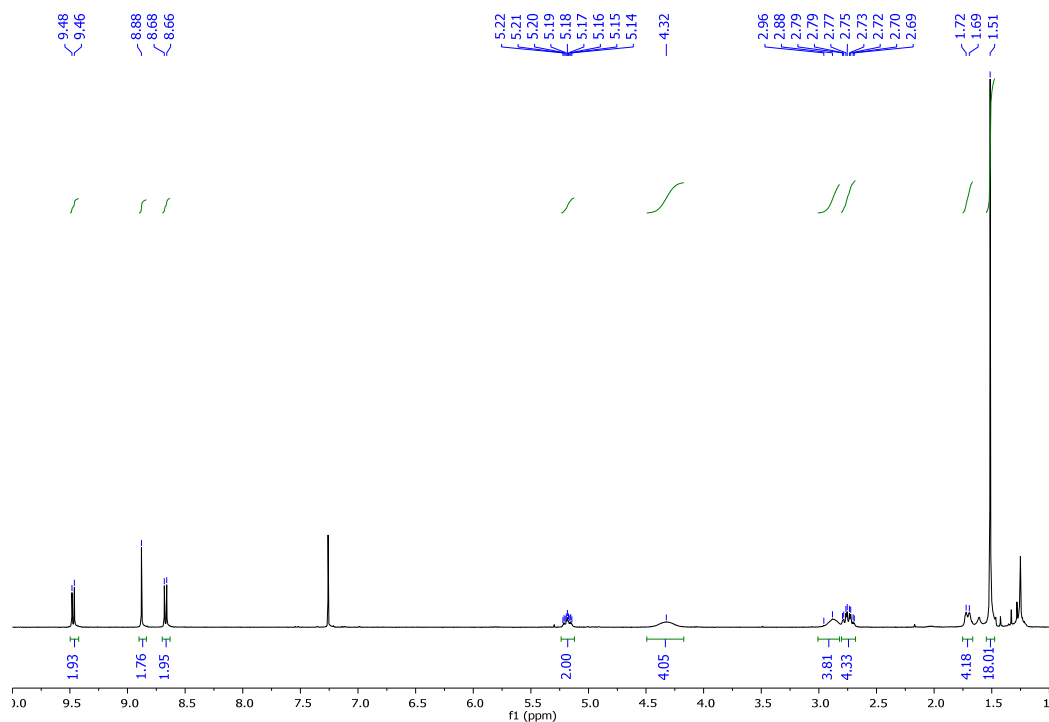
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=455 nm) λ_{max} / nm: 550.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ₂): 4.94, (1.12).

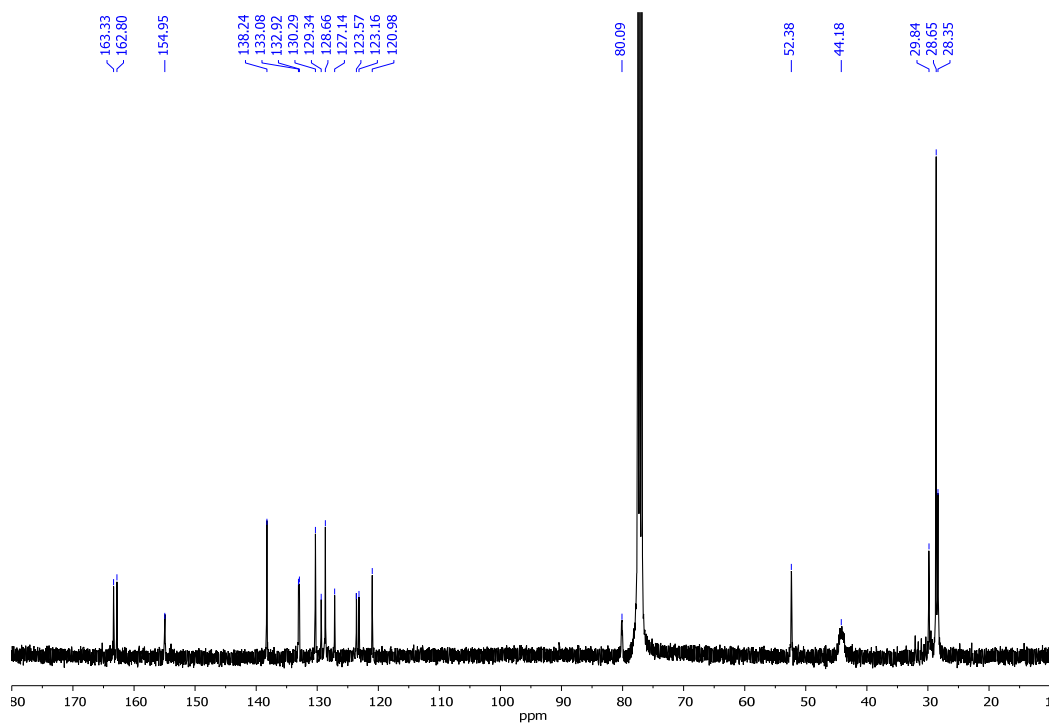
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=455 nm): 0.93 ± 0.01.



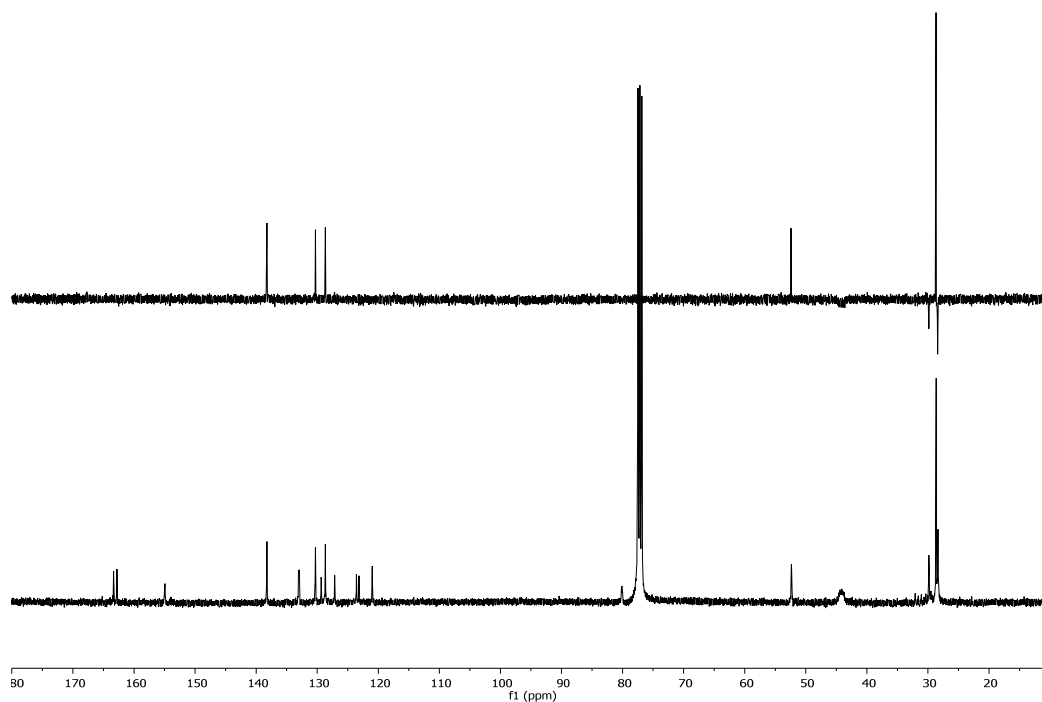
FT-IR (KBr)



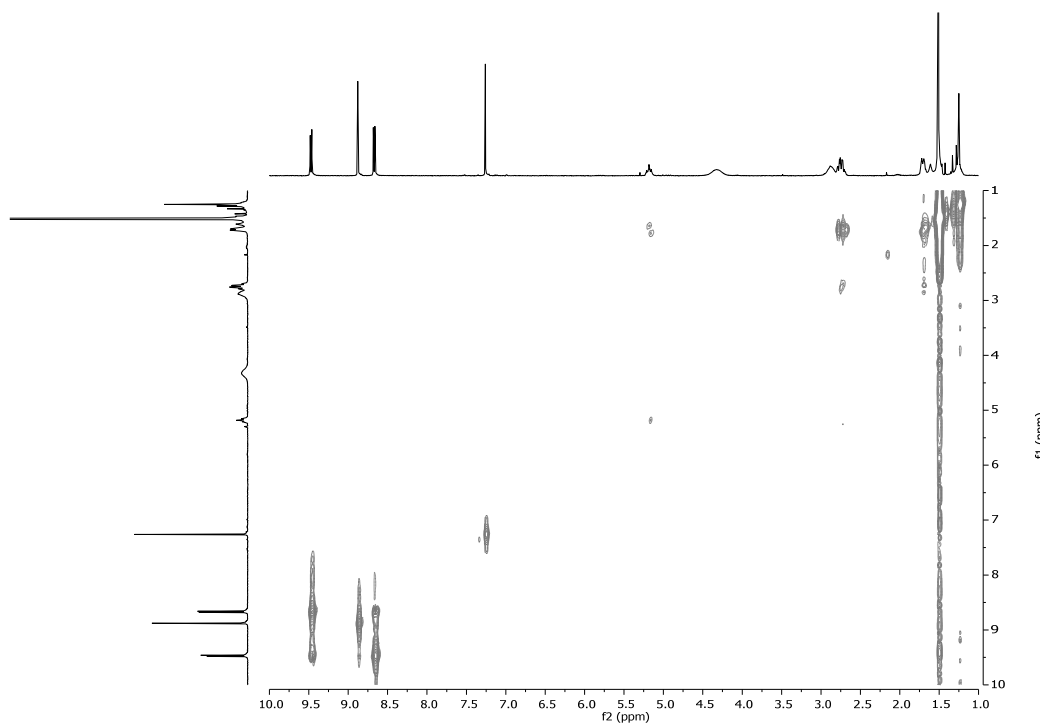
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



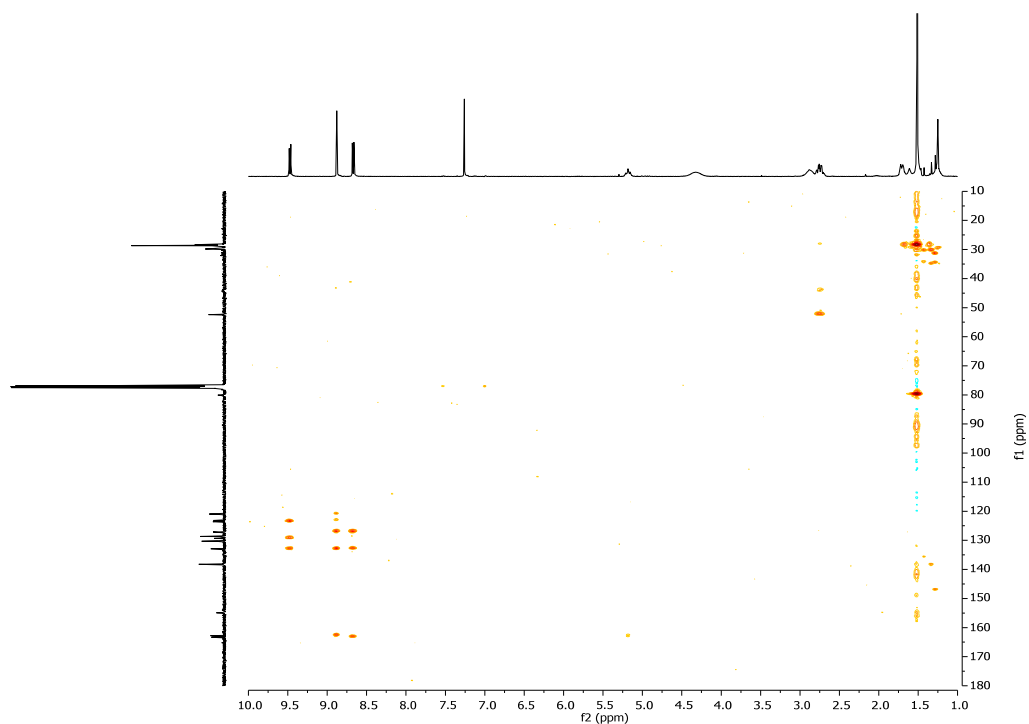
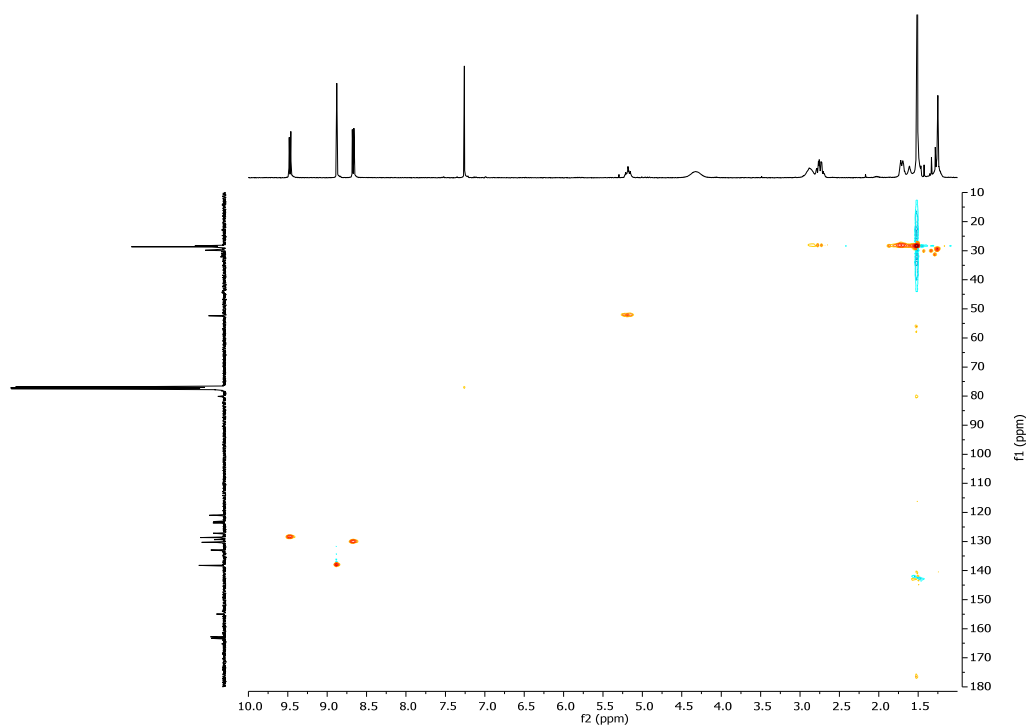
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)

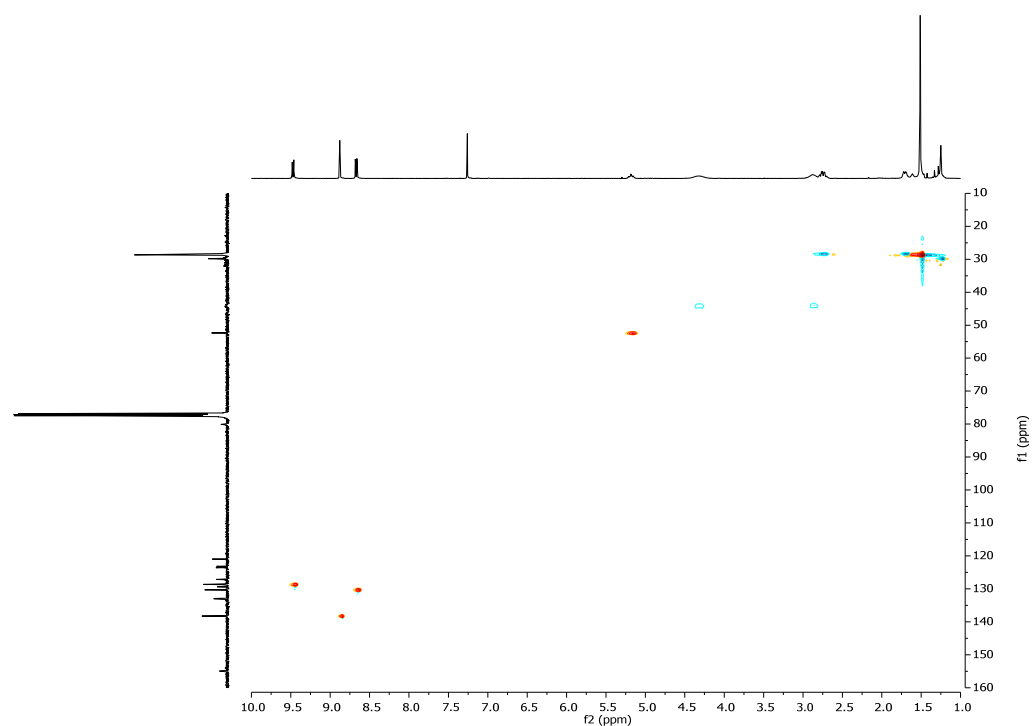


^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)

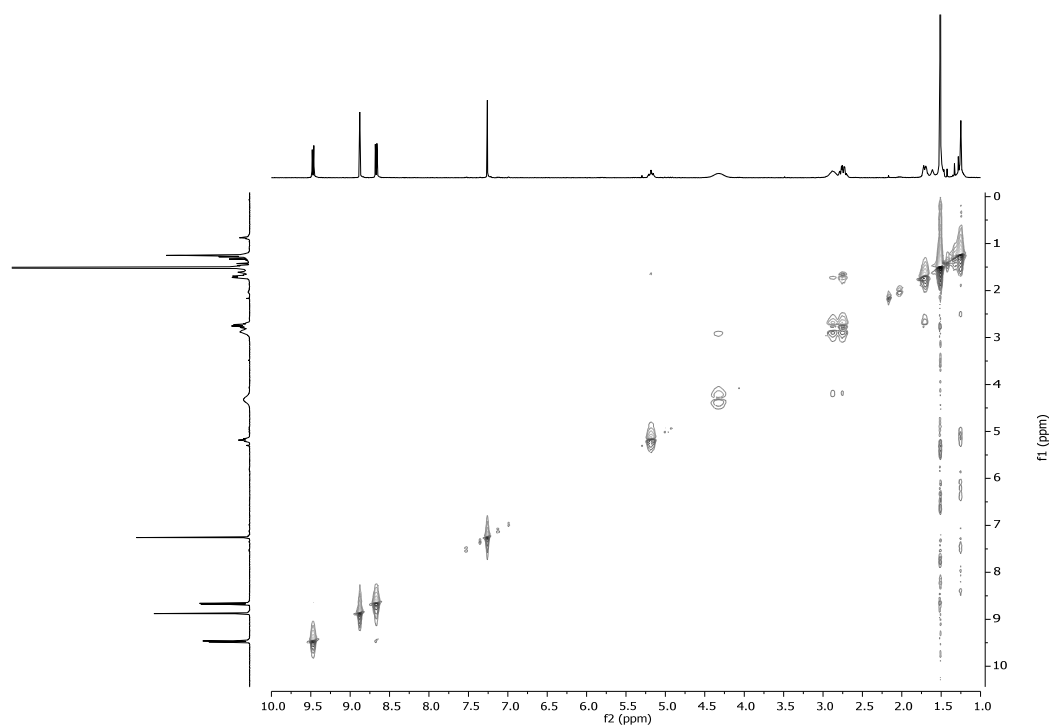


^1H - ^1H -COSY NMR (300 MHz, CDCl_3)

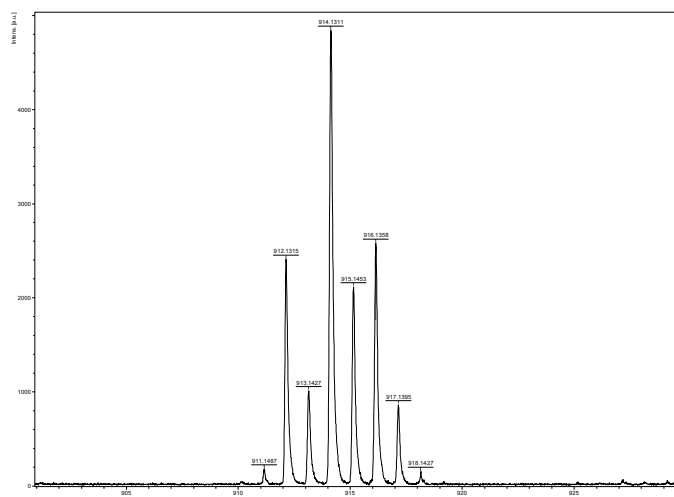
 **^1H - ^{13}C -HMBC NMR (300 MHz, CDCl_3)** **^1H - ^{13}C -HMQC NMR (300 MHz, CDCl_3)**



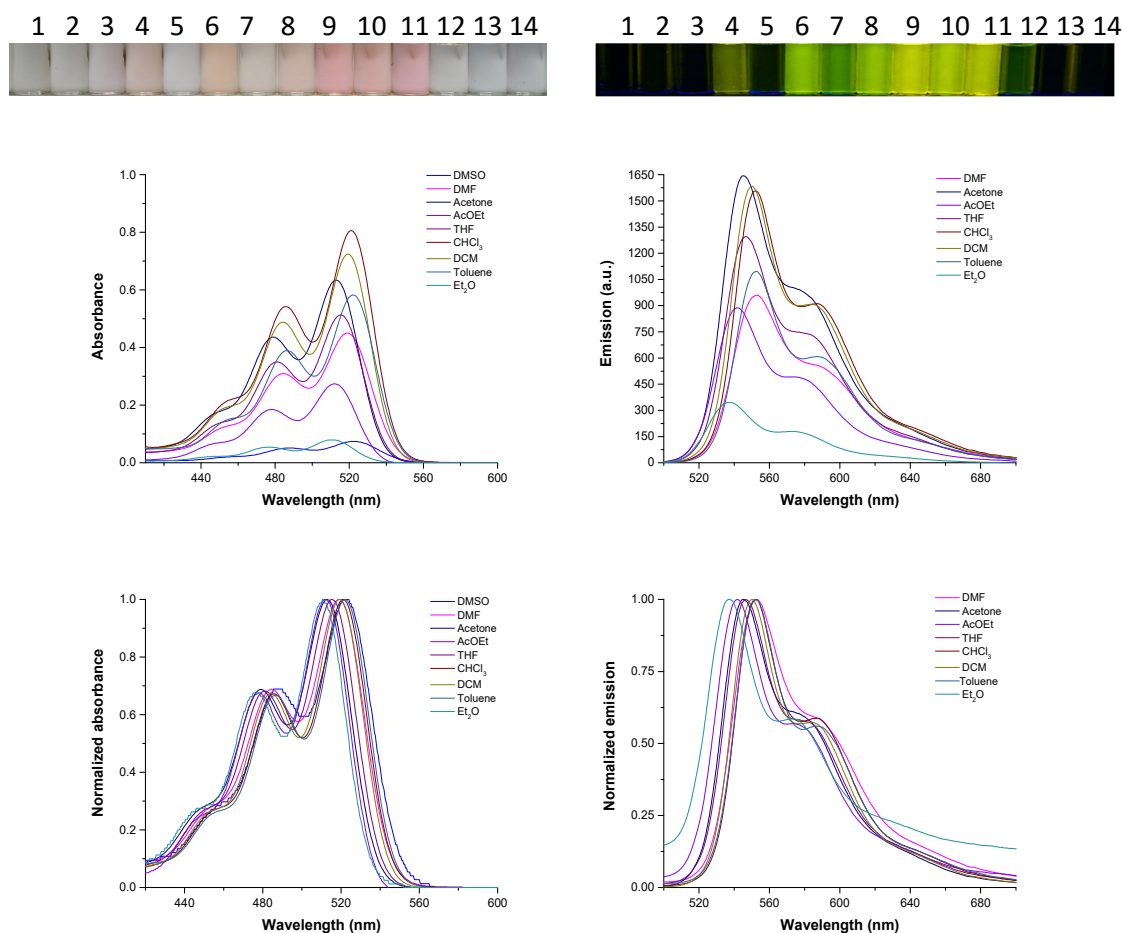
^1H - ^{13}C -HSQC NMR (300 MHz, CDCl_3)



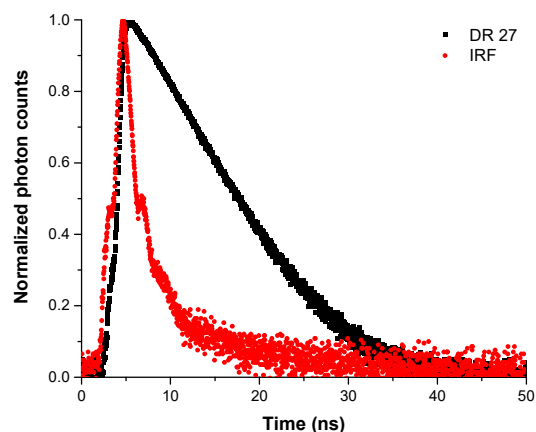
^1H - ^1H -NOESY NMR (300 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI-, DIT)

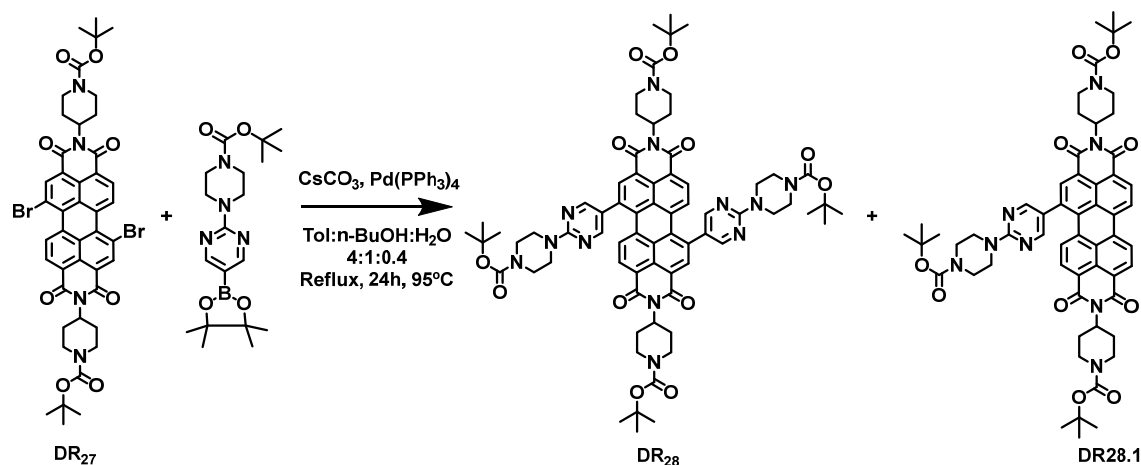


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 455 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 455 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 550 nm.

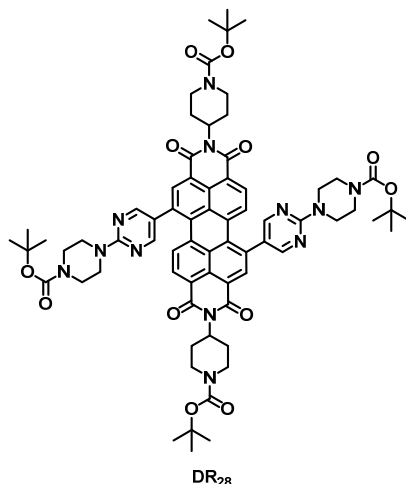
Suzuki coupling of PDI with boronic esters.



Synthesis:

N,N'-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-dibromoperylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR27**) (0.25 g, 0.27 mmol) was dried in a schlenk flask under inert atmosphere. Then, 100 ml of toluene:*n*-butanol:water (4:1:0.4) were added. Finally, Pd(PPh₃)₄ (31.2 mg, 0.03 mmol), cesium carbonate (0.27 g, 0.82 mmol) and 2-(4-(*N-tert*-butyl-1-carboxylate)piperazin-1-yl)pyrimidine-5-boronic

acid pinacol ester (0.22 g, 0.56 mmol) were added. The reaction mixture was stirred under reflux (95 C) for 24 hours. A colour change of the reaction mixture from red to black was observed. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 2:1 to CH₂Cl₂:MeOH, 50:1) to afford the disubstituted perylene diimide **DR28** and the monosubstituted one **DR28.1** as a red solids.



***N,N'*-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-di((4-(*tert*-butoxy carbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)peryene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR28**)** was obtained in 60% yield (209.0 mg, 0.16 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.27.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2975 (C-H, aromatic), 2930 (C-H, aliphatic), 2857 (C-H, aliphatic), 1696 (C=O, carbamate), 1661 (C=O, imide), 1588, 1511 (C=C), 1452, 1410 (C-N), 1393 (C-N), 1361, 1341, 1320, 1242, 1166 (C-N), 989, 964, 943, 863, 810 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.51 (s, 2H, Ar-H), 8.49 (s, 4H, Ar-H), 8.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 8.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 5.24 – 5.10 (m, 2H, N-CH), 4.44 – 4.18 (m, 4H, CH₂), 3.95 – 3.87 (m, 8H, CH₂), 3.61 – 3.54 (m, 8H, CH₂), 2.95 – 2.81 (m, 4H, CH₂), 2.79 – 2.67 (m, 4H, CH₂), 1.73 – 1.66 (m, 4H, CH₂), 1.51 (s, 18H, CH₃), 1.50 (s, 18H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 163.7 (C), 163.6 (C), 160.8 (C), 158.1 (CH), 154.9 (C), 154.8 (C), 135.1 (C), 135.1 (CH), 135.0 (C), 132.4 (C), 130.1 (CH), 129.6 (C), 129.4 (CH), 128.1 (C), 124.3 (C), 123.2 (C), 122.5 (C), 80.3 (C), 79.8

(C), 52.2 (CH), 43.9 (CH₂), 31.1 (CH₂), 29.9 (CH₂), 28.6 (CH₃), 28.6 (CH₃), 28.4 (CH₂).

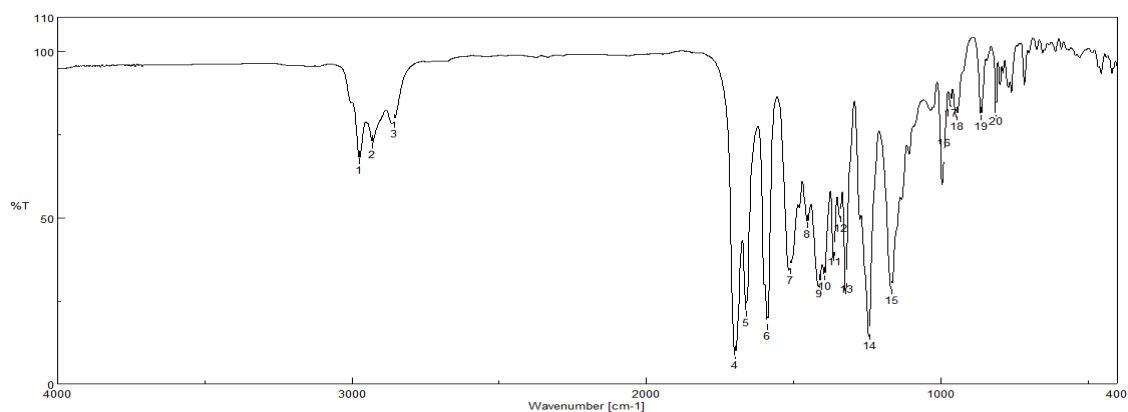
HR-MS (MALDI-, DCTB): m/z calcd. for C₇₀H₈₀N₁₂O₁₂ ([M]⁻): 1280.6013; found: 1280.5937.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{\max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 587 (35800).

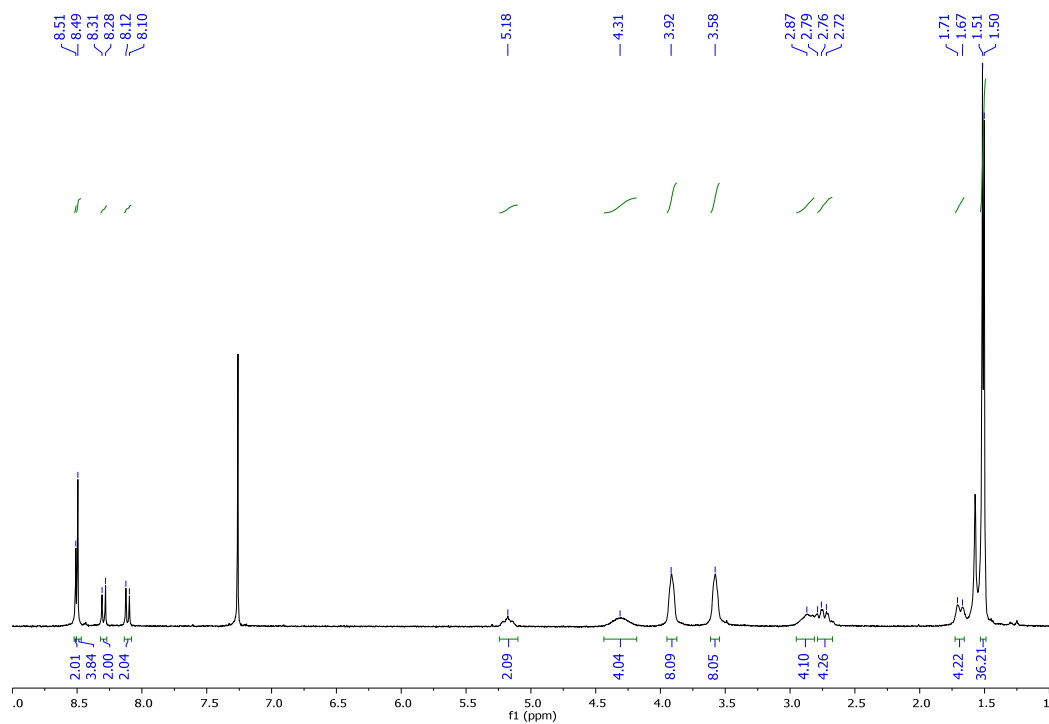
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex} =434 nm) λ_{\max} / nm: 670.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ^2): 3.28 (39.60%) and 8.08 (1.05).

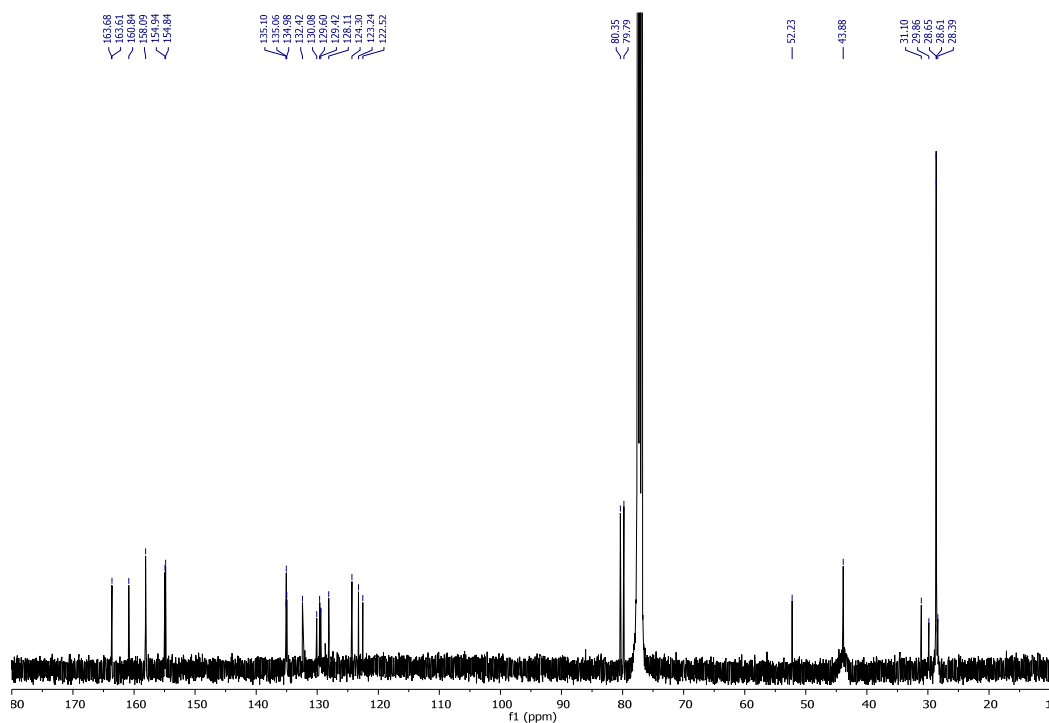
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex} =455 nm): 0.34 ± 0.01.



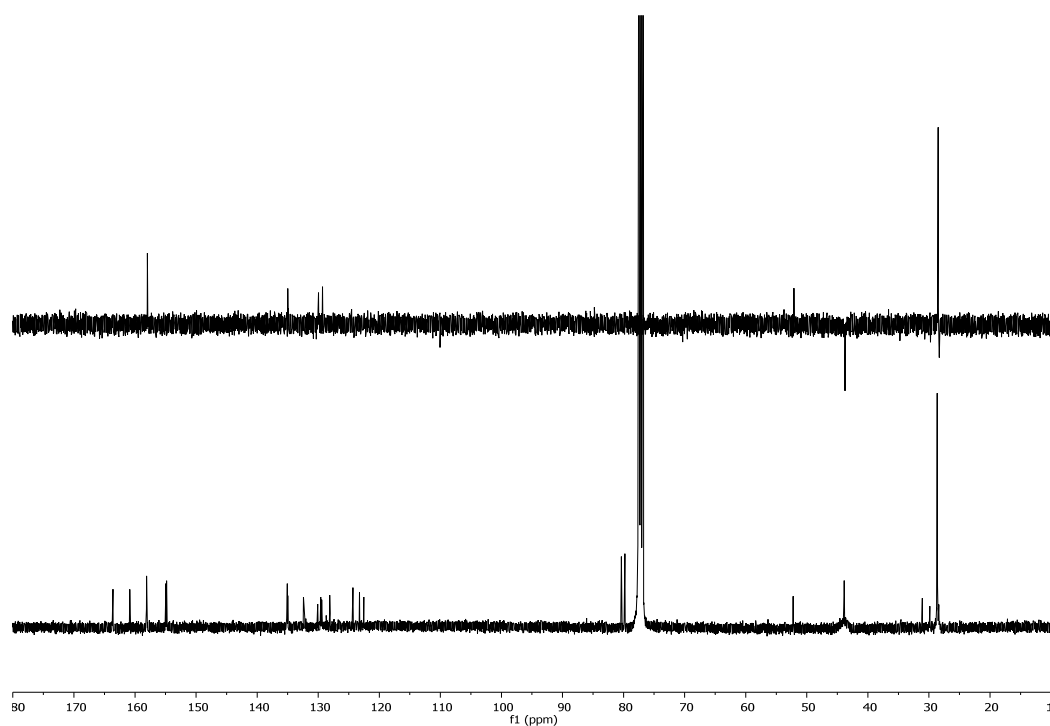
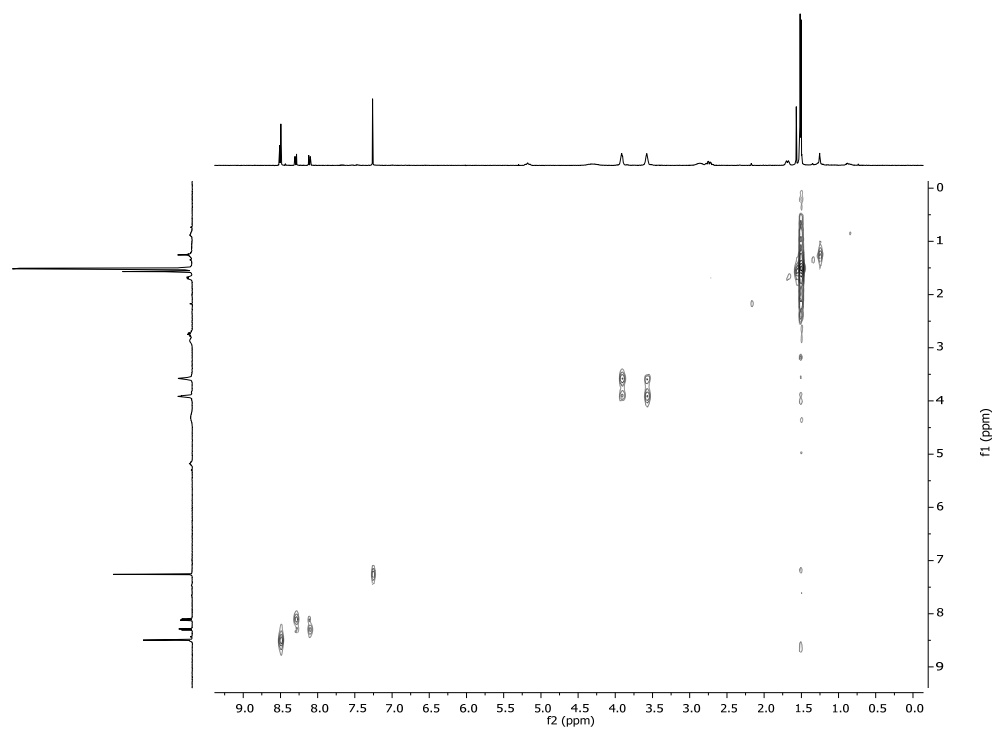
FT-IR (KBr)

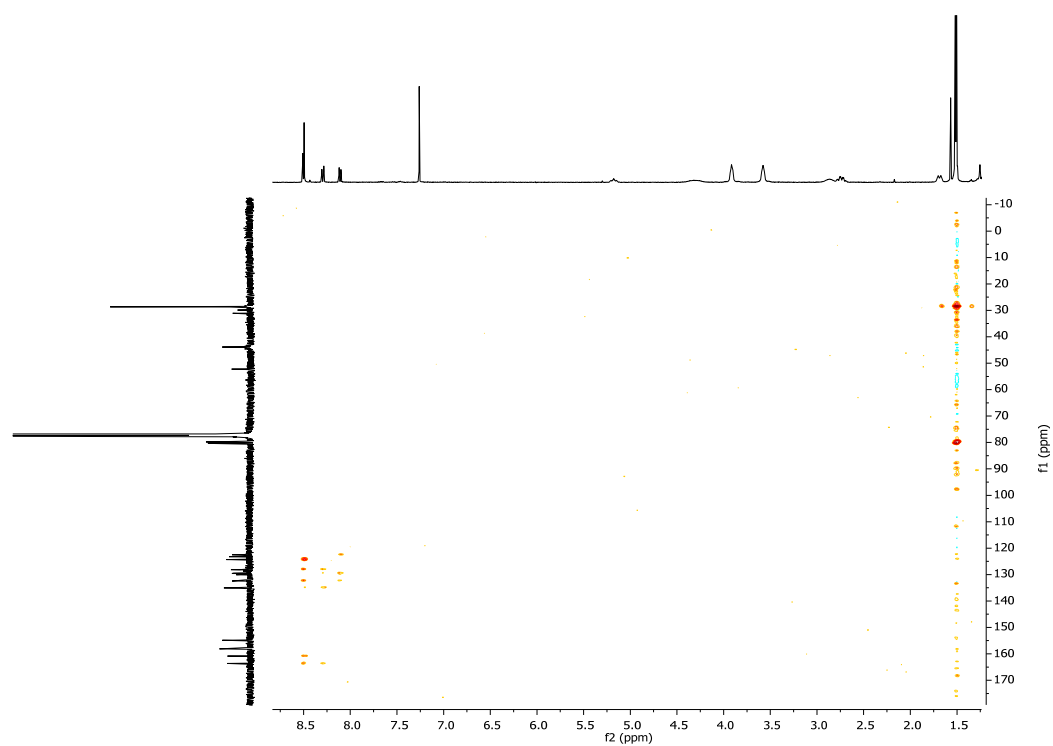


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)

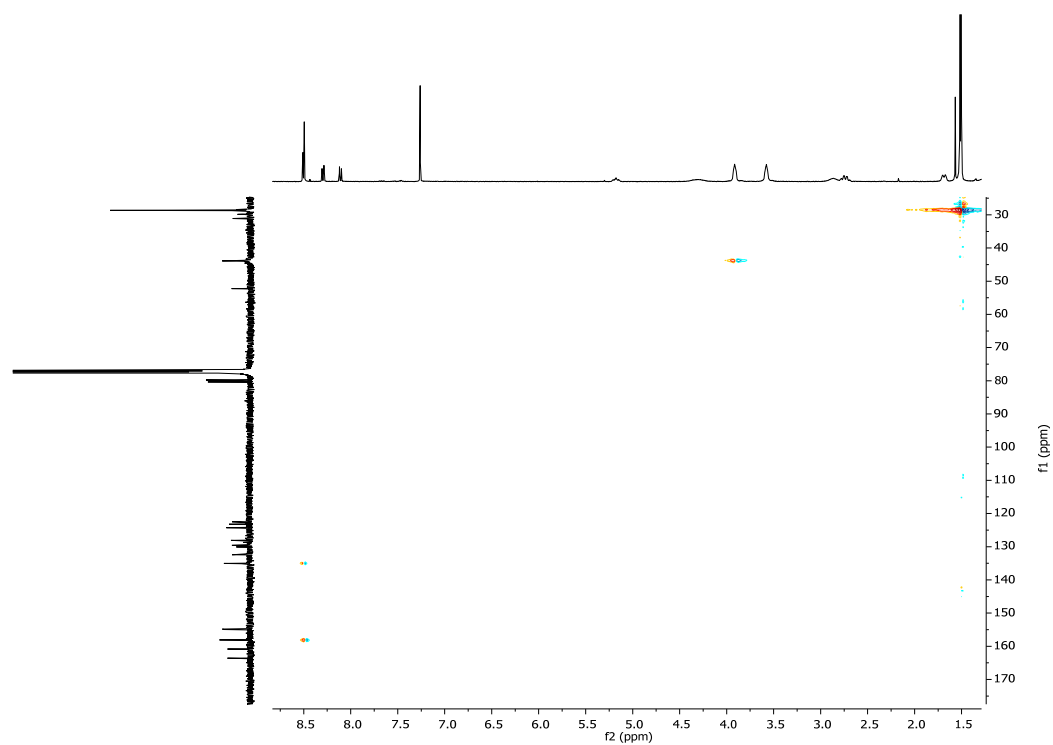


¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)

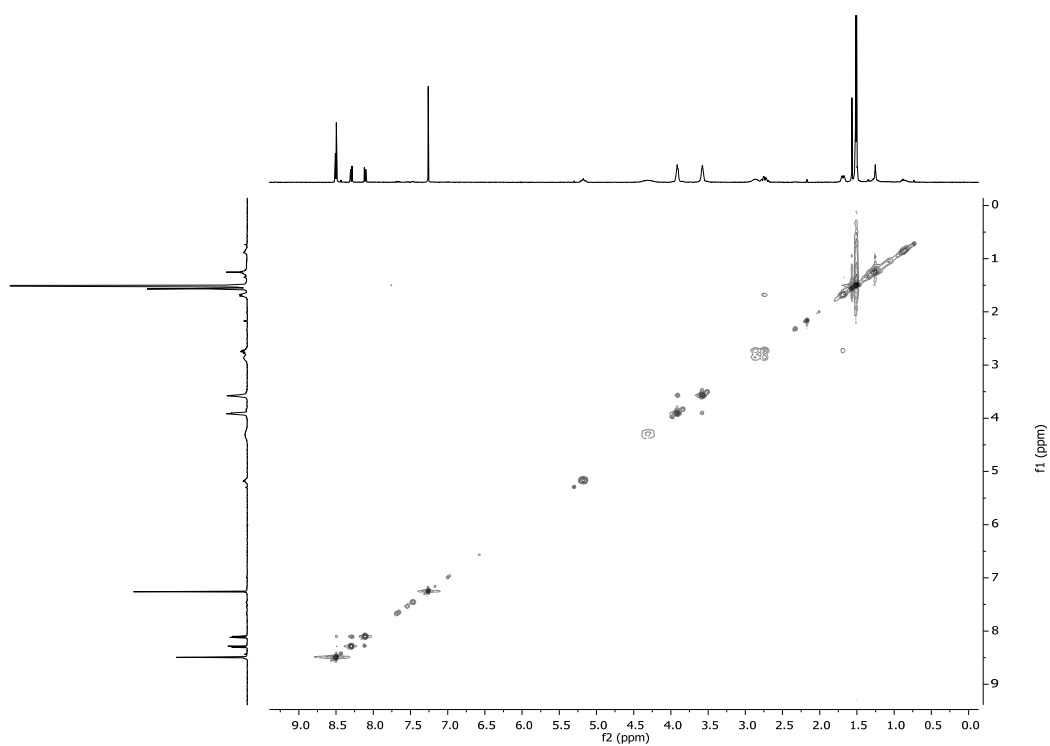
 **^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)** **^1H - ^1H -COSY NMR (400 MHz, CDCl_3)**



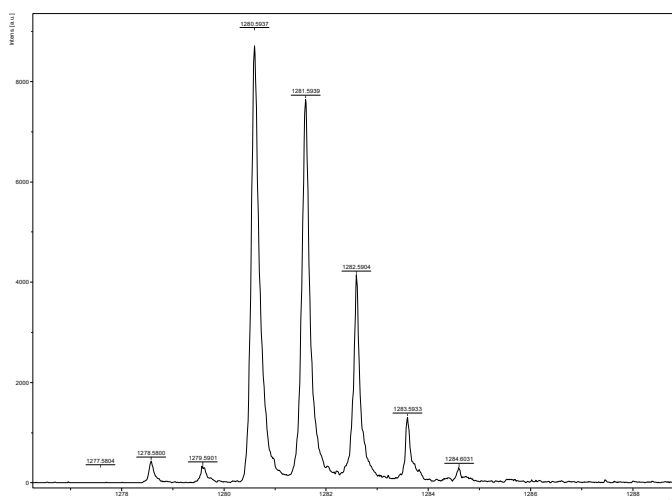
^1H - ^{13}C -HMBC NMR (400 MHz, CDCl_3)



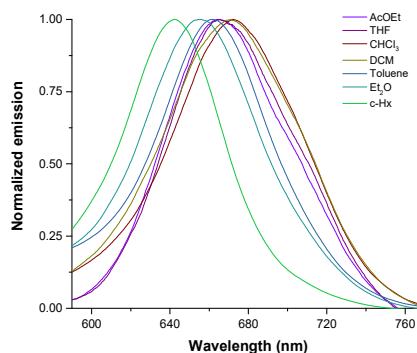
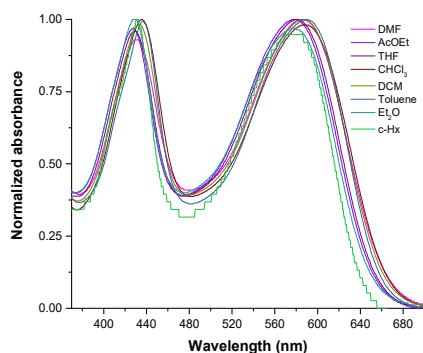
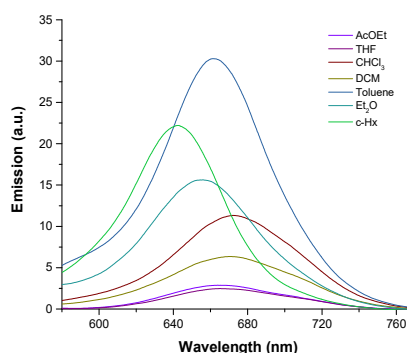
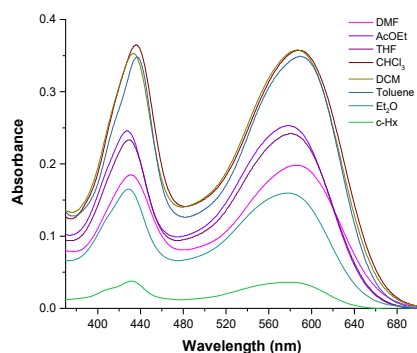
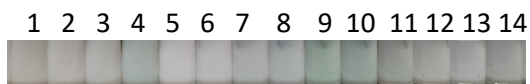
^1H - ^{13}C -HMQC NMR (400 MHz, CDCl_3)



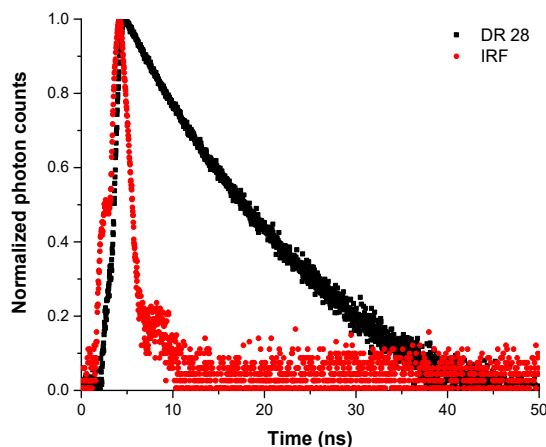
^1H - ^1H -NOESY NMR (400 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI, DCTB)

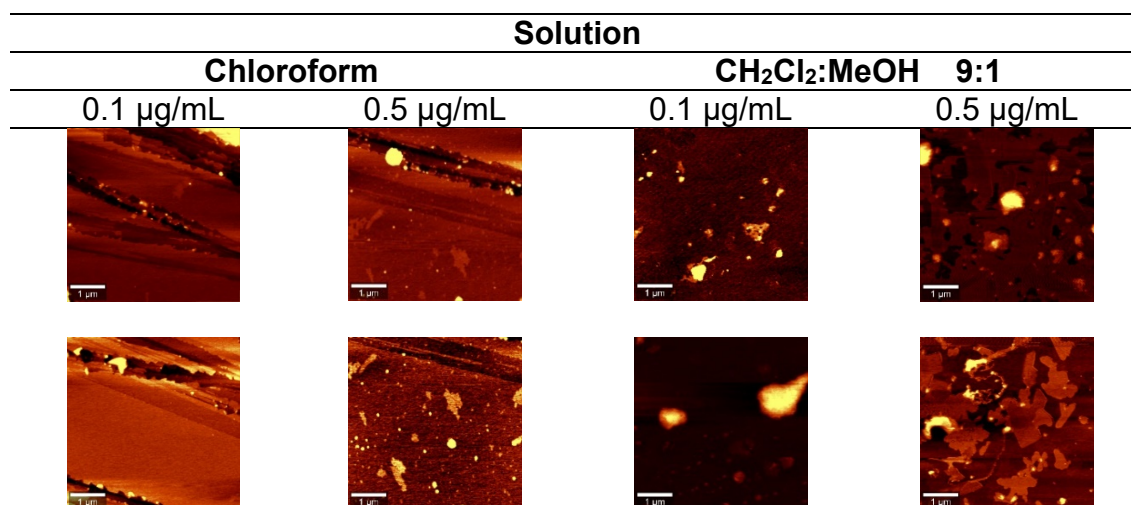


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 434 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 434 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



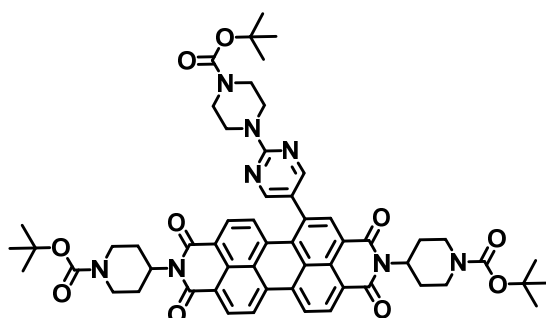
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 405 nm and the emission wavelength 661 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.



Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 28**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 28**.



DR28.1

***N,N'*-Bis-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1-((4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR28.1)** was obtained in 13% yield (40.0 mg, 0.04 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.40.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3055 (C-H, aromatic), 2975 (C-H, aromatic), 2930 (C-H, aliphatic), 2860 (C-H, aliphatic), 1696 (C=O, carbamate), 1654 (C=O, imide), 1591, 1514 (C=C), 1480, 1424 (C-N), 1361 (C-N), 1341, 1274, 1246, 1170 (C-N), 1117, 1026, 992, 968, 943, 860, 808, 748, 720 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.67 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 8.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 8.49 (s, 1H, Ar-H), 8.43 (s, 2H, Ar-H), 8.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 8.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 8.19 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 8.10 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 5.26 – 5.11 (m, 2H, N-CH), 4.44 – 4.22 (m, 4H, CH₂), 3.94 – 3.89 (m, 4H, CH₂), 3.61 – 3.56 (m, 4H, CH₂), 2.92 – 2.68 (m, 8H, CH₂), 1.74 – 1.66 (m, 4H, CH₂), 1.52 (s, 9H, CH₃), 1.51 (s, 9H, CH₃), 1.50 (s, 9H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 163.9 (C), 163.7 (C), 163.6 (C), 157.8 (CH), 154.8 (C), 135.9 (CH), 135.7 (C), 134.9 (C), 134.9 (C), 134.5 (C), 133.4 (CH), 132.7 (C), 132.1 (C), 132.0 (C), 131.6 (CH), 131.2 (C), 130.6 (C), 129.3 (C), 128.9 (C), 128.3 (C), 124.9 (CH), 124.0 (C), 123.7 (C), 123.5 (C), 123.2 (C), 123.0 (C), 122.9 (C), 80.3 (C), 79.8 (C), 79.8 (C), 52.3 (CH), 52.2 (CH), 43.9 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.7 (CH₃), 28.6 (CH₃), 28.4 (CH₂).

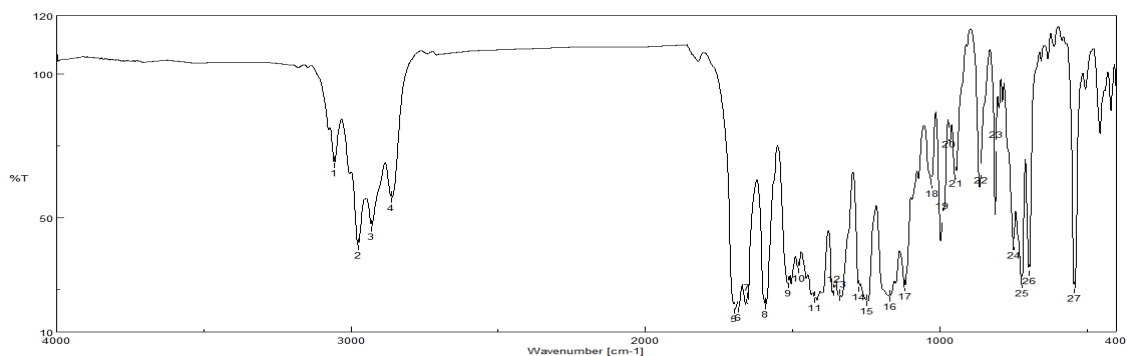
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₅₇H₆₂N₈O₁₀ ([M]⁻): 1018.4583; found: 1018.4367.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 540 (12971).

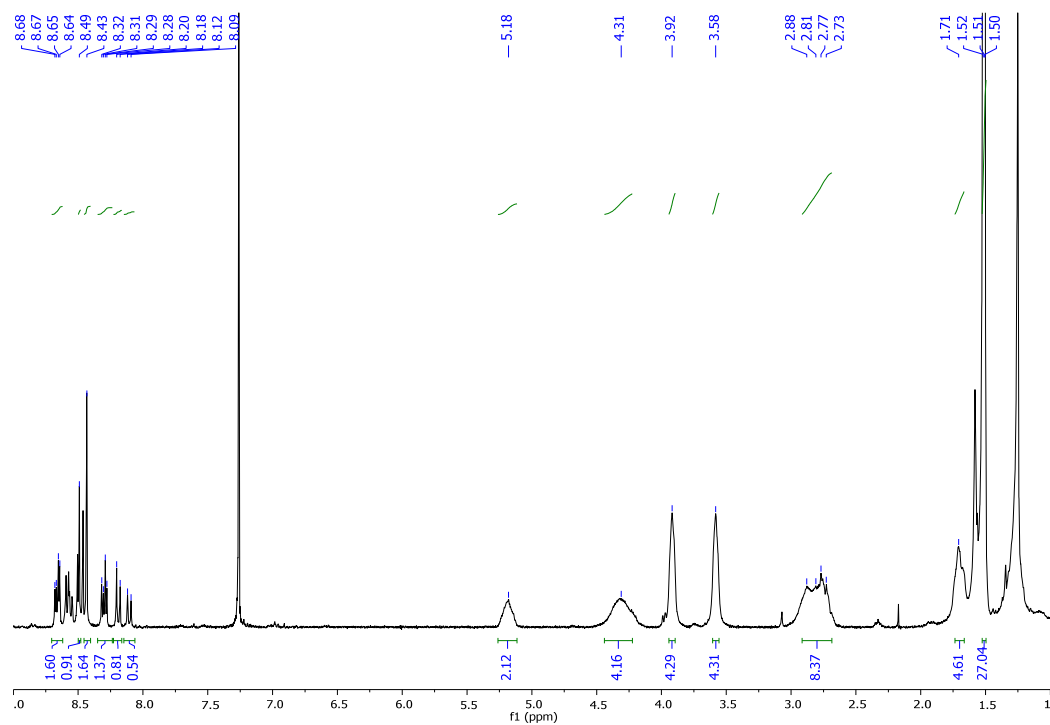
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex}=437 nm) λ_{max} / nm: 632.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ₂): 4.90, (1.12).

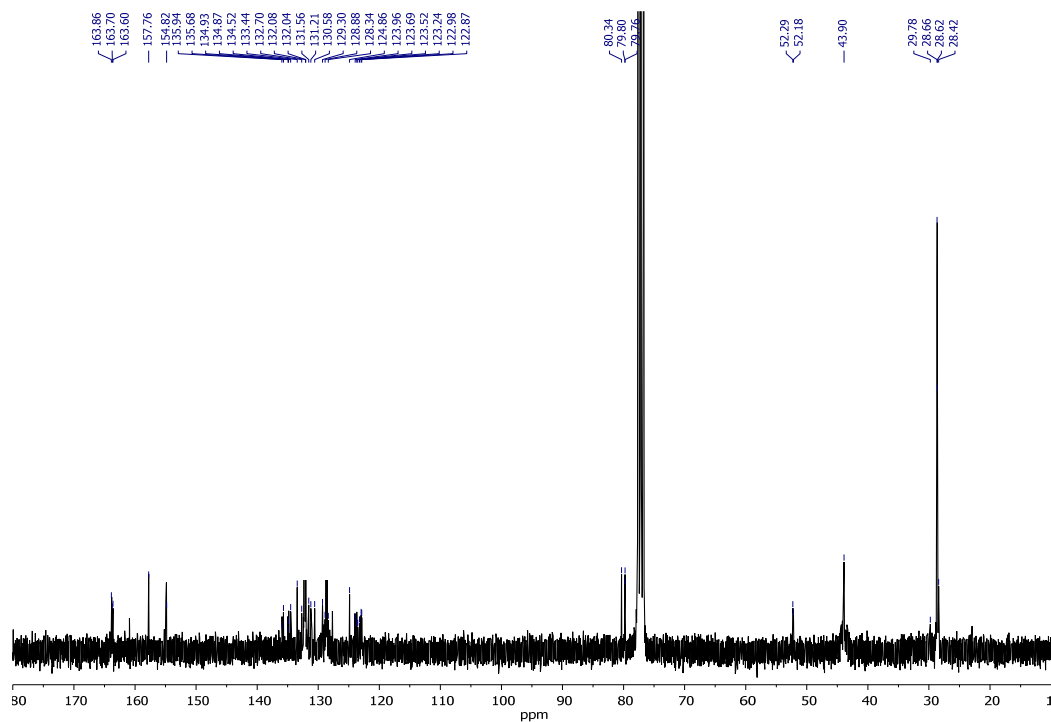
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex}=455 nm): 0.34 ± 0.01.



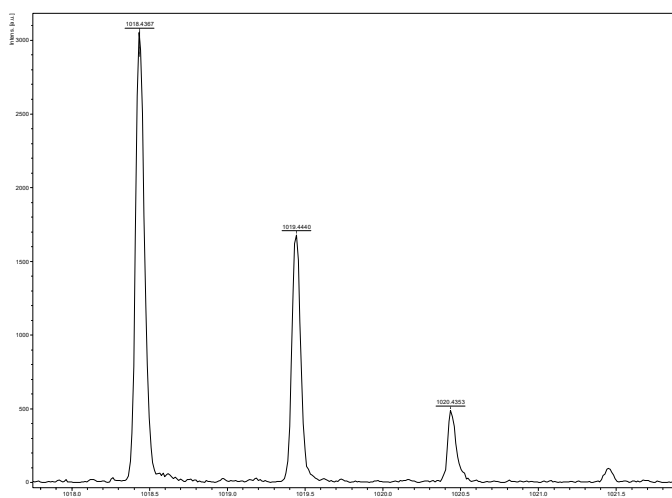
FT-IR (KBr)



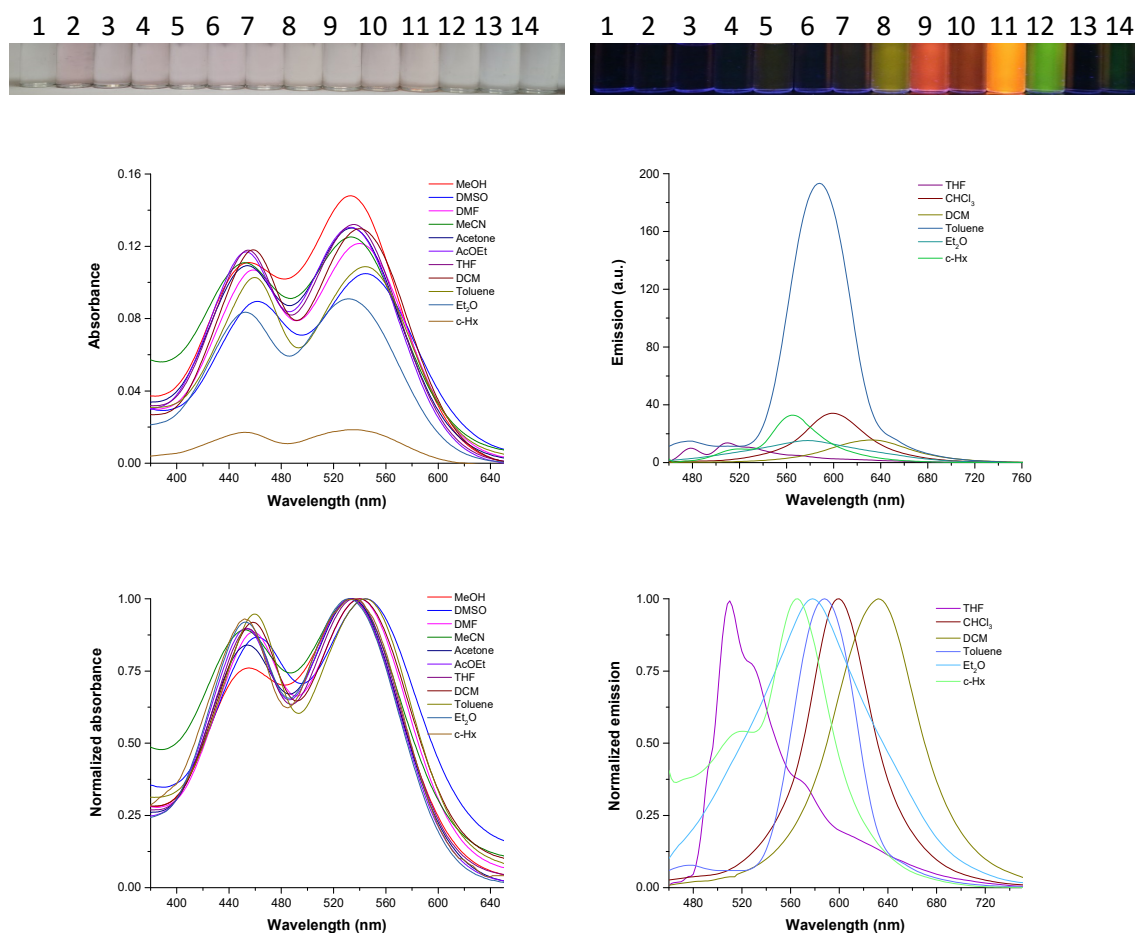
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



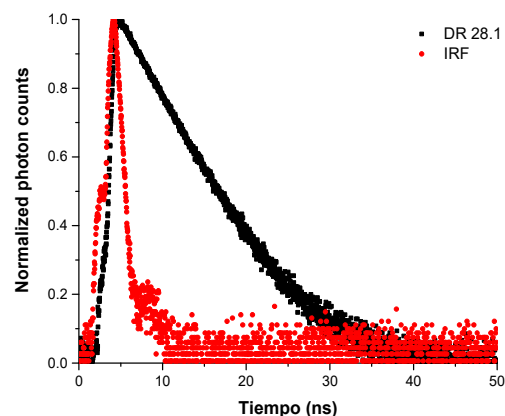
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI-, DIT)



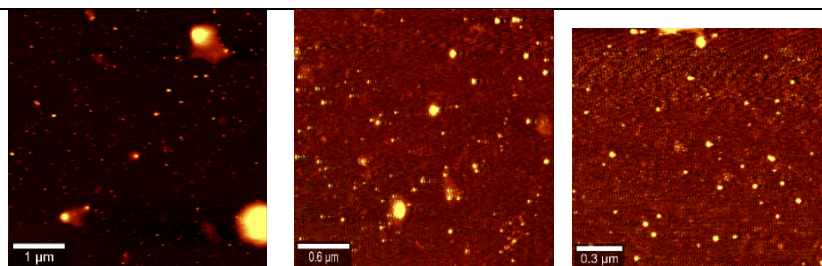
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 437 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 437 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 588 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in chloroform at 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

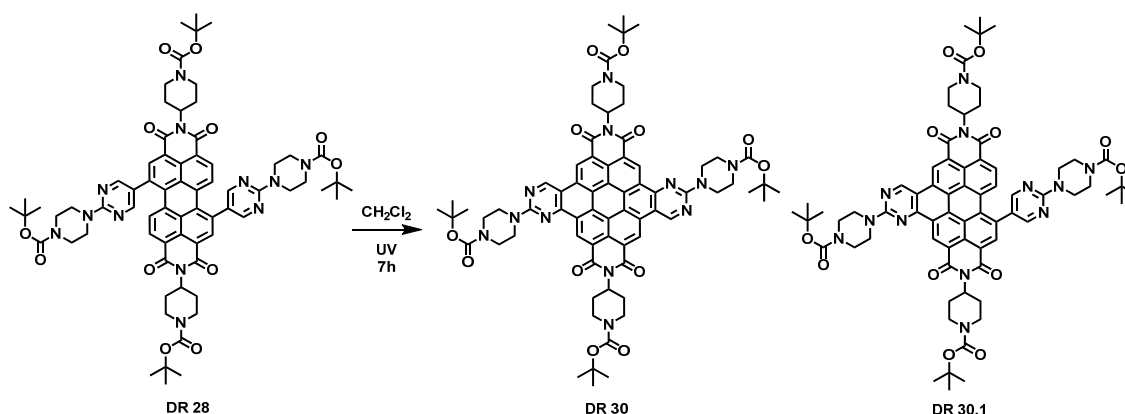
Chloroform 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$



Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 28.1**.

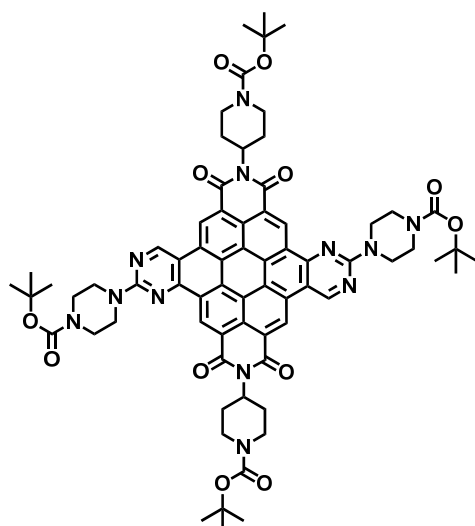
Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 28.1**.

Ring closure at bay positions of disubstituted PDI.



Synthesis:

N,N'-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-di((4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR28**) (48.0 mg, 0.04 mmol) in CH_2Cl_2 (58 ml) was added under inert atmosphere to a flat bottom flask, equipped with a magnetic stirrer and a cooling system. The reaction mixture was stirred under UV-VIS irradiation (50W, 4 cm of distance) for seven hours. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH_2Cl_2 :MeCN, 5:1) to afford two perylene diimides as a purple solids that show red emission in solid state.



DR 30

***N,N'*-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-(2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (DR 30)** was obtained in 61% yield (40.3 mg, 0.03 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:2): 0.41.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2958 (C-H, aromatic), 2923 (C-H, aliphatic), 2853 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1609, 1570, 1525 (C=C), 1452, 1414 (C-N), 1365 (C-N), 1354, 1341, 1316, 1274, 1246, 1170 (C-N), 1226, 1166, 1083, 992, 936, 912, 860, 811, 772, 758 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 10.00 – 8.55 (m, 6H, Ar-H), 5.51 – 5.22 (m, 2H, CH₂), 4.66 – 4.43 (m, 4H, CH₂), 4.11 – 3.58 (m, 16H, CH₂), 3.13 – 2.88 (m, 8H, CH₂), 2.31 – 2.07 (m, 4H, CH₂), 1.66 (s, 18H, CH₃), 1.62 (s, 18H, CH₃).

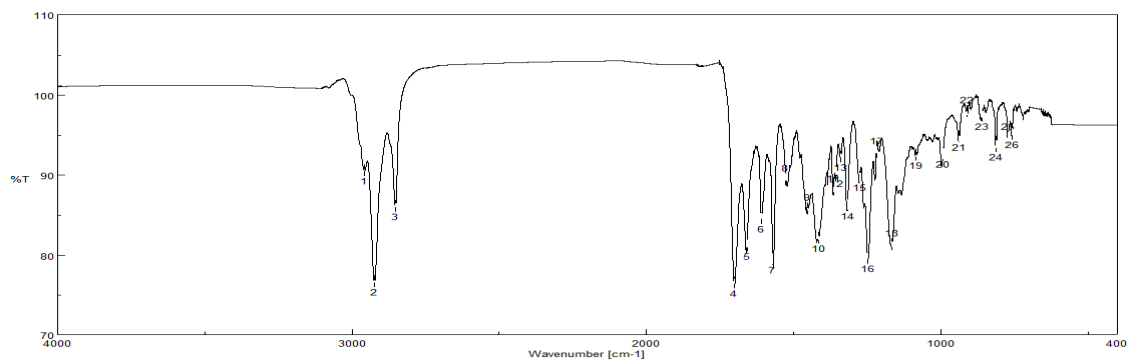
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₇₀H₇₆N₁₂O₁₂ ([M]⁻): 1276.5760; found: 1276.5760.

UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 571 (9288).

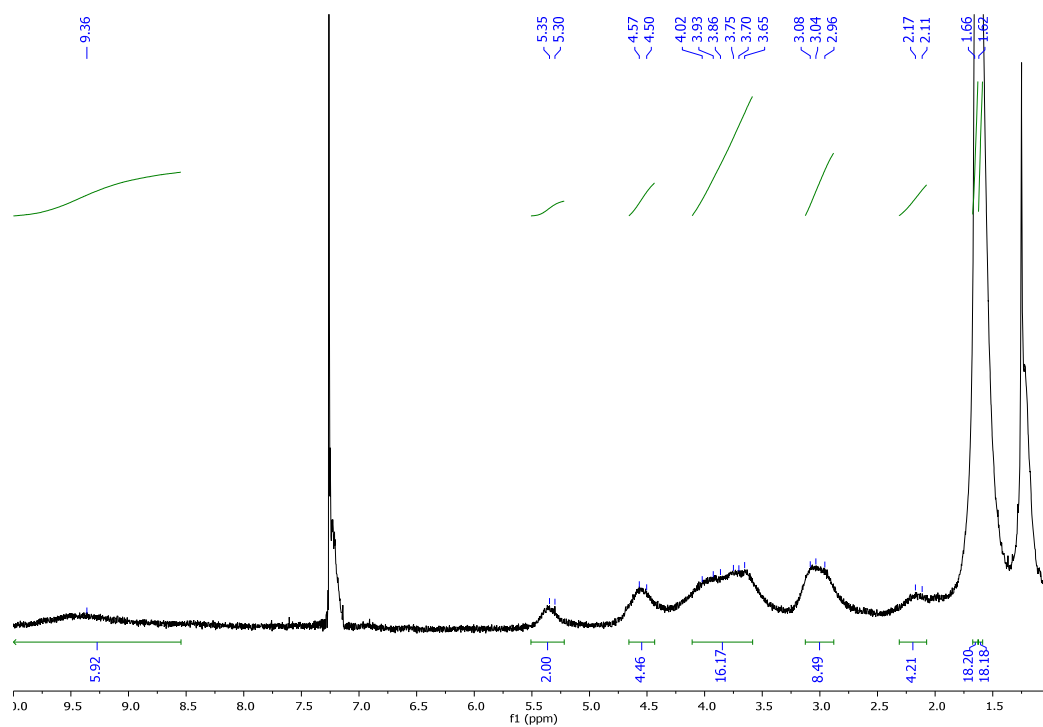
Emission (CHCl₃, λ_{ex}=450 nm) λ_{max} / nm: 611.

τ / ns (CHCl₃ χ₂): 9.00 (1.07).

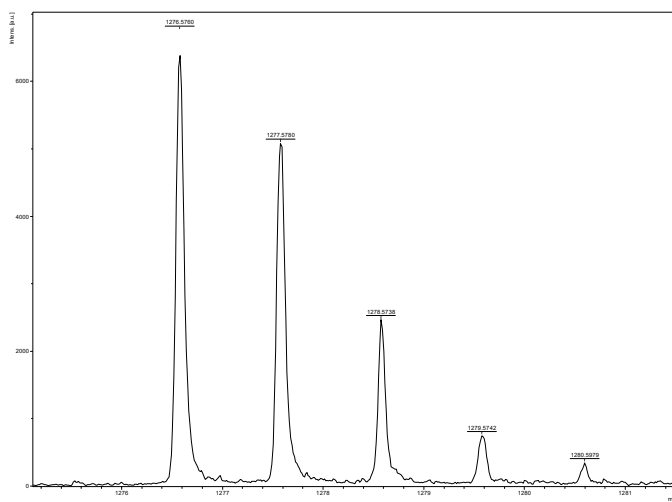
Φ (CHCl₃, λ_{ex}=450 nm): 0.46 ± 0.01.



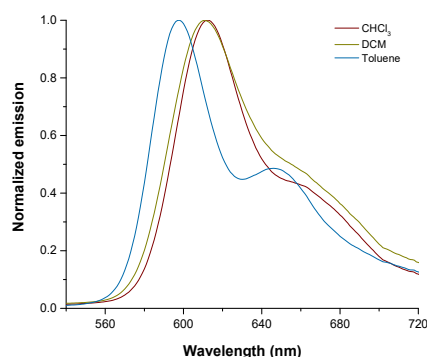
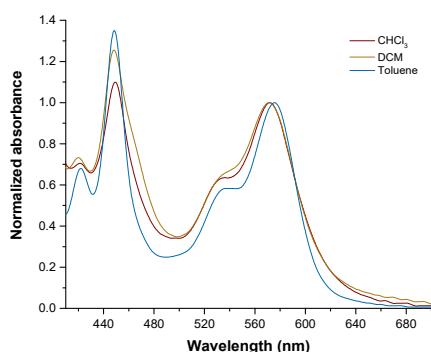
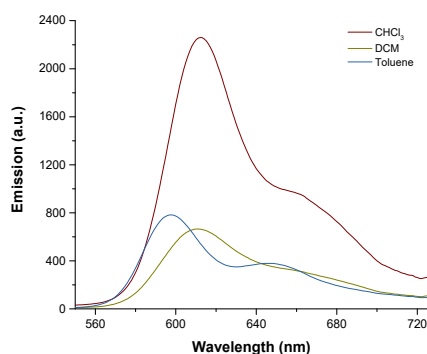
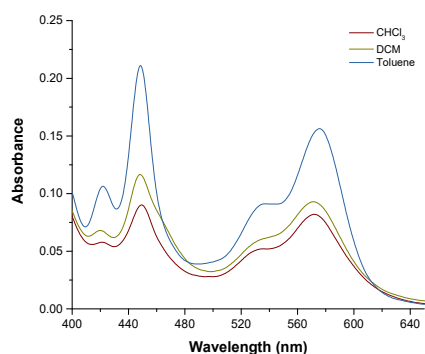
FT-IR (KBr)



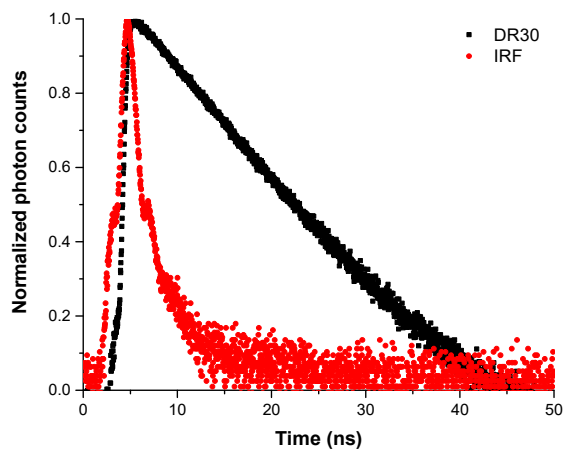
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI-, DIT)

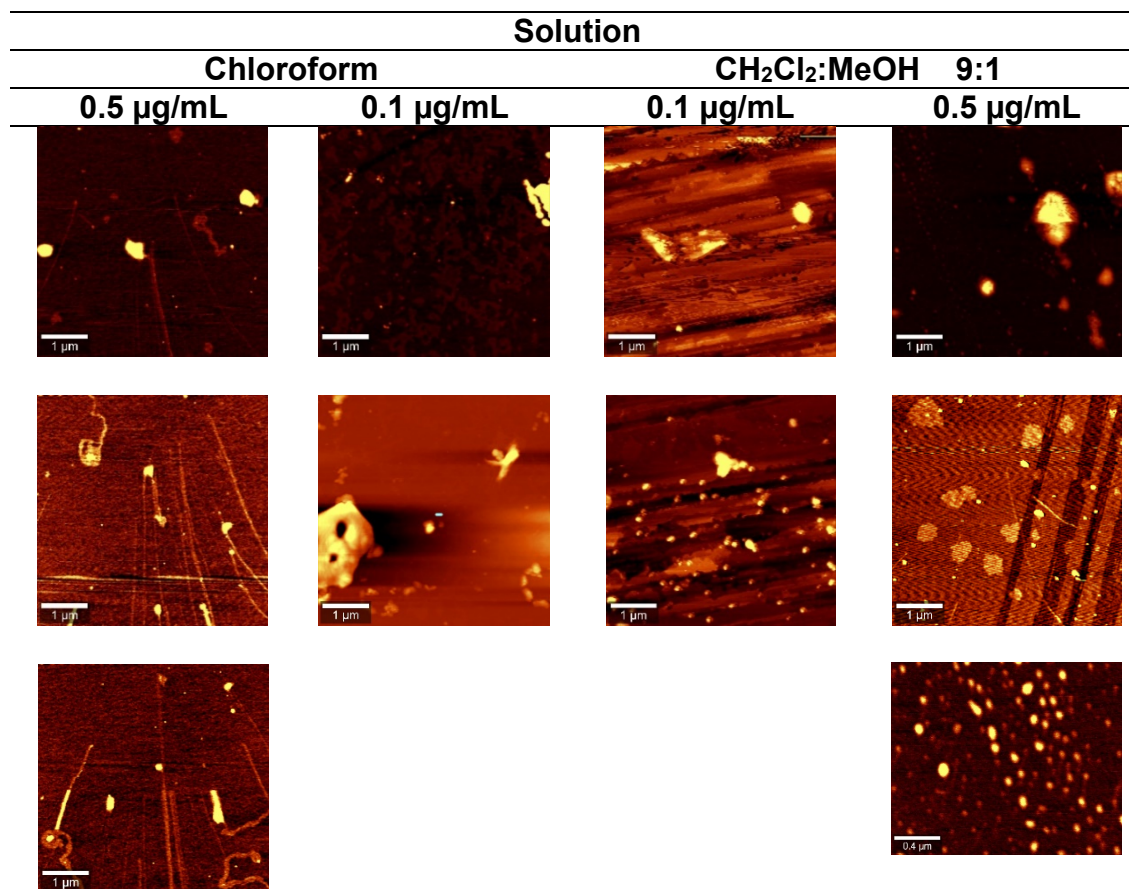


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 450 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 450 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



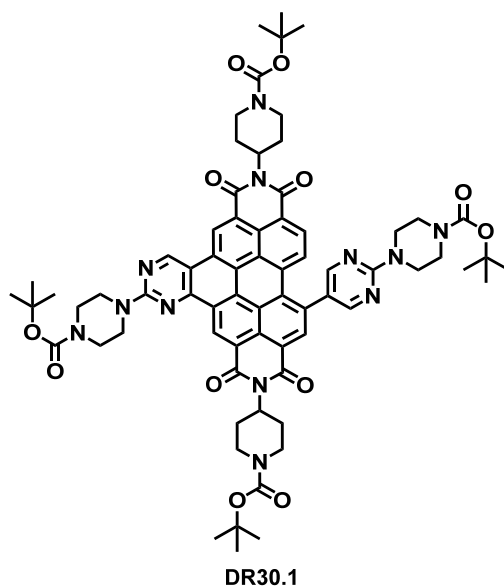
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 611 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.



Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 30**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 30**.



***N,N'*-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-12-((4-(*tert*-butoxy carbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxy carbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic (DR 30.1) was obtained in 60% yield (27.2 mg, 0.02 mmol).**

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:3): 0.41.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2971 (C-H, aromatic), 2926 (C-H, aliphatic), 2853 (C-H, aliphatic), 1699 (C=O, carbamate), 1661 (C=O, imide), 1602, 1591, 1574, 1511 (C=C), 1452, 1414 (C-N), 1365 (C-N), 1341, 1320, 1242, 1166 (C-N), 992, 940, 863, 845, 814, 758 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CHCl₃) δ: 9.69 – 9.11 (m, 3H, Ar-H), 8.89 – 8.27 (m, 5H, Ar-H), 5.36 – 5.22 (m, 2H, N-CH), 4.63 – 4.31 (m, 4H, CH₂), 4.16 – 3.93 (m, 8H, CH₂), 3.77 – 3.58 (m, 8H, CH₂), 3.08 – 2.85 (m, 8H, CH₂), 1.99 – 1.91 (m, 4H, CH₂), 1.59 (s, 18H, CH₃), 1.55 (s, 9H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 163.9, 163.7, 163.4, 163.1, 161.1, 159.1, 157.6, 155.0, 155.0, 154.9, 149.5, 141.3, 135.5, 135.5, 135.5, 135.4, 132.5, 132.5, 131.9, 129.1, 129.1, 127.6, 127.6, 127.0, 127.0, 125.4, 124.7, 123.8, 121.9, 121.8, 121.3, 121.3, 121.3, 80.5 (C), 80.3 (C), 79.9 (C), 79.9 (C), 52.8 (CH), 52.8 (CH), 52.7 (CH), 44.0 (CH₂), 44.0 (CH₂), 29.8 (CH₂), 28.8 (CH₂), 28.8 (CH₃), 28.7 (CH₃), 28.7 (CH₃), 28.6 (CH₂).

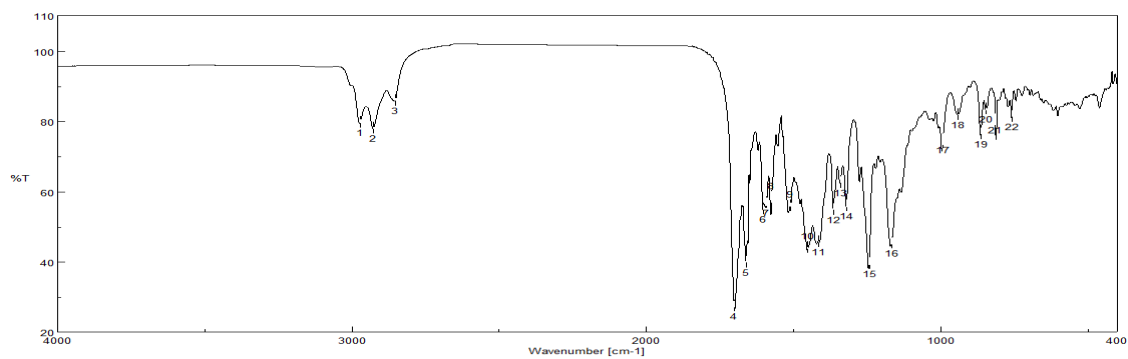
HR-MS (MALDI-, DCTB): *m/z* calcd. for C₇₀H₇₈N₁₂O₁₂ ([M]⁻): 1278.5857; found: 1278.5905.

UV-VIS (CHCl_3) $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$ ($\epsilon / \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$): 573 (17288).

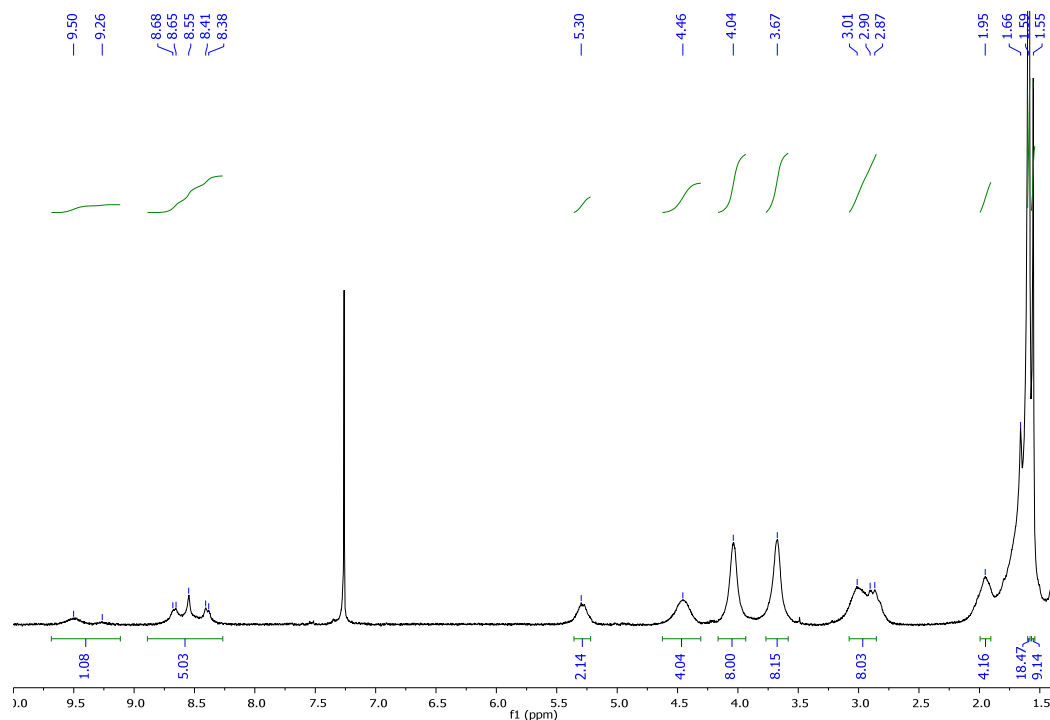
Emission (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=450 \text{ nm}$) $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$: 667.

τ / ns (CHCl_3 , χ^2): 8.02, (1.12).

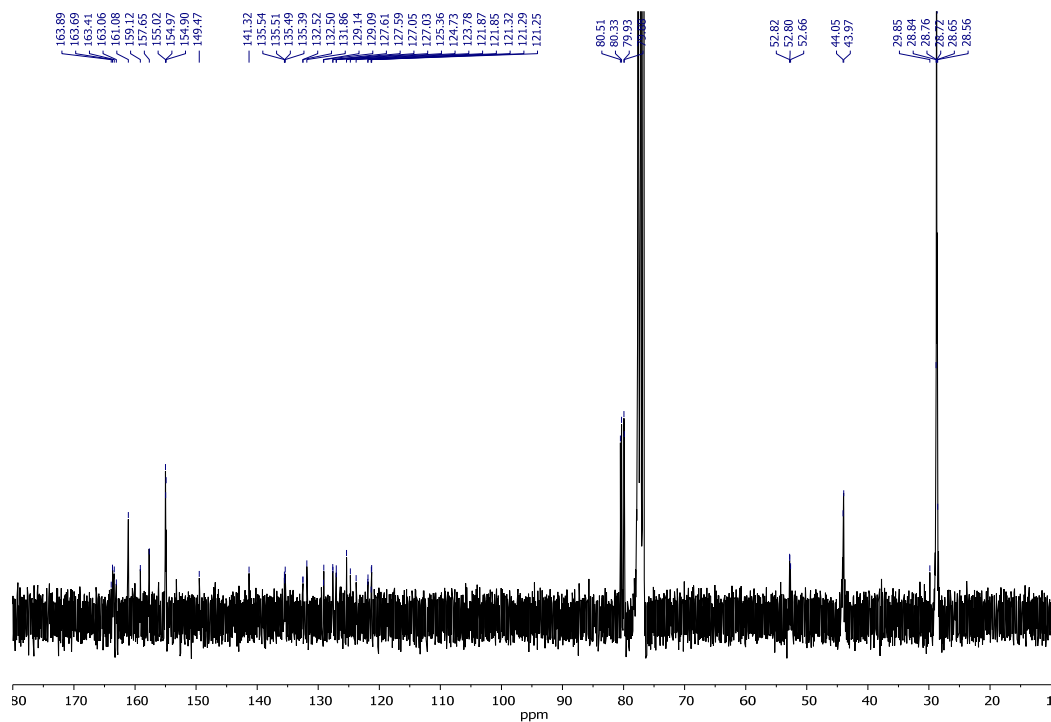
Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=450 \text{ nm}$): 0.63 ± 0.01 .



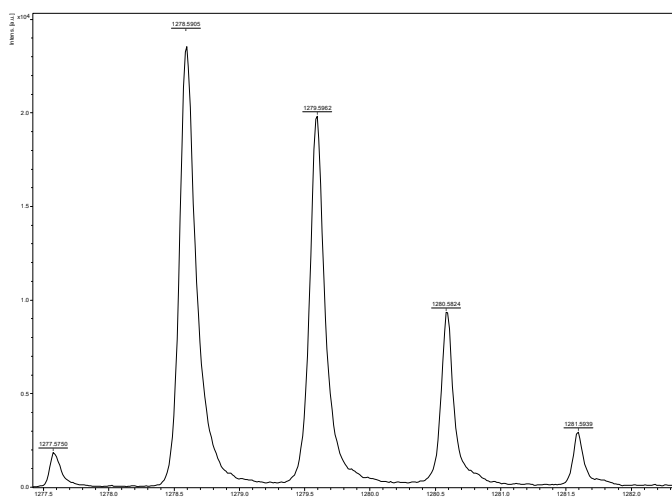
FT-IR (KBr)



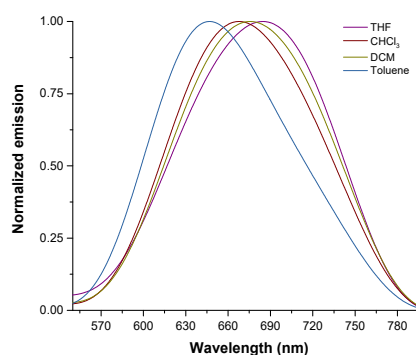
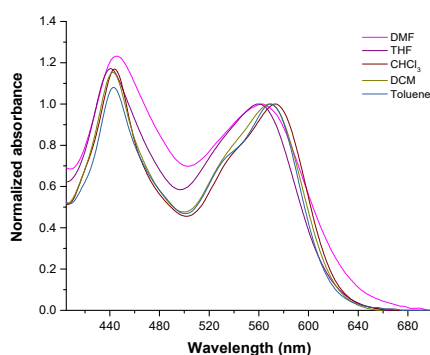
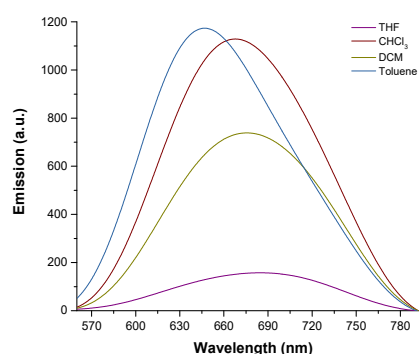
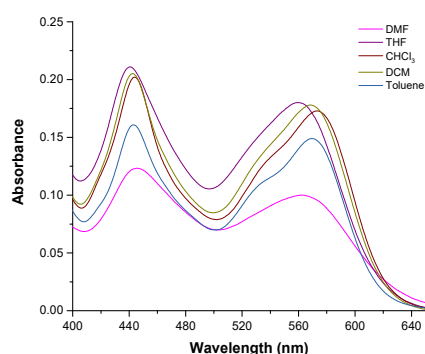
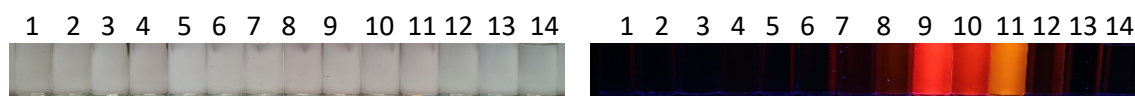
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)



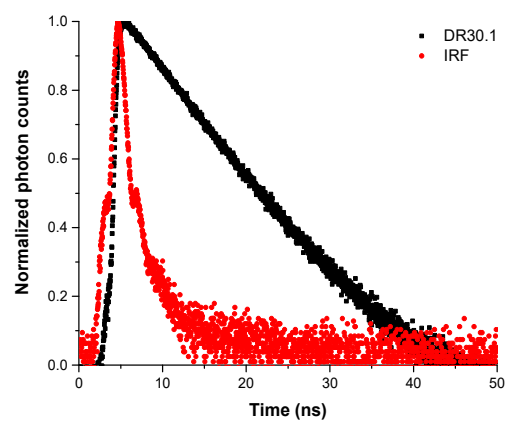
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)



HR-MS (MALDI, DCTB)

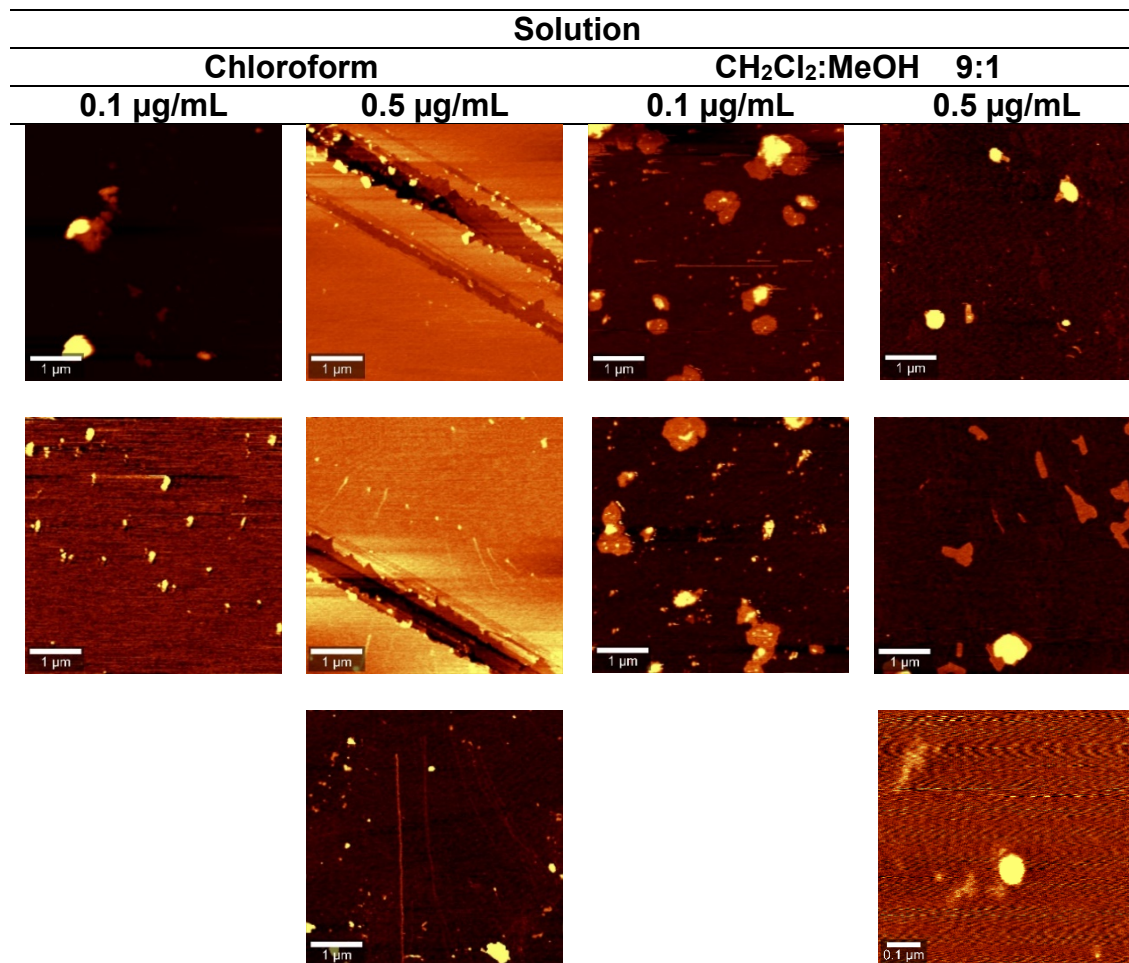


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 450 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 450 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



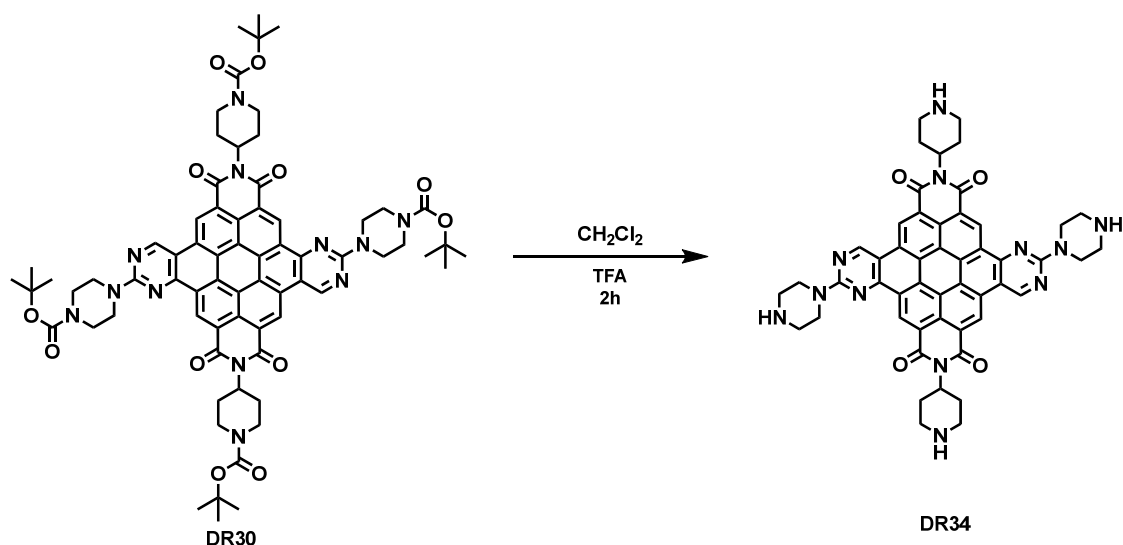
Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 621 nm.

Morphology: AFM images of samples prepared in different solvents (or mixtures of them) and distinct concentrations.

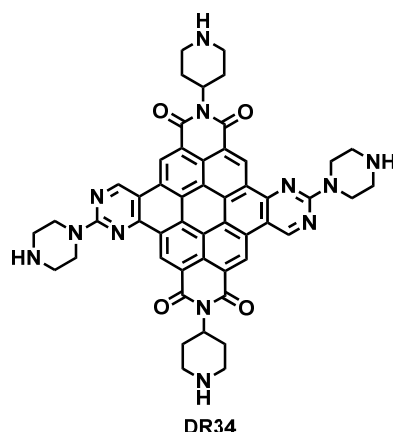


Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 30.1**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMSO and diluted with water (DMSO volume less than 5% of total). These tests resulted **negative** for **DR 30.1**.

Removal of *N*-Boc protecting groups.**Synthesis:**

Trifluoroacetic acid (210 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-(2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (**DR30**) (50.0 mg, 0.02 mmol) in CH₂Cl₂ (2.0 ml). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with CH₂Cl₂, washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a red solid.



***N,N'*-Bis-(piperidin-4-yl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-((1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (DR 34)** was obtained in 99% yield (34.1 mg, 0.04 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3437 (N-H, amine), 2959 (C-H, aromatic), 2921 (C-H, aliphatic), 2849 (C-H, aliphatic), 1685 (C=O, imide), 1606, 1569, 1524 (C=C), 1443 (C-N), 1358 (C-N), 1288, 1134 (C-N), 958, 939, 842, 801, 769, 757, 725 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, TFA) δ: 7.72 – 7.34 (m, 4H, Ar-H), 7.26 – 7.05 (m, 2H, Ar-H), 5.97 – 5.71 (m, 2H, N-CH), 5.02 – 4.82 (m, 8H, CH₂), 4.09 – 3.94 (m, 12H, CH₂), 3.62 – 3.45 (m, 8H, CH₂), 2.47 – 2.32 (m, 4H, CH₂), 0.91 – 0.84 (m, 4H, CH₂).

HR-MS (MALDI+, DCTB): m/z calcd. for C₅₀H₄₅N₁₂O₄ ([M+H]⁺): 877.3681; found: 877.4124.

MS (MALDI+, DCTB) _{2DR34}: m/z calcd. for 2(C₅₀H₄₅N₁₂O₄) ([2M+H]⁺): 1754; found: 1757.

HR-MS (MALDI+, DCTB) _{DR34+CB[7]}: m/z calcd. for (C₅₀H₄₅N₁₂O₄+C₄₂H₄₂N₂₈O₁₄) ([M+CB[7]+H]⁺): 2039.7117; found: 2039.7148.

MS (MALDI+, DCTB) _{DR34+CB[7]}: m/z calcd. for (C₅₀H₄₅N₁₂O₄+2C₄₂H₄₂N₂₈O₁₄) ([M+2CB[7]+H]⁺): 3203; found: 3208.

UV-VIS (H₂O) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 550 (1819).

Emission (H₂O, λ_{ex}=369 nm) λ_{max} / nm: 520.

τ / ns (H₂O, χ^2): 3.1 (29.48%) and 6.55 (70.52%) (1.08).

τ / ns (H₂O, χ^2) DR34+CB[7] (1:100 in mol): 6.20 (1.03).

τ / ns (H₂O, χ^2) DR34+TNB (1:150 in mol): 4.95 (1.12).

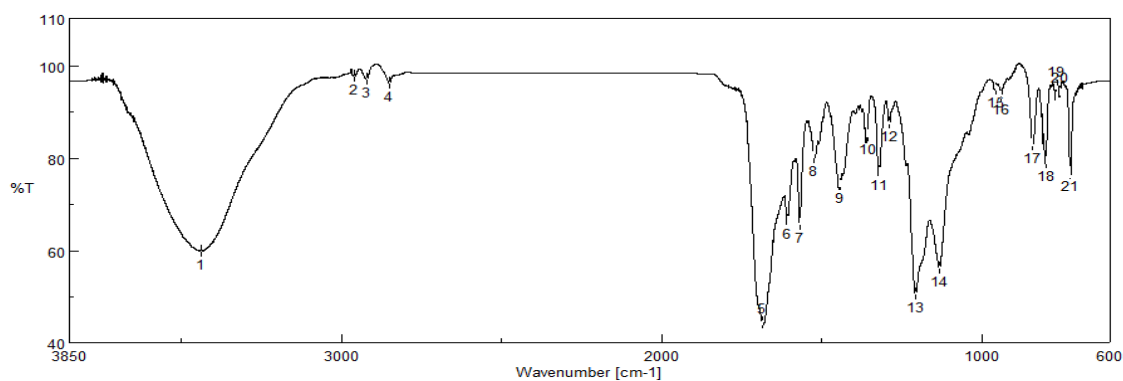
τ / ns (H₂O, χ^2) DR44+TNT (1:150 in mol): 4.62 (1.26).

Φ (H₂O, $\lambda_{\text{ex}}=369$ nm): <0.01.

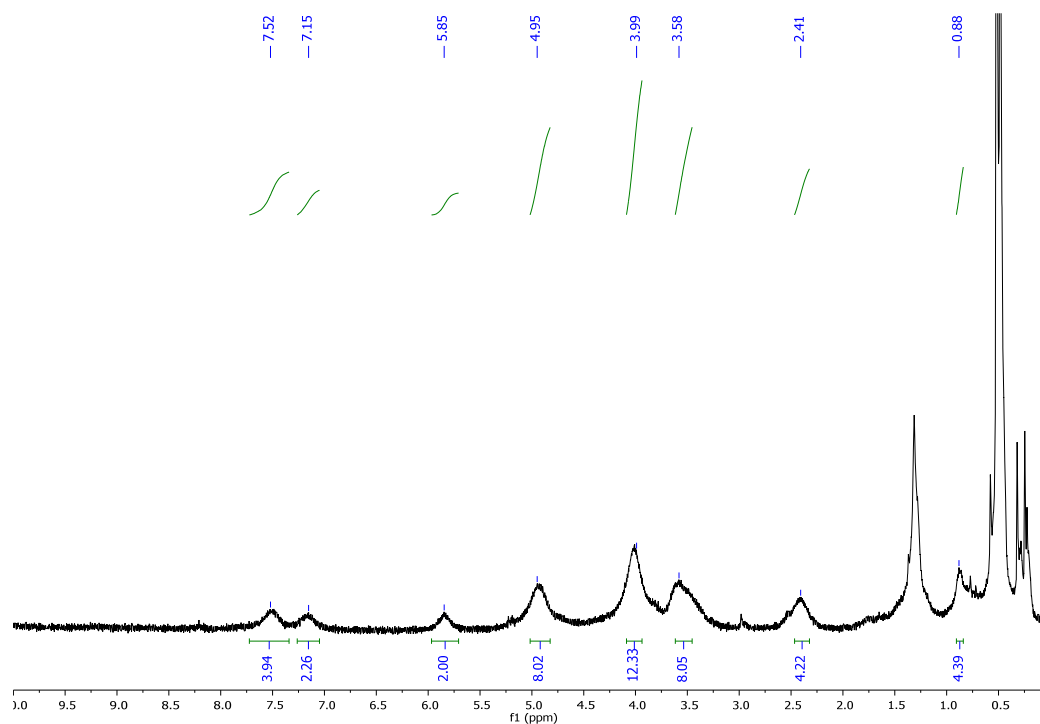
Φ (H₂O, $\lambda_{\text{ex}}=445$ nm)DR34+CB[7] (1:100 in mol): 0.20 ± 0.01 .

Φ (H₂O, $\lambda_{\text{ex}}=445$ nm)DR34+TNB (1:150 in mol): 0.02 ± 0.01 .

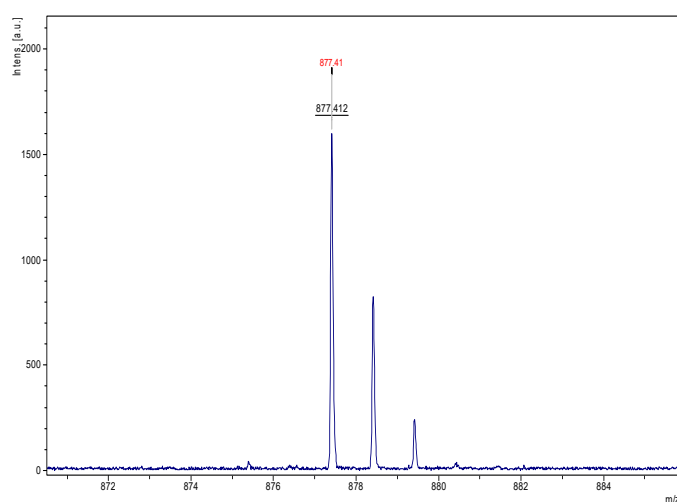
Φ (H₂O, $\lambda_{\text{ex}}=445$ nm)DR44+TNT (1:150 in mol): 0.03 ± 0.01 .



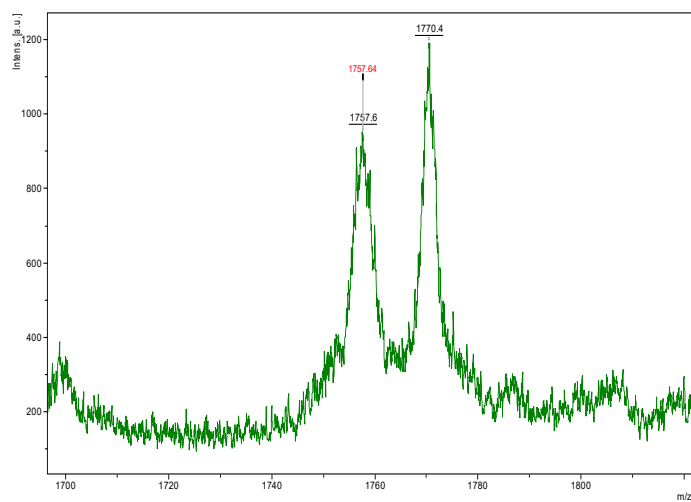
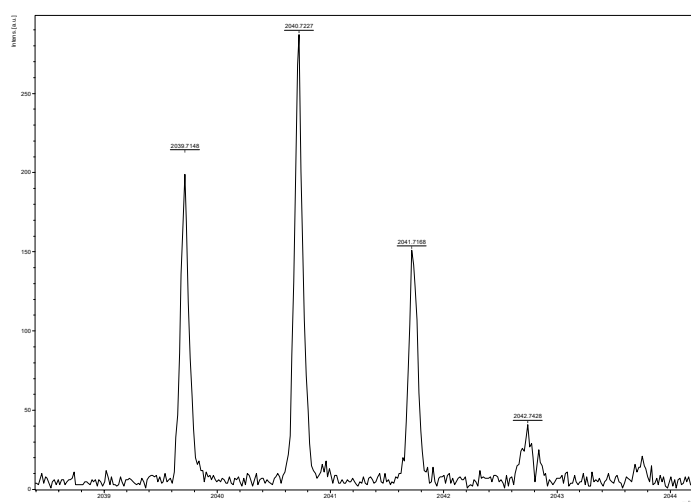
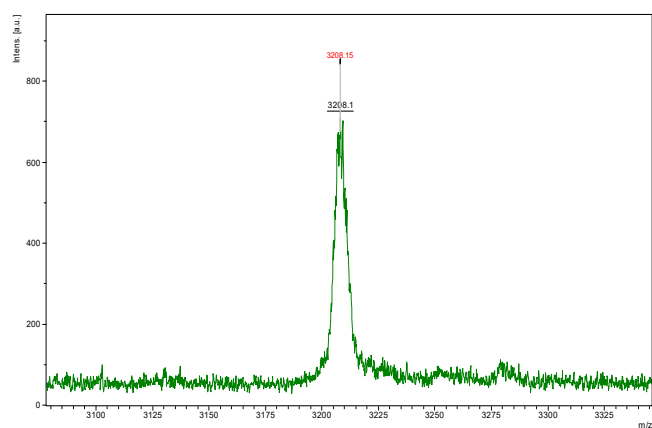
FT-IR (KBr)



¹H NMR (300 MHz, TFA)



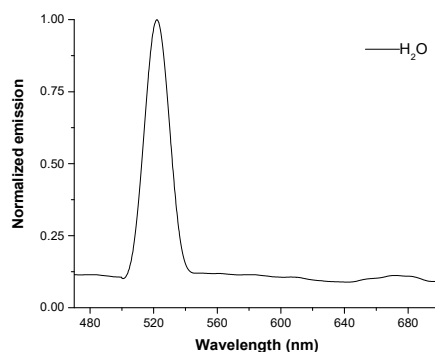
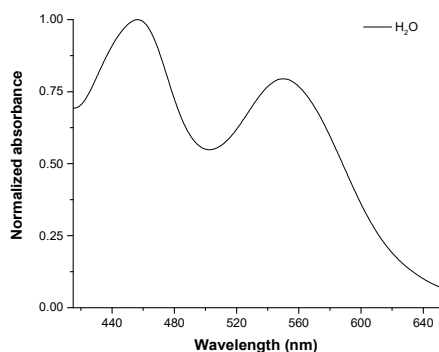
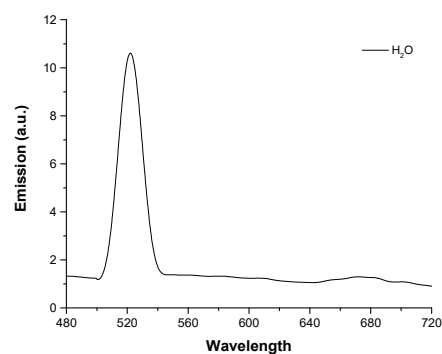
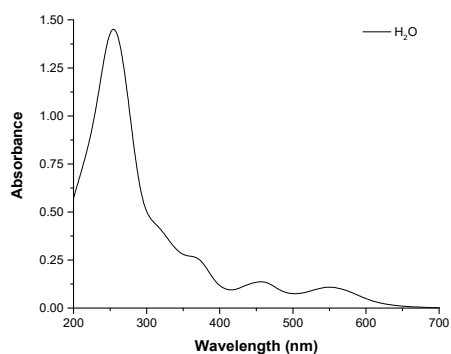
HR-MS (MALDI, DCTB)

**HR-MS (MALDI+, DCTB) DR34 dimer****HR-MS (MALDI+, DCTB) DR34 + 1CB[7]****HR-MS (MALDI+, DCTB) DR34 + 2CB[7]**

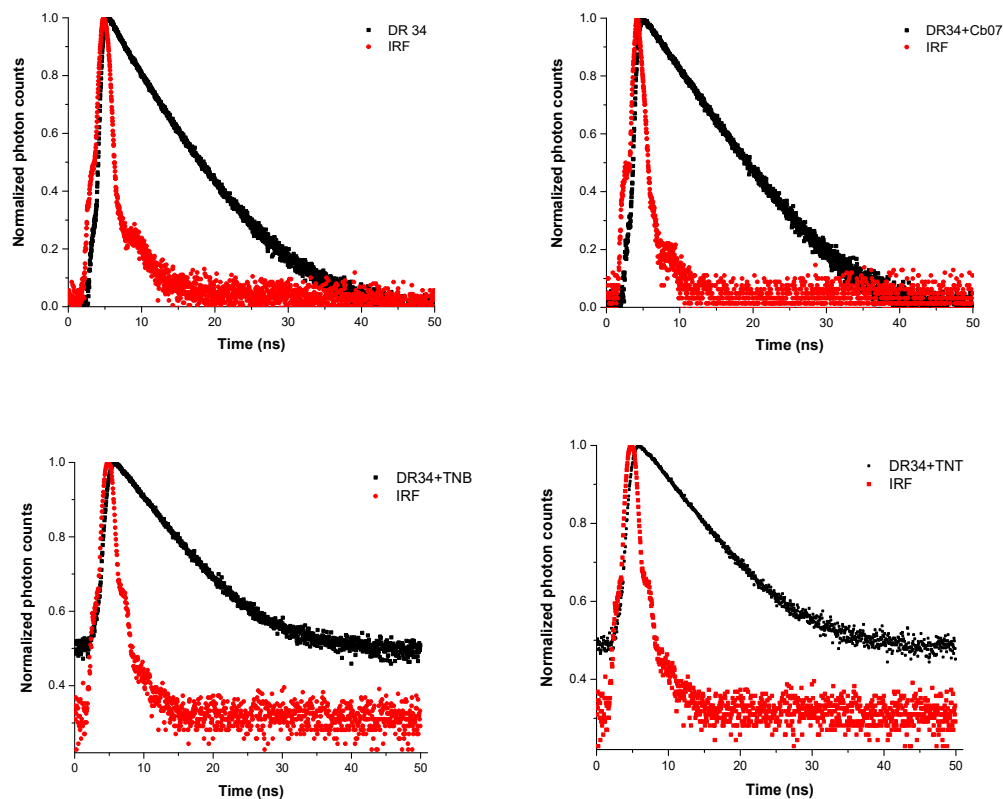
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



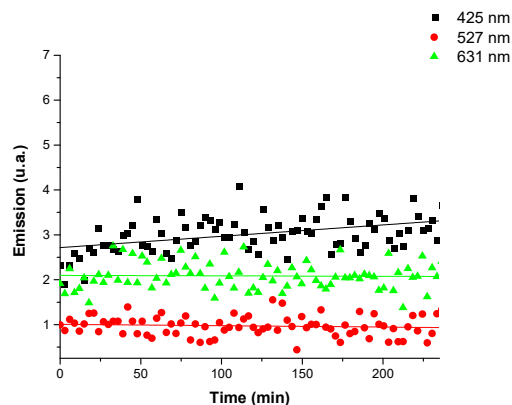
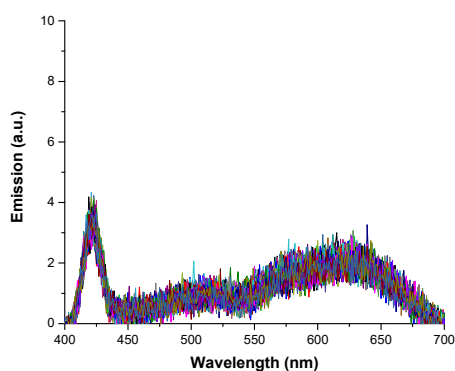
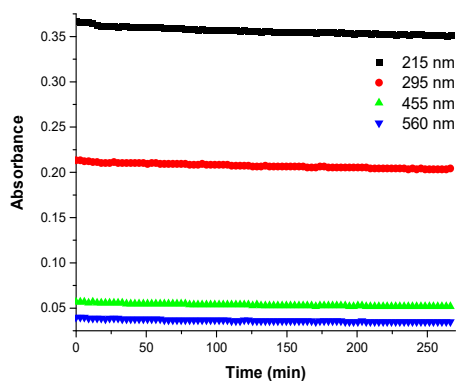
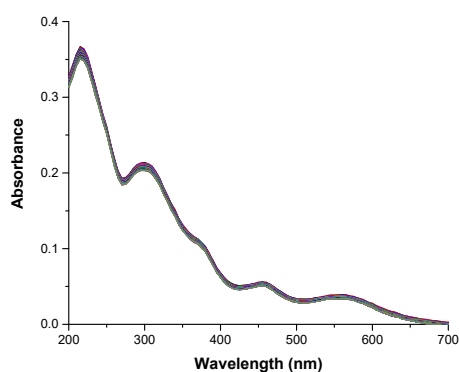
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 369 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 369 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curves of a) DR34 (black) and blank (red), b) DR34 with CB[7] (1:100 in mol) (black) and blank (red), c) DR34 with TNB (1:150 in mol) (black) and blank (red) and d) DR34 with TNT (1:150 in mol) (black) and blank (red). The lasers employed were 375 nm (a) and 445 nm (rest) and the emission wavelengths 520 nm (a), 550 nm (b), 632 nm (c) and 592 nm (d).

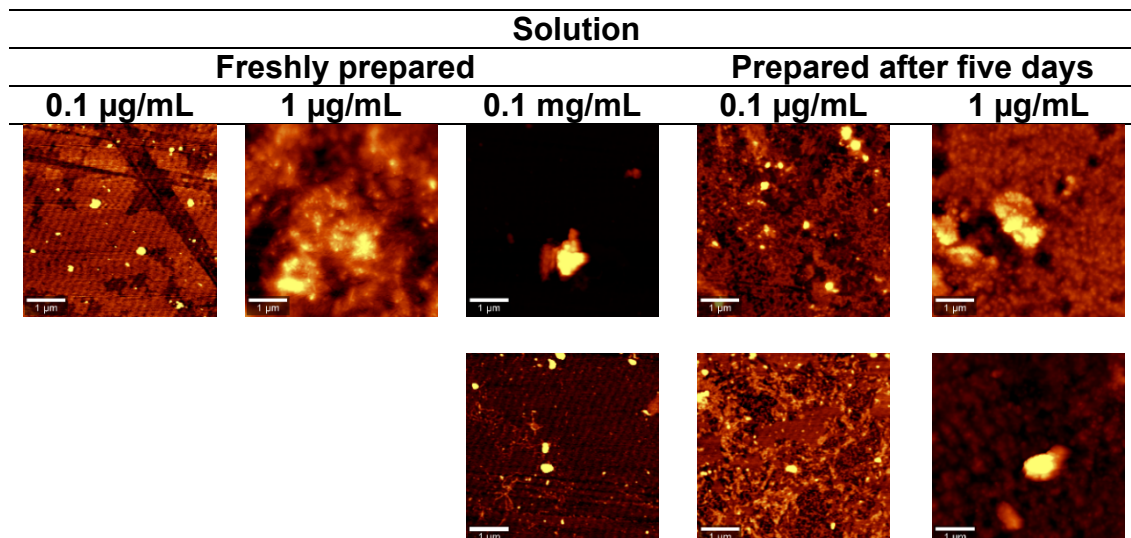
Kinetic effect study:

Compound was dissolved in water. Absorbance and emission (excitation wavelength 457 nm) were measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by every 3 minutes. **No significant changes** in the spectra were appreciated during the study.

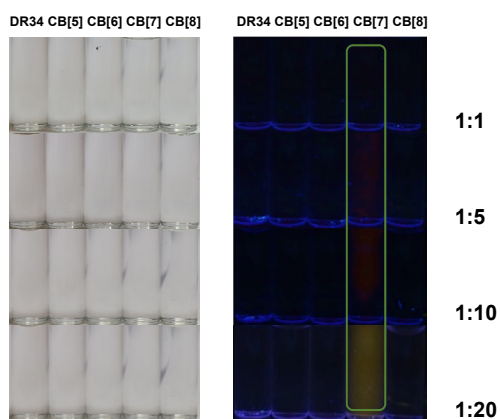


Up: Left: Absorbance spectra at different times. Right: Representation of absorbance maxima along the time. Down: Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Morphology: AFM images of samples prepared in water at different concentrations. Solutions were prepared freshly or five days before.



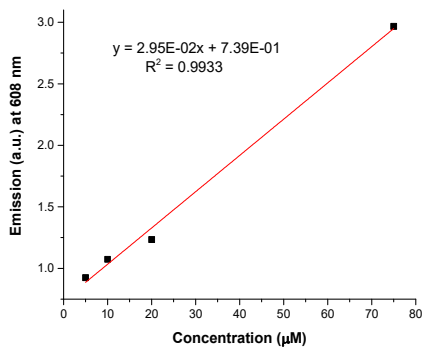
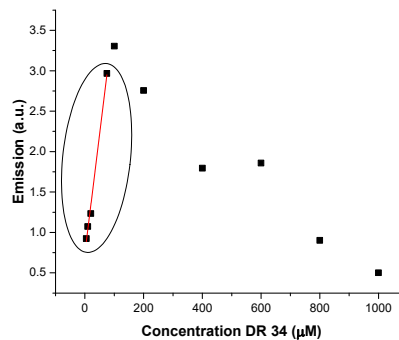
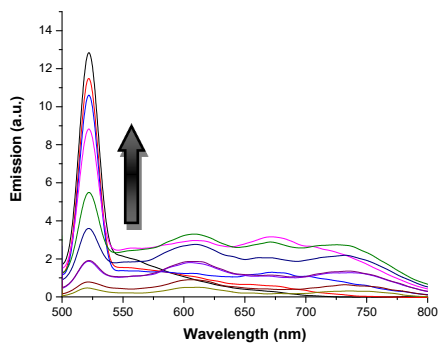
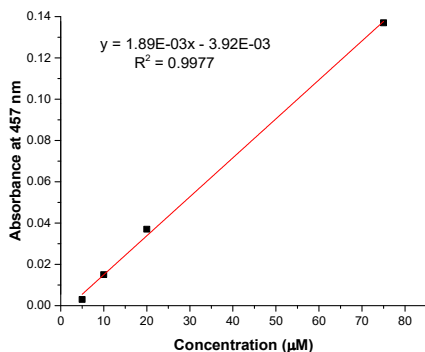
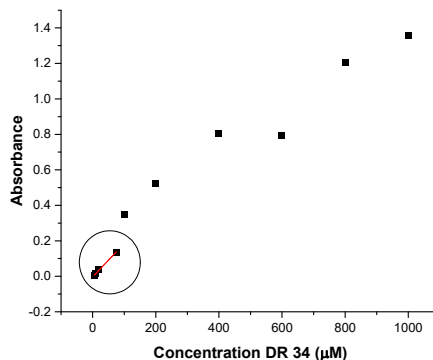
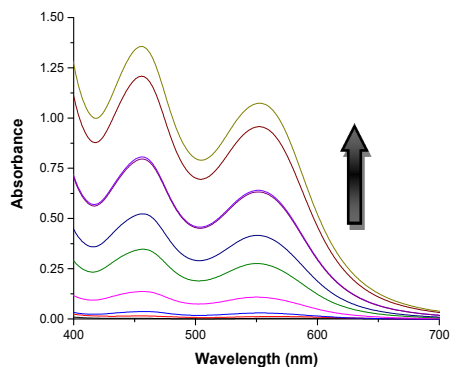
Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in water. These tests resulted **positive** for **DR 34** with **CB[7]**.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cucurbituril of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye, dye with CB[5], CB[6], CB[7] and CB[8].

Lambert-Beer study:

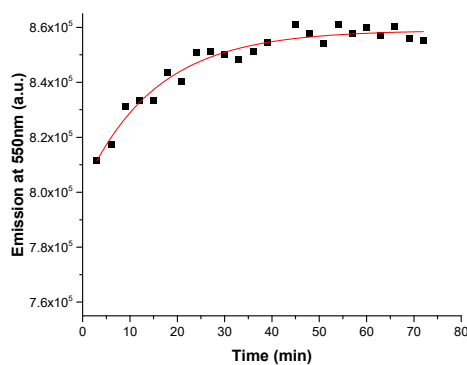
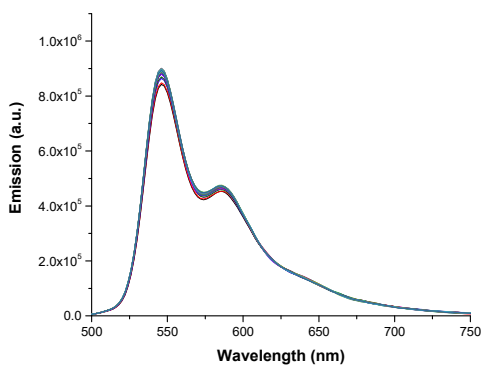
Compound was dissolved in water, in a concentration range of 5 to 1000 μM (11 points). Absorbance and emission (excitation wavelength 369 nm) were measured for each concentration. A significant quenching of the fluorescence (self-aggregation) was observed with concentrations above 75 μM . The selected work concentration was 10 μM .



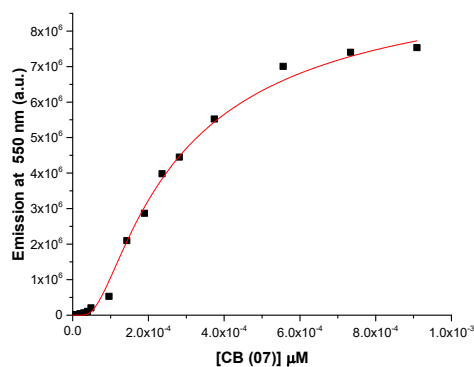
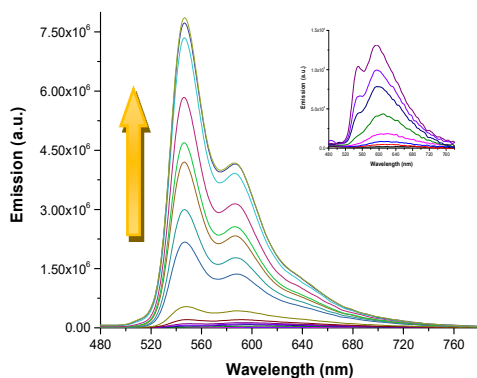
Up: Left: Absorbance spectra at different concentrations. Right: Representation of absorbance maxima versus concentration. Down: Left: Emission spectra at different concentrations. Right: Representation of emission maxima versus concentration.

Kinetic effect study with cucurbituril:

Compound was dissolved in water. Cucurbituril[7] was added until a molar proportion of 1:20 (compound:CB[7]) Emission (excitation wavelength 457 nm) were measured for 80 minutes with a rate of 1 spectrum by every 3 minutes. **No significant changes** in the spectra were appreciated after 40 min.

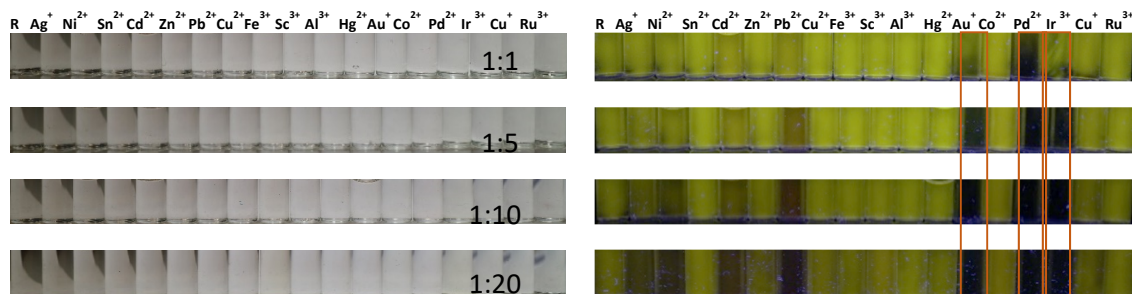


Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Fluorescence titration plot of DR34 and CB07 in H₂O.

Fluorescence titration plot of DR34 and CB07 in H₂O, 10 μM DR34.

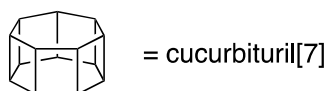
Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents, in the presence of CB[7]: The compound was dissolved in water, with **CB[7]** as an additive (molar proportion 1:100, compound:**CB[7]**). These tests resulted **positive** for **DR 34+CB[7]** with Au(III), Pd(II) and Ir(III) (from the first addition) and **negative** for the rest.

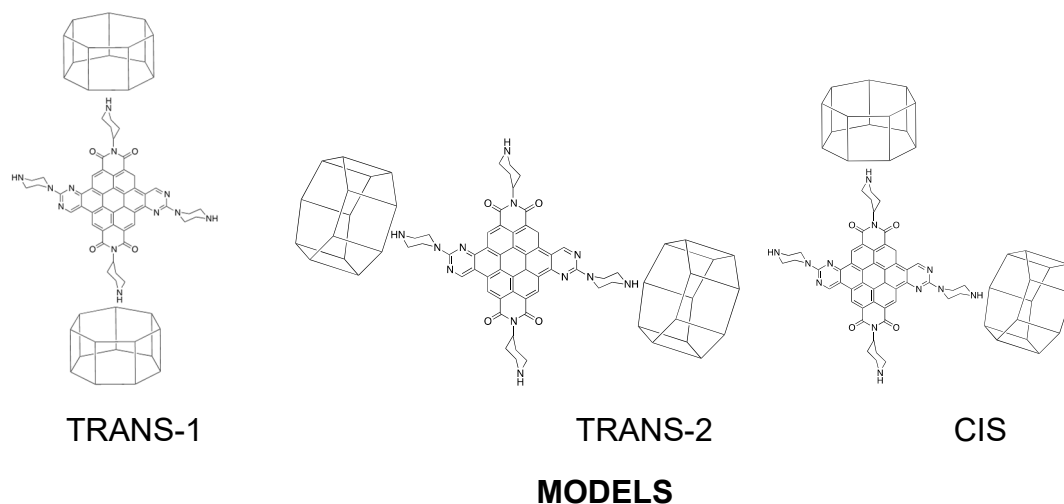


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cations of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye with Ag^+ , Ni^{2+} , Sn^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Sc^{3+} , Al^{3+} , Hg^{2+} , Au^+ , Co^{2+} , Pd^{2+} , Ir^{3+} , Cu^+ and Ru^{3+} .

Theoretical calculations of DR34-2CB-[07]

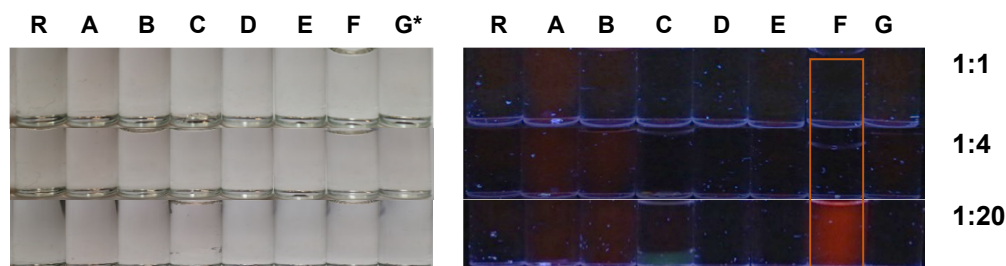
Theoretical calculations were carried out to estimate the energy preference of the possible isomers that can be proposed for the interaction between **DR34** and two cucurbituril-[07] molecules. As in this work we are dealing with a supramolecular system, dispersion-accounting DFT approach is appropriate to obtain quantitative predictions on noncovalent interactions with chemical accuracy. The hybrid exchange-correlation functional B3LYP was employed in combination with the D3 version of Grimme's dispersion with the original D3 damping function. The double-zeta Pople's 6-31G** basis set was employed throughout. The interaction energy (E_{int}) is defined as the energy difference between the host-guest complex (**DR34-2CB-[07]**) and the individual moieties separately, all of them at the geometry of the complex.





	TRANS-1	TRANS-2	CIS
Energy a.u.	-11315,90905970	-11315,86094660	-11315,88977560
Dif (a.u.)	0	0,0481131	0,0192841
Dif (kcal/mol)	0	30,19143252	12,10095803

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in water. These tests resulted **positive** for **DR 34** with TNB and **negative** for the rest.

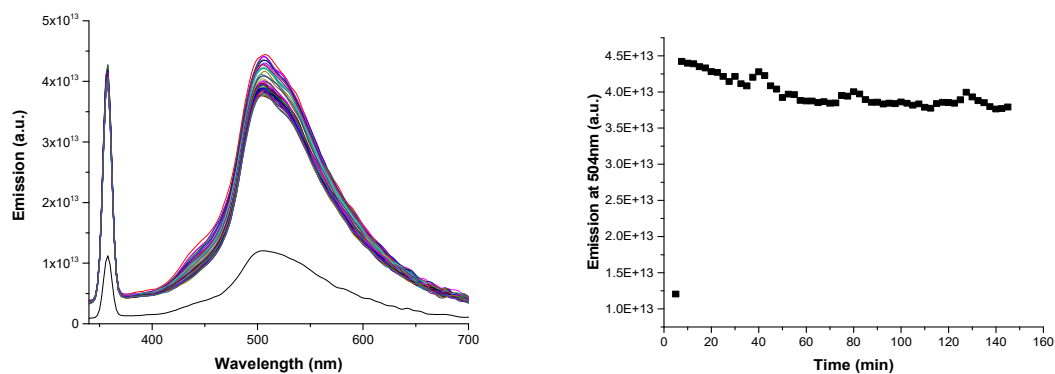


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and oxidizing of 1:1, 1:4 and 1:20.

Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye with HCl (A), HNO₃ (B), *m*-CPBA (C), oxone (D), hydrazine (E), TNB (F) and H₂O₂ (G).

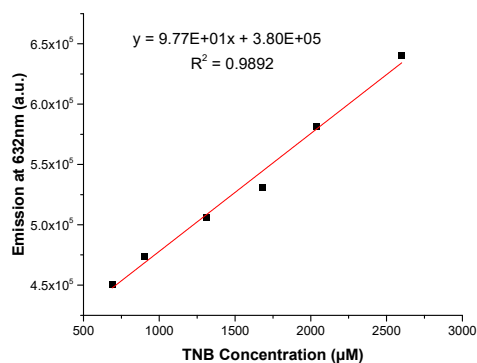
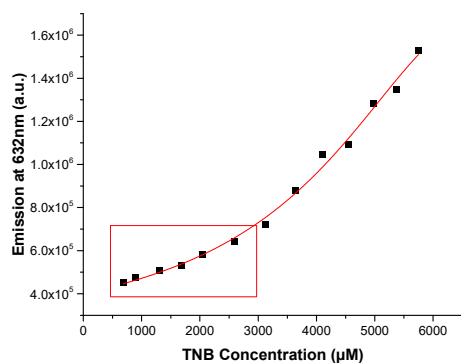
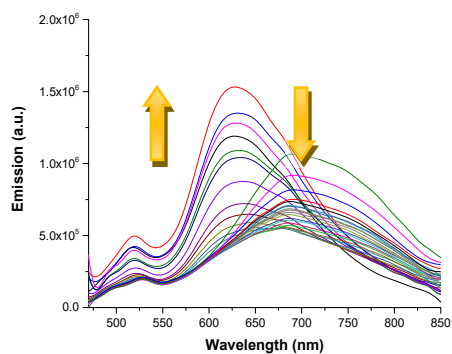
Kinetic effect study with TNB:

Compound was dissolved in water. TNB was added until a molar proportion of 1:20 (compound:TNB) Emission (excitation wavelength 435 nm) was measured for 145 minutes with a rate of 1 spectrum by 2.5 minute. **No significant changes** in the spectra were appreciated during the study.

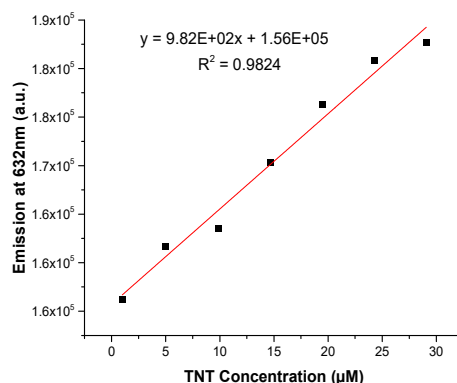
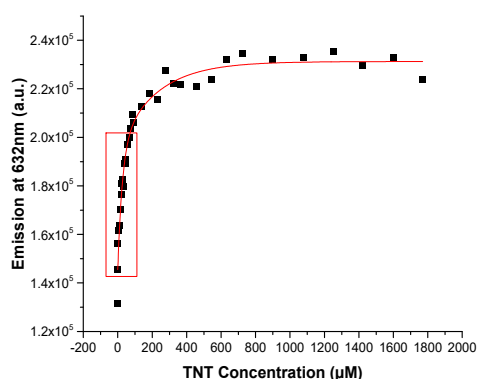
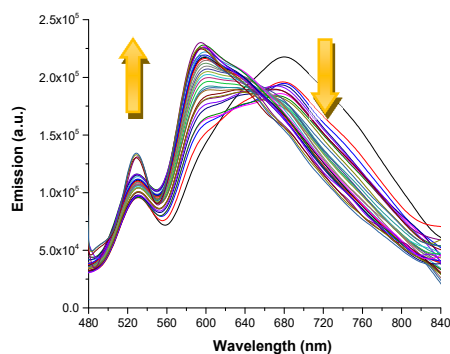


Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

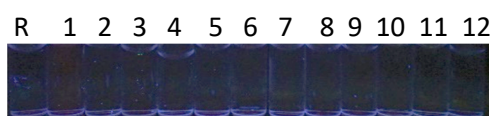
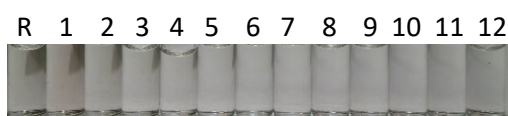
Limit of detection with TNB: The emission was adjusted to minimum squares linear regression. Then, with the program “R”, the limit of detection associated to the linear regression was calculated. In order to obtain a reliable limit, the values of false positive and false negative measurements were fixed as equal or inferior to 5%. The limit of detection calculated for TNB was 287.6 μM (61.3 ppm) in a 10 μM solution of **DR34**.



Limit of detection with TNT: The emission was adjusted to minimum squares linear regression. Then, with the program “R”, the limit of detection associated to the linear regression was calculated. In order to obtain a reliable limit, the values of false positive and false negative measurements were fixed as equal or inferior to 5%. The limit of detection calculated for TNT was 3.5 μM (0.79 ppm) in a 10 μM solution of **DR34**.



Test of pH effect: This test showed that compound was not affected by change in pH.

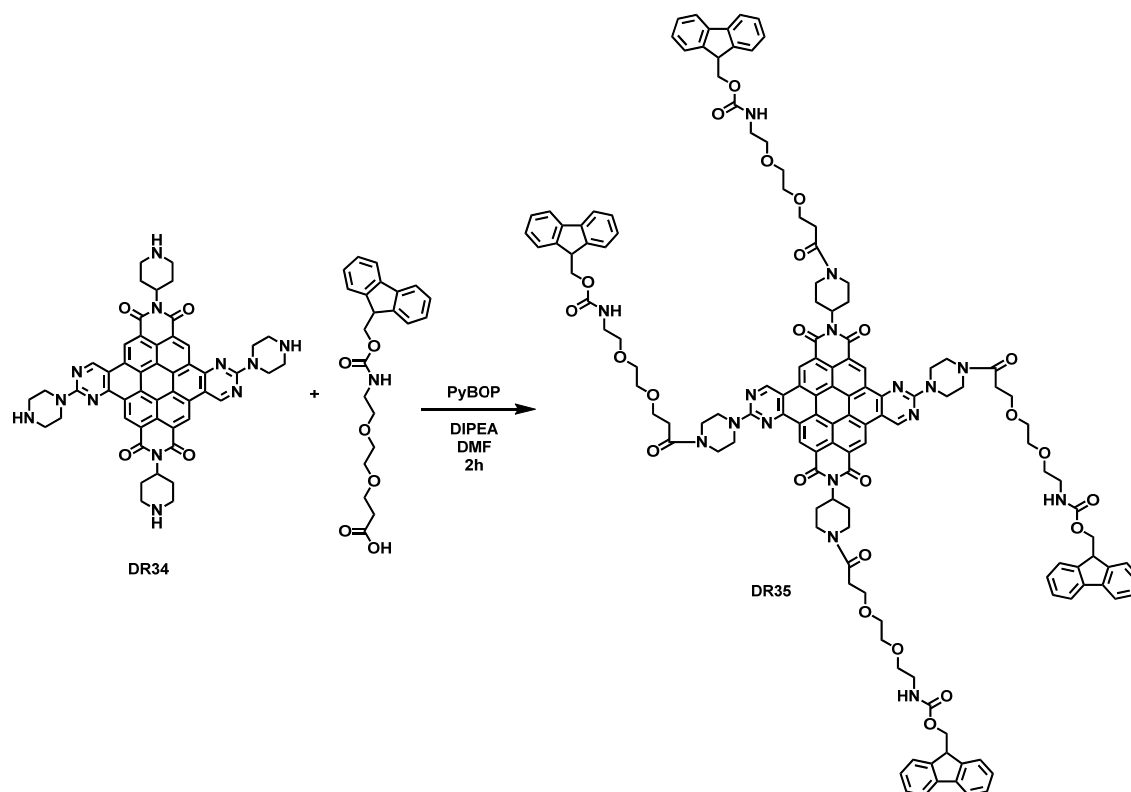


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye in buffer of pH 5.44 (1), 5.68 (2), 6.77 (3), 6.94 (4), 7.07 (5), 7.09 (6), 7.25 (7), 7.40 (8), 7.46 (9), 7.96 (10), 9.14 (11) and 10.49 (12).

Theoretical calculations of DR34-TNB and DR34-DR34

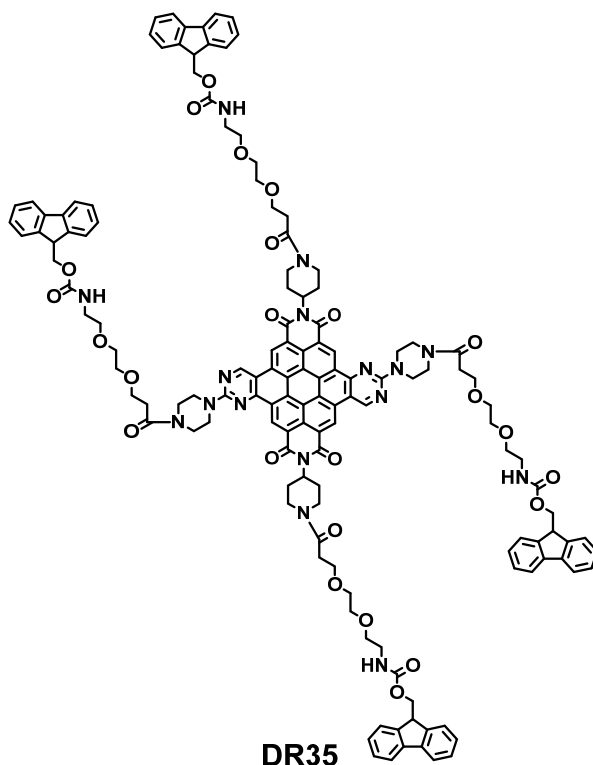
Theoretical calculations were carried out to estimate the energy of the interaction between the **TNB** and the **DR34**. The interaction between two molecules of the **DR34** has been estimated as well. As in this work we are dealing with a supramolecular system, dispersion-accounting DFT approach is appropriate to obtain quantitative predictions on noncovalent interactions with chemical accuracy. The hybrid exchange-correlation functional PBE0 was employed in combination with the D3 version of Grimme's dispersion with the original D3 damping function. The double-zeta Pople's 6-31G** basis set was employed throughout. The interaction energy (E_{int}) is defined as the energy difference between the host-guest complex (**DR34-TNB** or **DR34-DR34**) and the individual moieties separately, all of them at the geometry of the complex. The basis set superposition error (BSSE) was corrected according to the counterpoise scheme. All calculations were performed using Gaussian 09. Revision D.01. Each structure was verified to be a true minimum by the absence of imaginary frequencies in the vibrational analysis.

Condensation with a Fmoc derivative.



Synthesis:

25.0 mg (0.20 mmol) of *N,N*-diisopropylethylamine were added to a stirred solution of 1-(9H-fluoren-9-yl)-3-oxo-2,7,10-trioxa-4-azatridecan-13-oic acid (39.0 mg, 0.09 mmol) dissolved in 10 ml of DMF. Then, *N,N'*-bis-(piperidin-4-yl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-((1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (**DR34**) (21.0 mg, 0.02 mmol) dissolved in DMF (2.0 ml) was added to the previous solution. Finally, 51.0 mg (0.09 mmol) of PyBOP was aggregated. The reaction mixture was stirred at 25 C for two hours. The solvent was removed under vacuum and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN:MeOH, 5:1:1) to afford the perylene diimide as a red wine solid, that shows purple emission in solid state.



***N,N'*-Bis-(1-(1-(9H-fluoren-9-yl)-3-oxo-2,7,10-trioxa-4-azatridecan-13-carbonyl)piperidin-4-yl)-[3,4-*e*]-[9,10-*e*]-bis-((1,4-(4-(1-(9H-fluoren-9-yl)-3-oxo-2,7,10-trioxa-4-azatridecan-13-carbonyl))piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin) coronene-1,12:6,7-tetracarboxylic diimide (DR 35)** was obtained in 55% yield (33.3 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): >350 °C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.38.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3428 (N-H, amine), 2961 (C-H, aromatic), 2877 (C-H, aliphatic), 1710 (C=O, carbamate), 1630 (C=O, imide), 1532 (C=C), 1452, 1400 (C-N), 1386, 1257, 1205, 1131(C-N), 1090, 1016, 842, 762, 741, 619, 588, 558 (fingerprint region).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.78 – 7.70 (m, 10H, Ar-H), 7.62 – 7.53 (m, 10H, Ar-H), 7.38 – 7.27 (m, 18H, Ar-H), 5.72 – 5.58 (m, 2H, N-CH), 4.37 – 4.10 (m, 12H), 3.74 – 3.31 (m, 22H), 3.10 – 3.05 (m, 22H), 2.62 – 2.35 (m, 10H), 1.79 – 1.76 (m, 22H), 1.37 – 1.35 (m, 8H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 171.5 (C), 170.0 (C), 157.3 (C), 144.1 (C), 144.0 (C), 142.3 (C), 141.3 (C), 141.3 (C), 128.3 (C), 127.8 (CH), 127.2 (CH), 127.1 (CH), 125.8 (CH), 125.3 (CH), 125.0 (CH), 120.0 (CH), 118.0 (CH), 111.0 (CH),

70.7 (CH₂), 70.2 (CH₂), 70.2 (CH₂), 70.0 (CH₂), 69.9 (CH₂), 67.1 (CH₂), 67.0 (CH₂), 55.0 (CH), 46.4 (CH₂), 46.4 (CH₂), 43.1 (CH₂), 26.5 (CH₂), 26.4 (CH₂), 18.9 (CH).

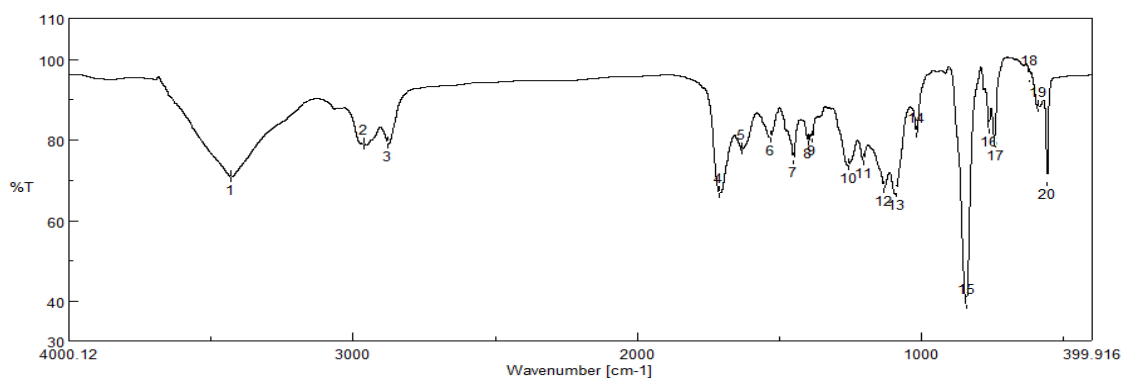
HR-MS (MALDI+, DIT): m/z calcd. for C₁₃₈H₁₃₆N₁₆O₂₄Na ([M+Na]⁺): 2423.9806; found: 2423.9864.

UV-VIS (CH₂Cl₂) λ_{\max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 450 (56300).

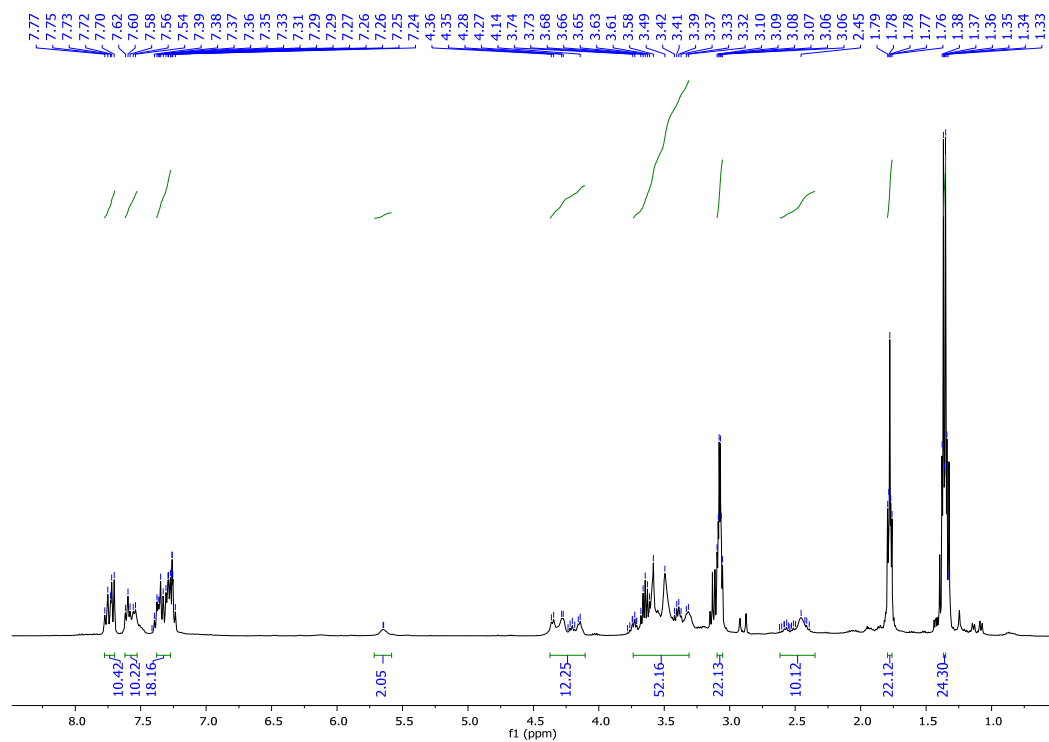
Emission (CH₂Cl₂, λ_{ex} =450 nm) λ_{\max} / nm: 539.

τ / ns (CH₂Cl₂, χ^2): 1.32 (18.04%) and 6.91 (81.96%) (1.11).

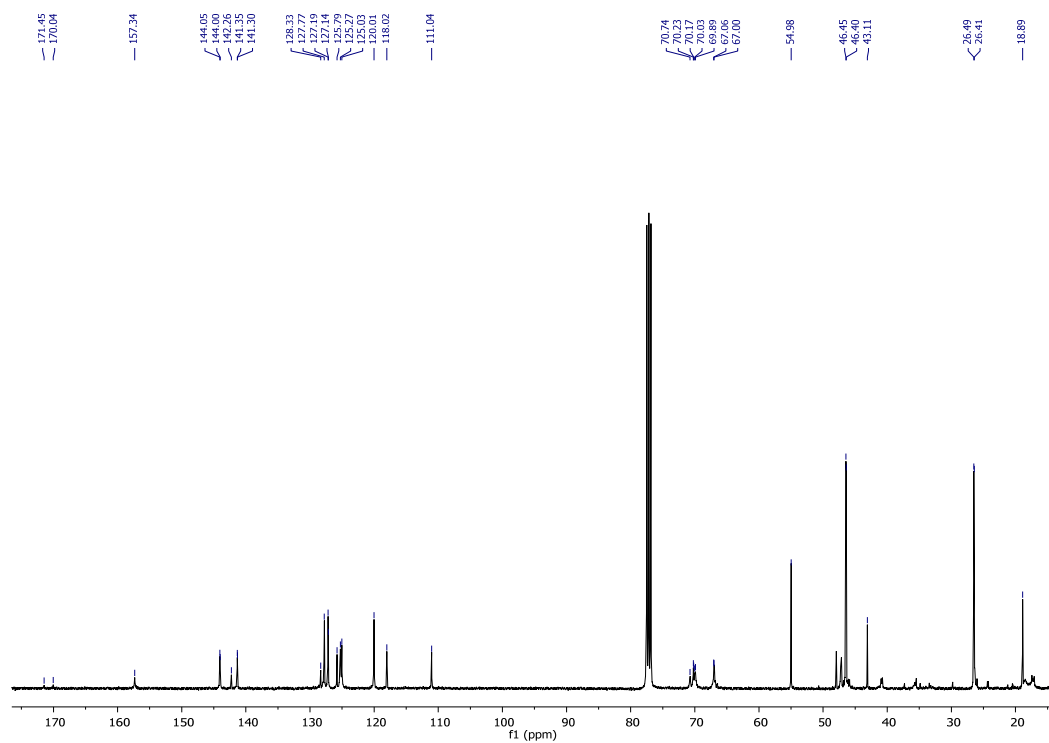
Φ (CH₂Cl₂, λ_{ex} =450 nm): 0.02± 0.01.



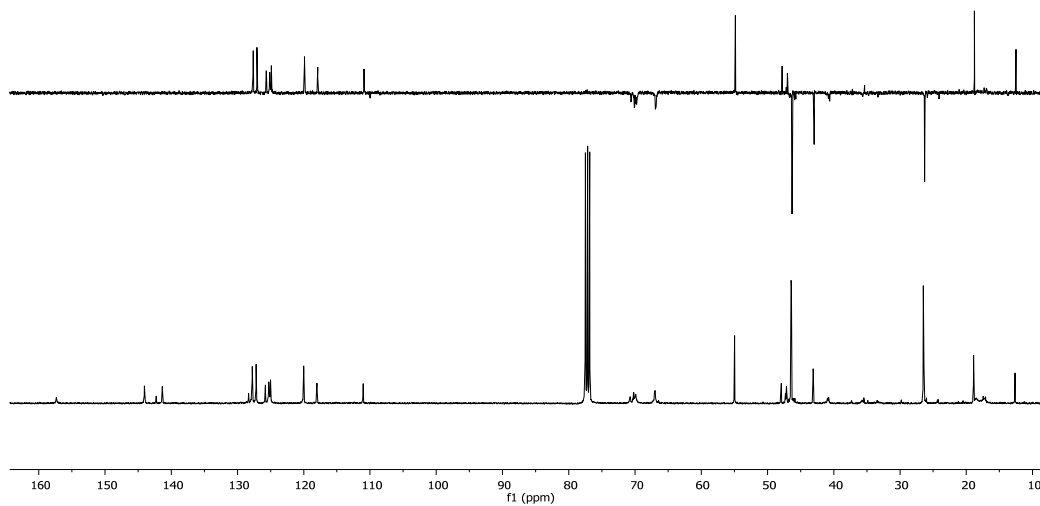
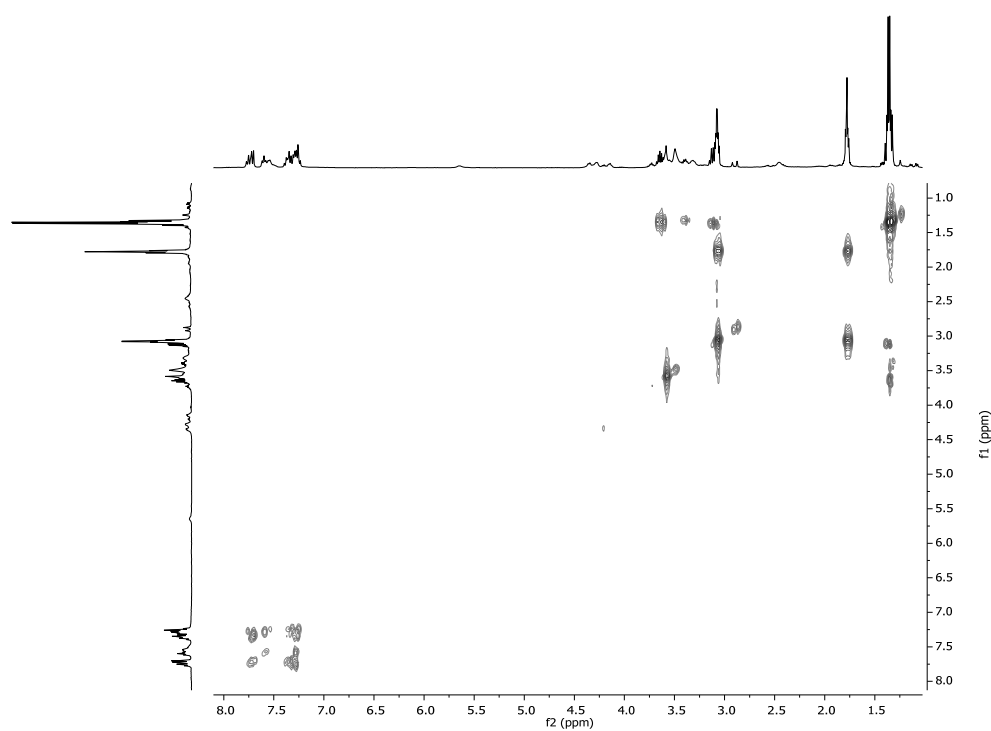
FT-IR (KBr)

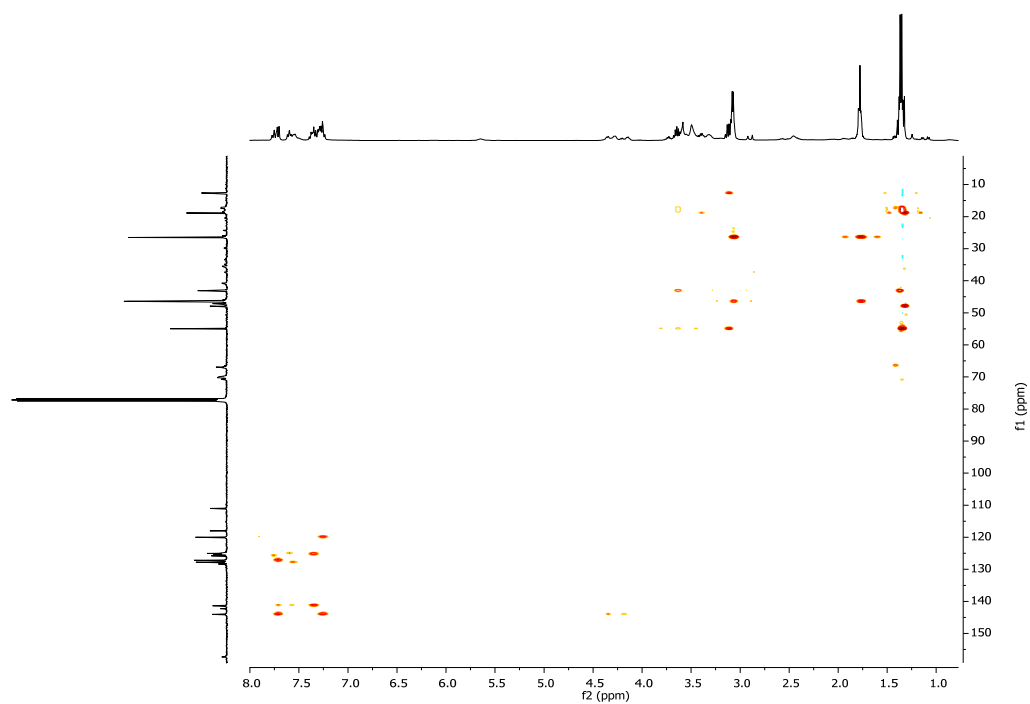


¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

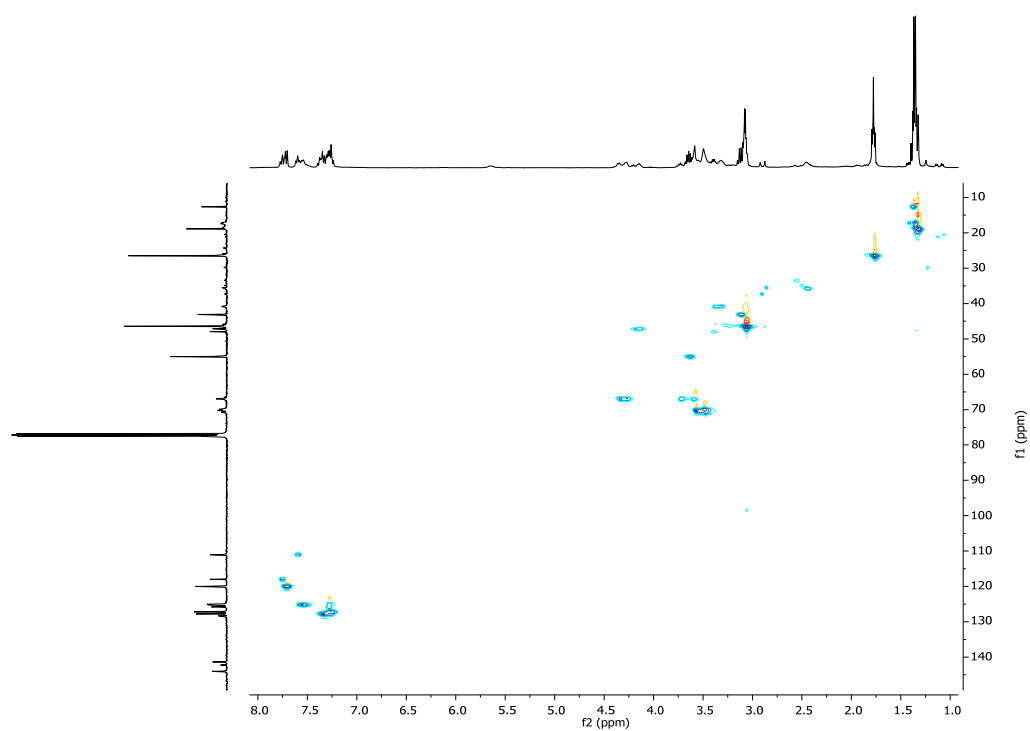


¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)

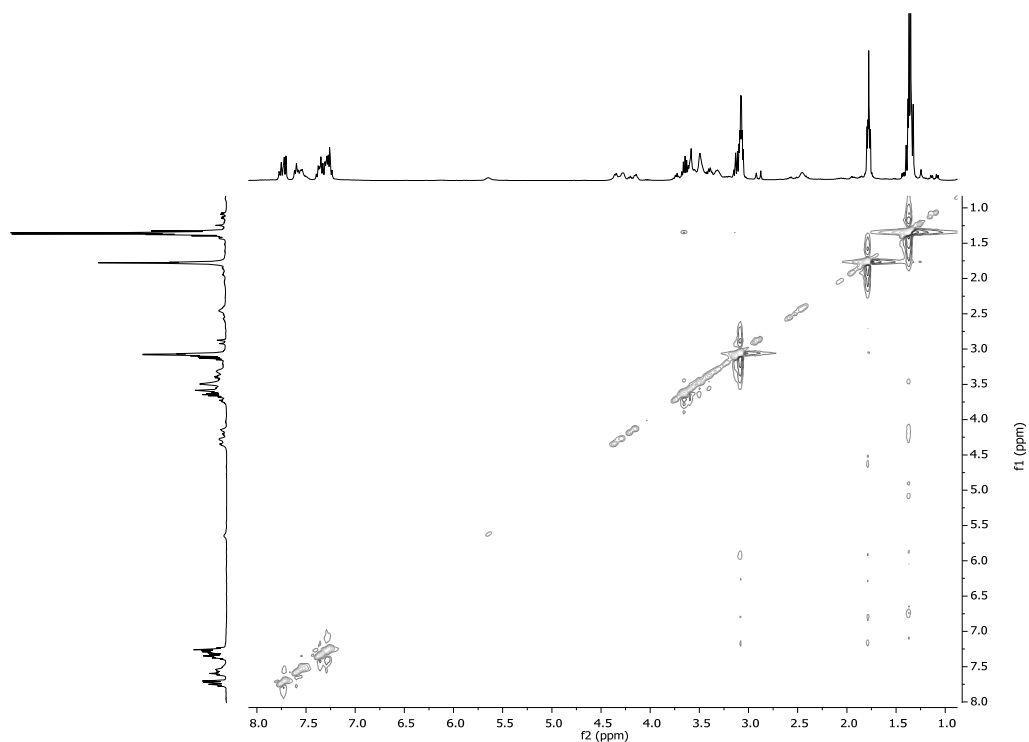
 **^{13}C -DEPT 135 NMR (101 MHz, CDCl_3)** **^1H - ^1H -COSY NMR (300MHz, CDCl_3)**



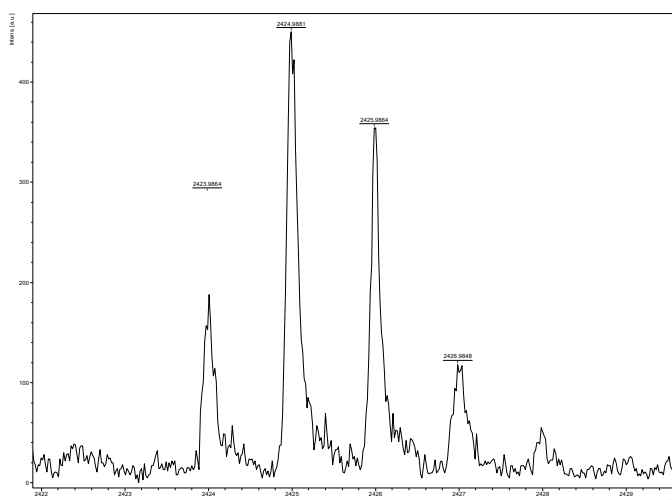
^1H - ^{13}C -HMBC NMR (300MHz, CDCl_3)



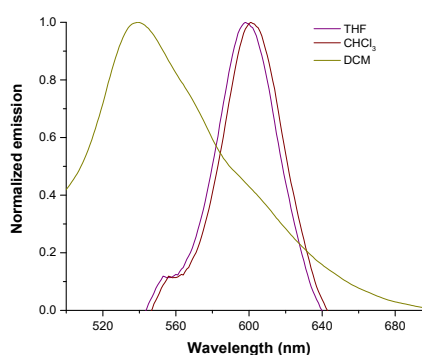
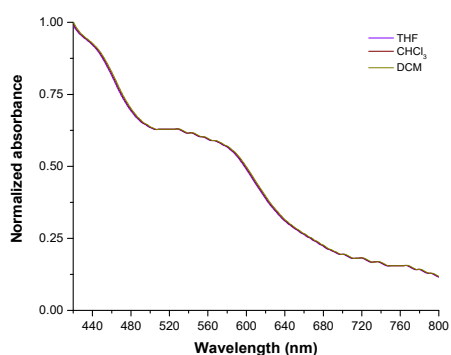
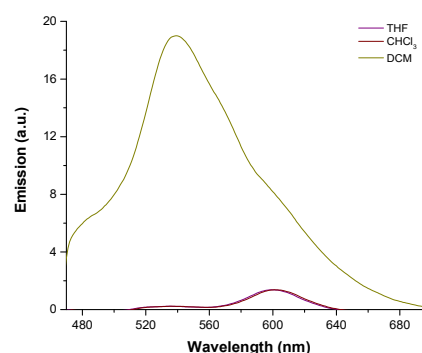
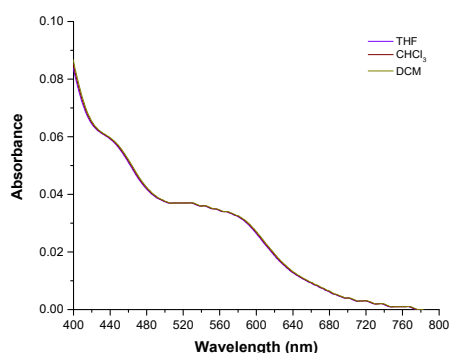
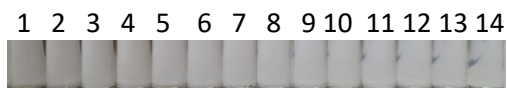
^1H - ^{13}C -HMQC NMR (300 MHz, CDCl_3)



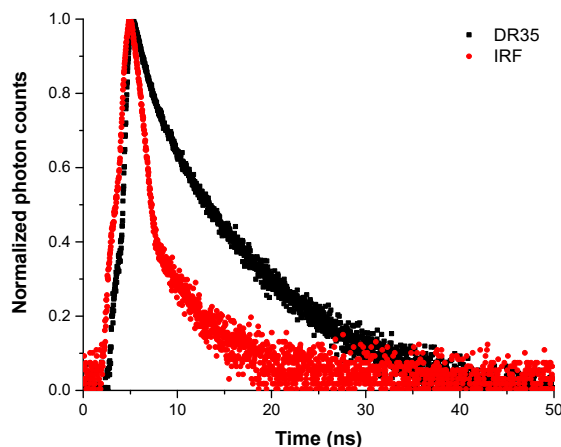
^1H - ^1H -NOESY NMR (300 MHz, CDCl_3)



HR-MS (MALDI+, DIT)

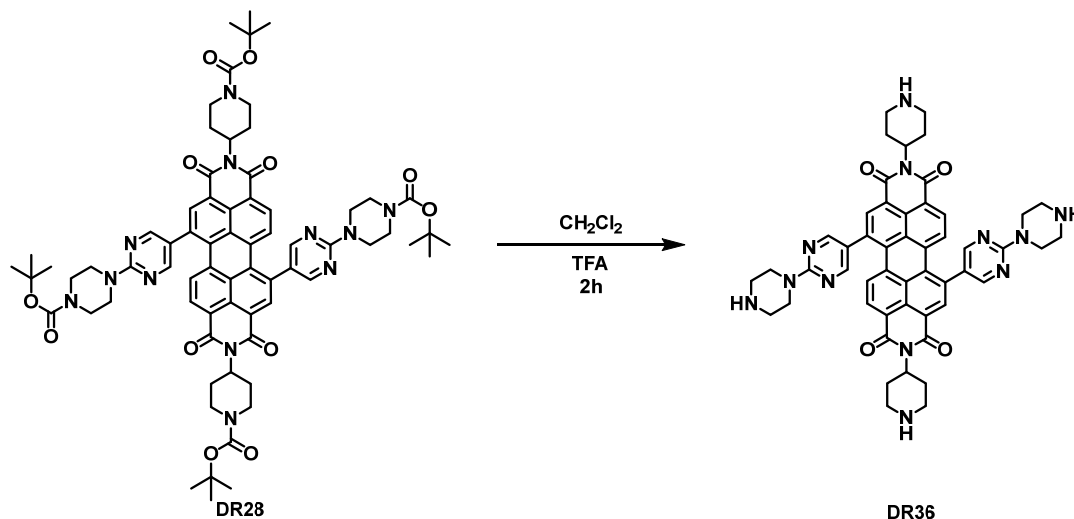


Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 450 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 450 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 539 nm and the emission wavelength 445 nm.

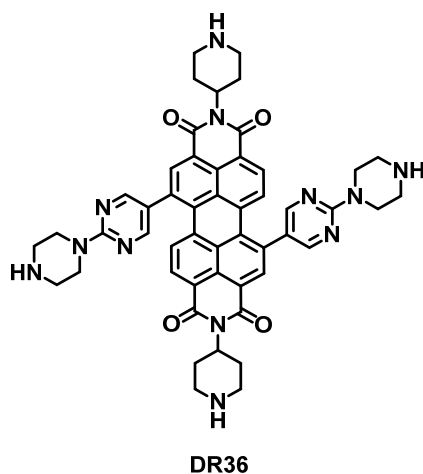
Removal of *N*-Boc protecting groups.



Synthesis:

Trifluoroacetic acid (567 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1,7-di((4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR28**) (50.0 g, 0.06 mmol) in CH_2Cl_2 (2.0 ml). The reaction mixture was stirred for two

hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a dark blue solid.



***N,N'*-Bis(piperidin-1-yl)-1,7-di((piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR36)** was obtained in 99% yield (34.0 mg, 0.04 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3438 (N-H, amine), 2965 (C-H, aromatic), 2923 (C-H, aliphatic), 2853 (C-H, aliphatic), 1769, 1706 (C=O, carbamate), 1678 (C=O, imide), 1637, 1602, 1563, 1511 (C=C), 1435 (C-N), 1365 (C-N), 1236, 1208 (C-C), 1135 (C-N), 1184, 1097, 1023, 957, 839, 793, 720 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ: 8.29 – 7.76 (m, 6H, Ar-H), 7.67 – 7.28 (m, 4H, Ar-H), 5.37 – 5.13 (m, 2H, N-CH), 4.08 – 3.98 (m, 8H, CH₂), 3.77 – 3.64 (m, 4H, CH₂), 3.38 – 3.28 (m, 12H, CH₂), 2.95 – 2.80 (m, 2H, CH₂), 2.66 – 2.48 (m, 2H, CH₂), 2.17 – 2.15 (m, 4H, CH₂).

HR-MS (MALDI+, DCTB): *m/z* calcd. for C₅₀H₄₈N₁₂O₄ ([M+H]⁺): 881.3994; found: 881.3979.

MS (MALDI+, DCTB) _{2DR34}: *m/z* calcd. for 2(C₅₀H₄₈N₁₂O₄) ([2M+H]⁺): 1761; found: 1765.

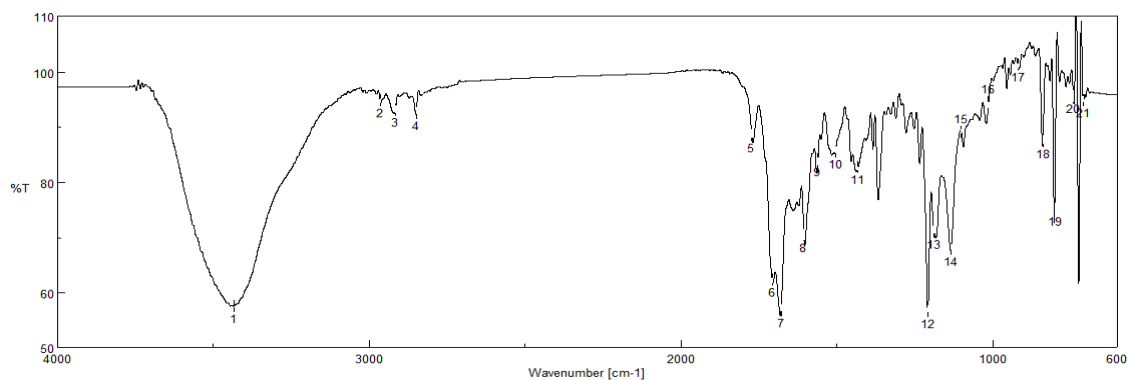
MS (MALDI+, DCTB) _{DR34+CB[7]}: *m/z* calcd. for (C₅₀H₄₉N₁₂O₄+C₄₂H₄₂N₂₈O₁₄) ([M+CB[7]+H]⁺): 2044; found: 2045.

UV-VIS (H₂O) λ_{\max} / nm (ϵ / M⁻¹·cm⁻¹): 463 (258).

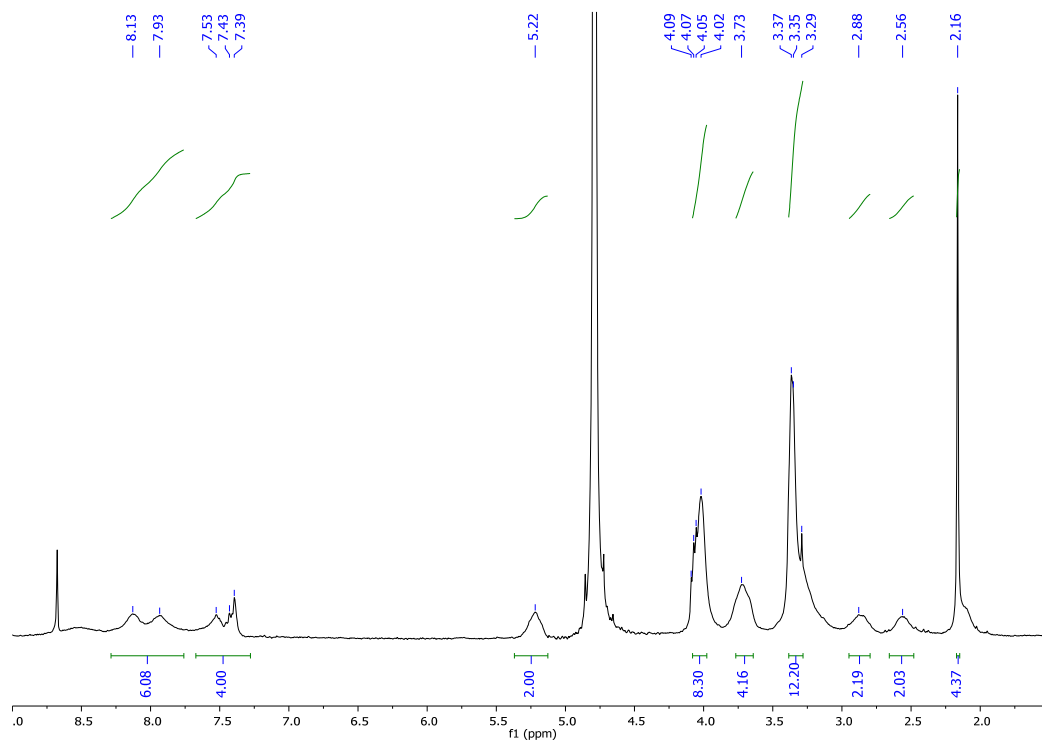
Emission (H₂O, λ_{ex} =463 nm) λ_{\max} / nm: 498.

τ / ns (H₂O χ^2): 2.36 (32.48%) and 7.71 (67.52%) (1.14).

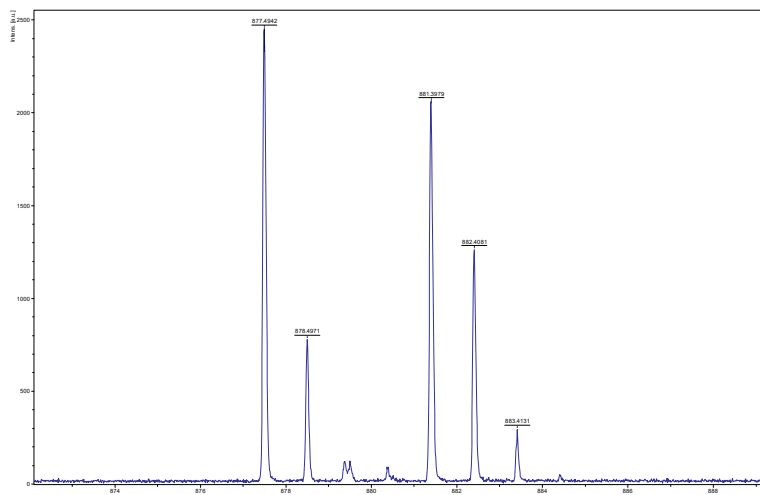
Φ (H₂O, λ_{ex} =463 nm): 0.02 ± 0.01 .



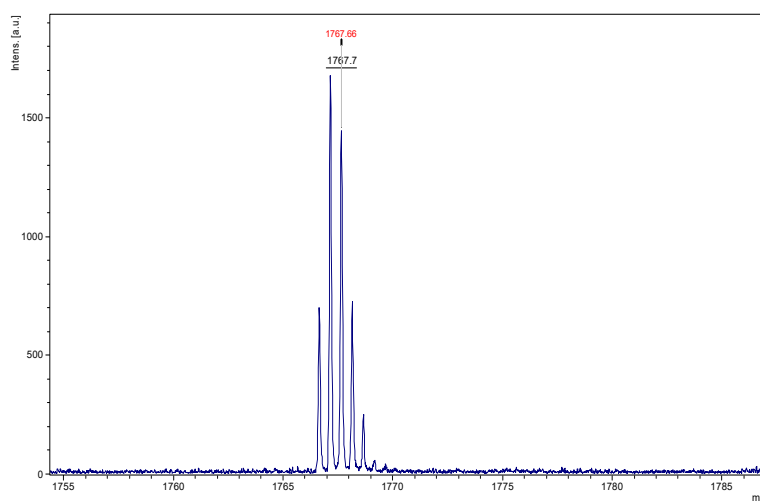
FT-IR (KBr)



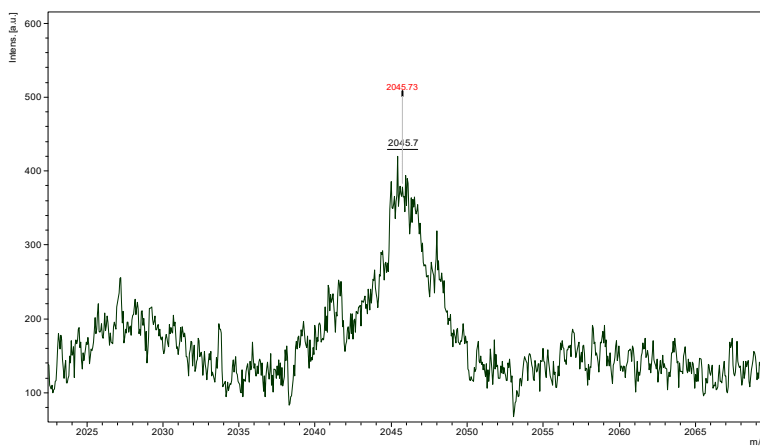
¹H NMR (300 MHz, D₂O)



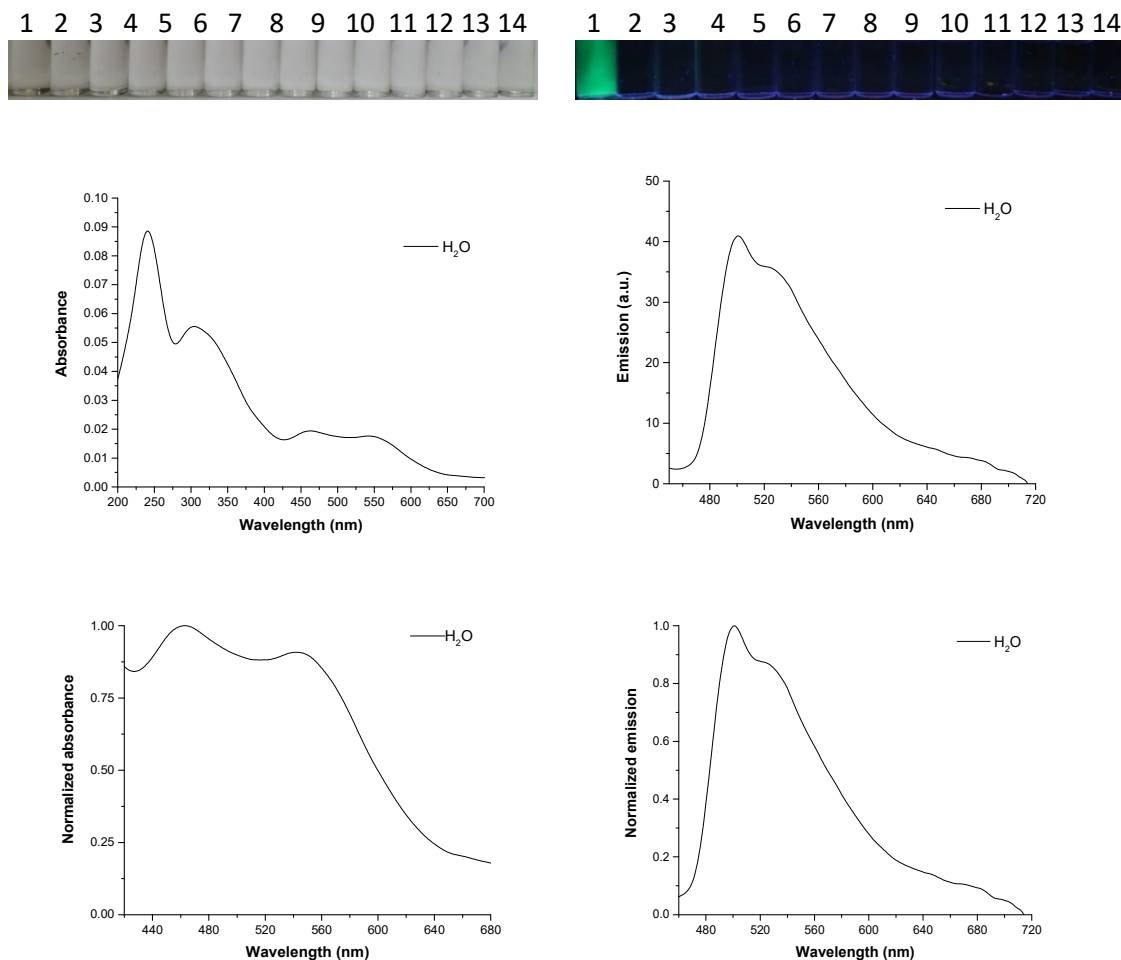
HR-MS (MALDI+, DCTB)



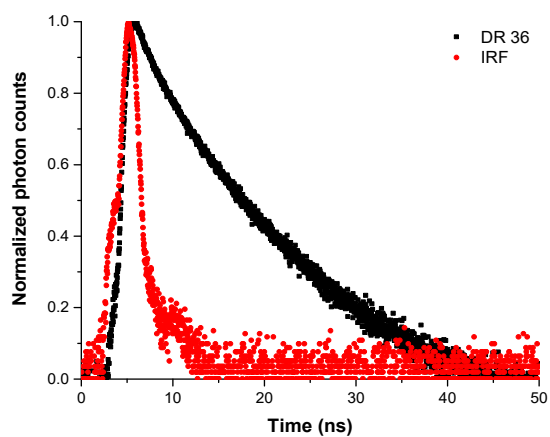
HR-MS (MALDI+, DCTB) DR36 dimer



HR-MS (MALDI+, DCTB) DR36 + 1CB[7]



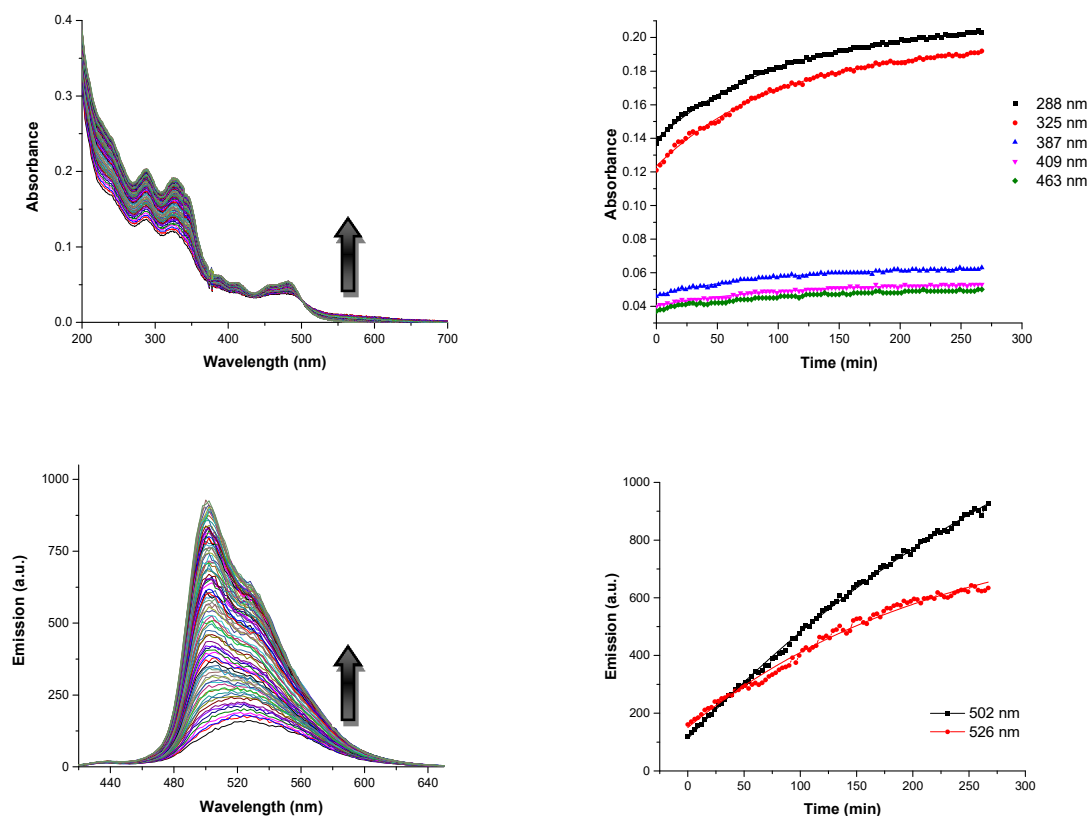
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 463 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 463 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 502 nm and the emission wavelength 445 nm.

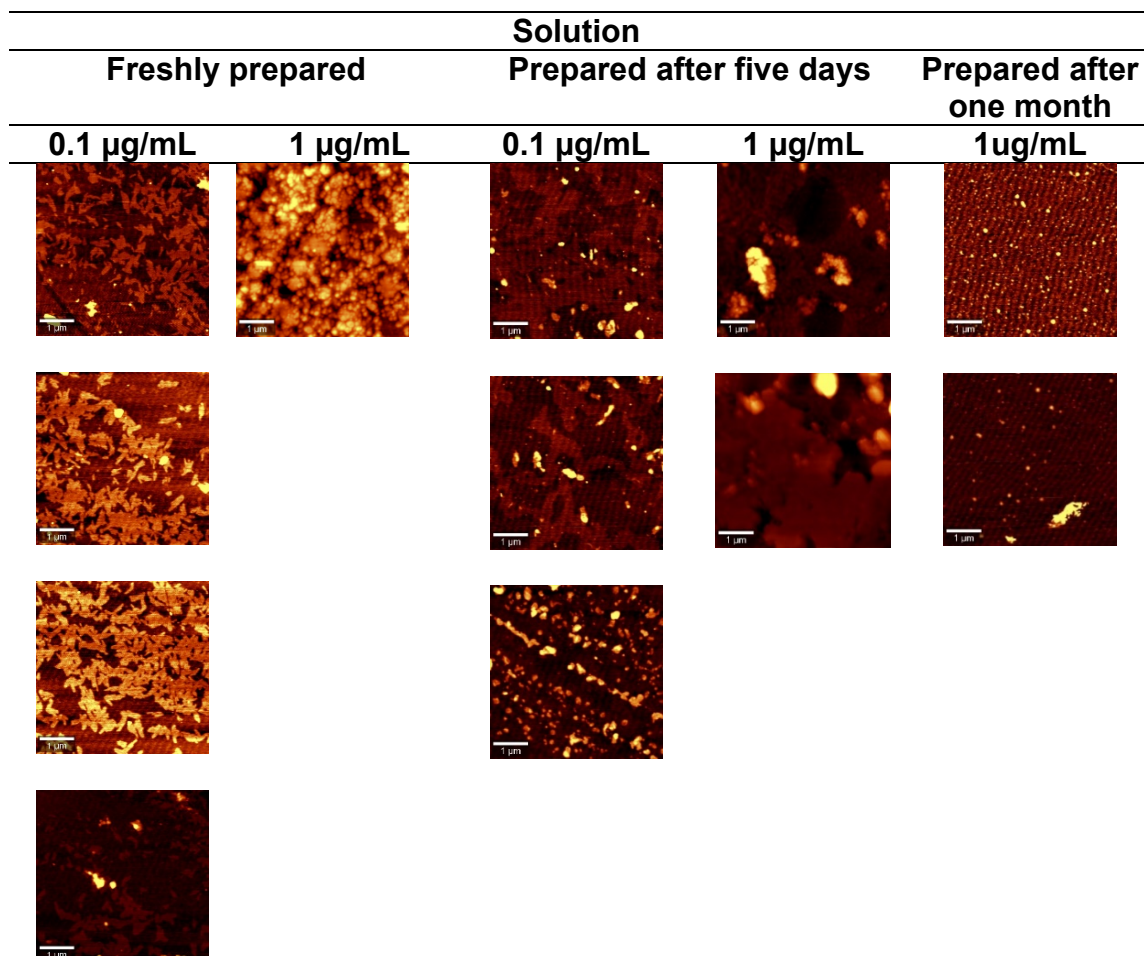
Kinetic effect study:

Compound was dissolved in water. Absorbance and emission (excitation wavelength 387 nm) were measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by every 3 minutes. **An increase of absorbance and emission intensity until 200 min was observed.**



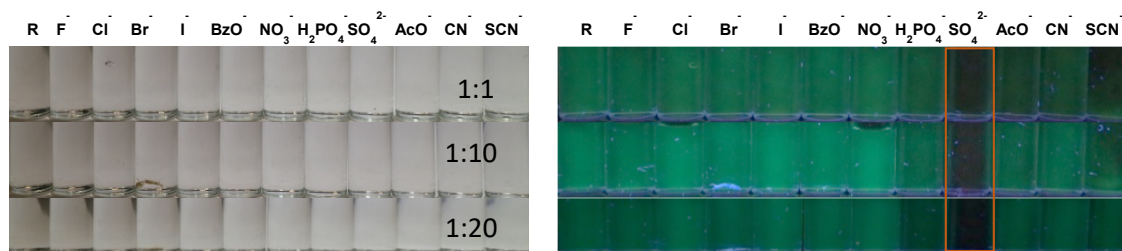
Up: Left: Absorbance spectra at different times. Right: Representation of absorbance maxima along the time. Down: Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Morphology: AFM images of samples prepared in water in different concentrations. Solutions were prepared freshly, five days or one month before.



Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in water. These tests resulted **negative** for **DR36**.

Test with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in water. These tests resulted **positive** for **DR 36** with SO_4^{2-} (from the first addition) and **negative** for the rest.

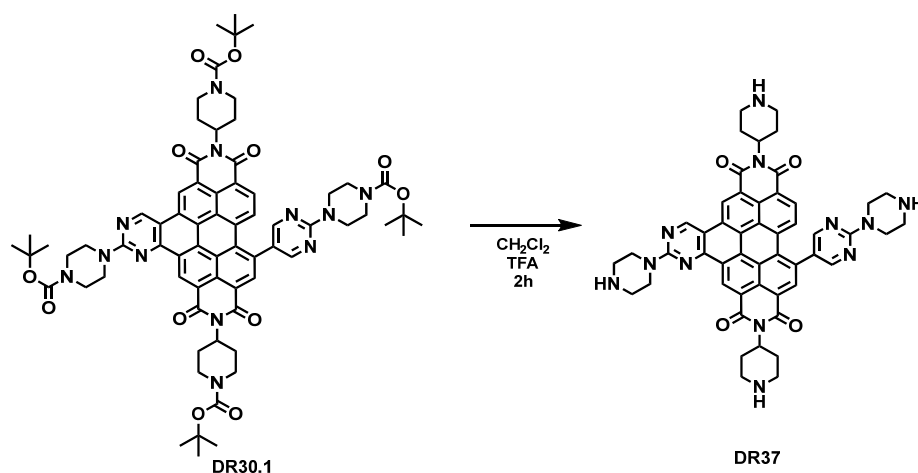


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cations of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye with F^- , Cl^- , Br^- , I^- , BzO^- , NO_3^- , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , AcO^- , CN^- and SCN^- .

Test of pH effect: This test showed that compound was not affected by changes in pH.

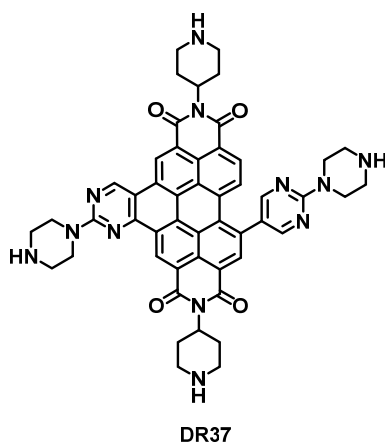


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye in buffer of pH 5.44 (1), 5.68 (2), 6.77 (3), 6.94 (4), 7.07 (5), 7.09 (6), 7.25 (7), 7.40 (8), 7.46 (9), 7.96 (10), 9.14 (11) and 10.49 (12).

Removal of *N*-Boc protecting groups.

Synthesis:

Trifluoroacetic acid (334 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-12-((4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR30.1**) (55.8 mg, 0.04 mmol) in CH_2Cl_2 (3.0 ml). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a dark red solid.



N,N'-Bis-(piperidin-4-yl)-12-((piperazin-4-yl)-1,3-pyrimidin)-[6,7-*e*]-2-(1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR37**) was obtained in 99% yield (37.7 mg, 0.04 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3452 (N-H, amine), 2961 (C-H, aromatic), 2919 (C-H, aliphatic), 2850 (C-H, aliphatic), 1682 (C=O, imide), 1522 (C=C), 1442 (C-N), 1365 (C-N), 1323, 1205 (C-N), 1142, 842, 804, 724 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, TFA) δ: 10.85 – 10.66 (m, 2H, Ar-H), 10.59 (s, 1H, Ar-H), 10.46 – 10.37 (m, 1H, Ar-H), 10.02 (s, 1H, Ar-H), 8.98 (s, 1H, Ar-H), 8.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.70 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.51 – 7.18 (m, 2H, NH), 7.13 – 6.77 (m, 2H, NH), 5.69 – 5.53 (m, 2H, N-CH), 4.77 – 4.67 (m, 4H, CH₂), 3.88 – 3.69 (m, 12H, CH₂), 3.45 – 3.17 (m, 8H, CH₂), 2.29 – 2.09 (m, 6H, CH₂), 1.36 – 1.17 (m, 2H, CH₂).

HR-MS (MALDI+, HCCA): *m/z* calcd. for C₅₀H₄₆N₁₂O₄ ([M+H]⁺): 879.3838; found: 879.3848.

HR-MS (MALDI+, DCTB) _{2DR34}: *m/z* calcd. for 2(C₅₀H₄₆N₁₂O₄) ([2M+H]⁺): 1757; found: 1757.

HR-MS (MALDI+, DCTB) _{DR37+CB[7]}: *m/z* calcd. for (C₅₀H₄₇N₁₂O₄+C₄₂H₄₂N₂₈O₁₄) ([M+CB[7]+H]⁺): 2041.7273; found: 2041.7214.

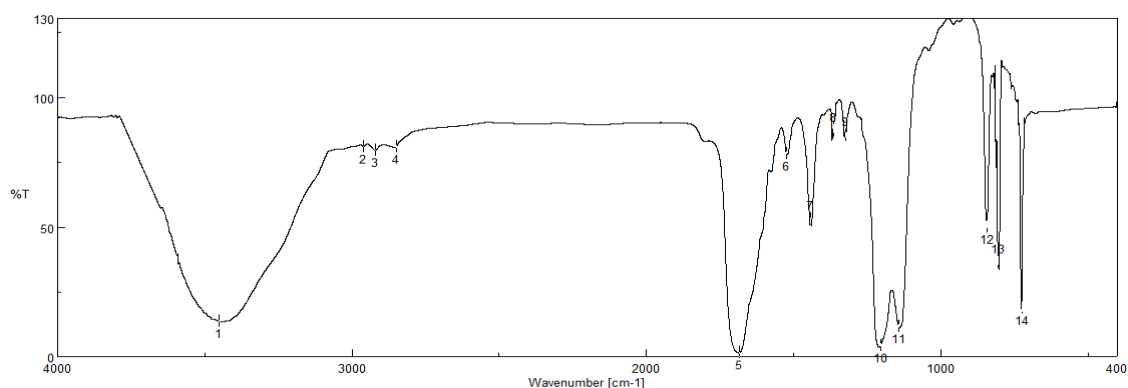
MS (MALDI+, DCTB) _{DR37+2CB[7]}: *m/z* calcd. for (C₅₀H₄₇N₁₂O₄+2C₄₂H₄₂N₂₈O₁₄) ([M+2CB[7]+H]⁺): 3205; found: 3209.

UV-VIS (H₂O) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 458 (329).

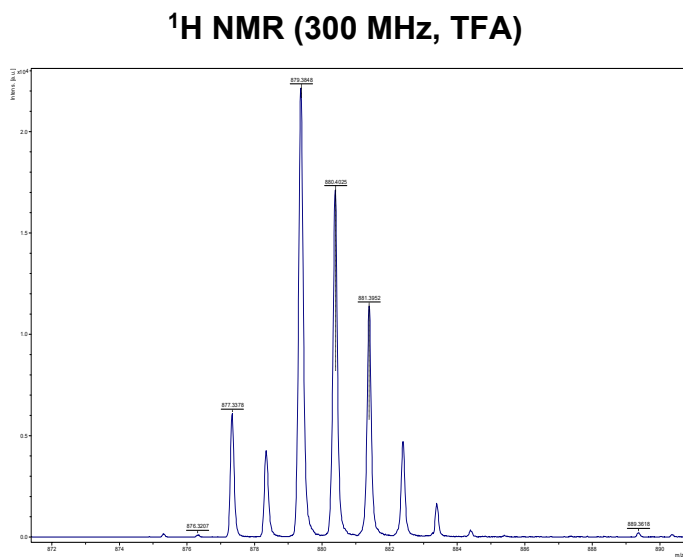
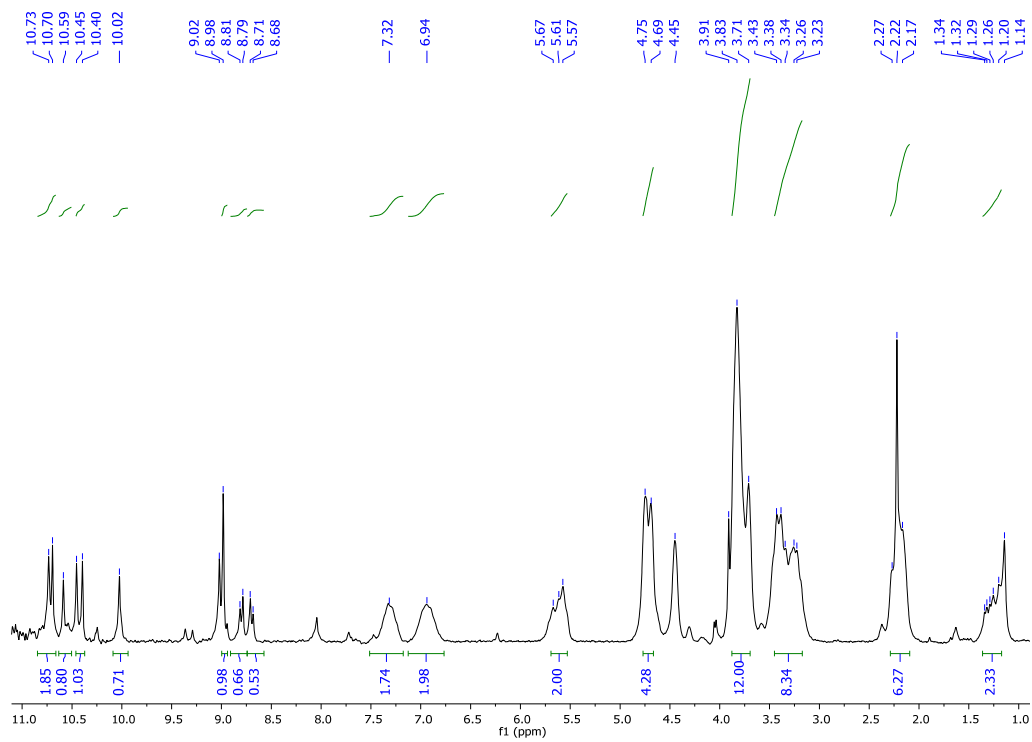
Emission (H₂O, λ_{ex}=458 nm) λ_{max} / nm: 523.

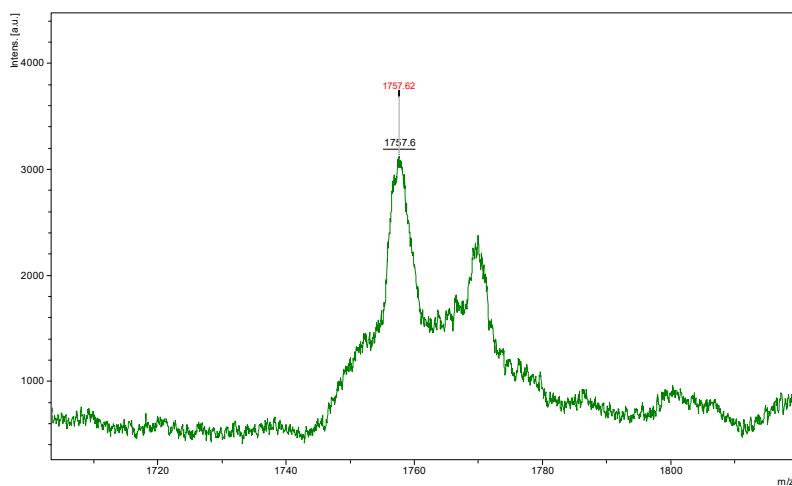
τ / ns (H₂O, χ₂): 6.28 (1.09).

Φ (H₂O, λ_{ex}=458 nm): < 0.01.

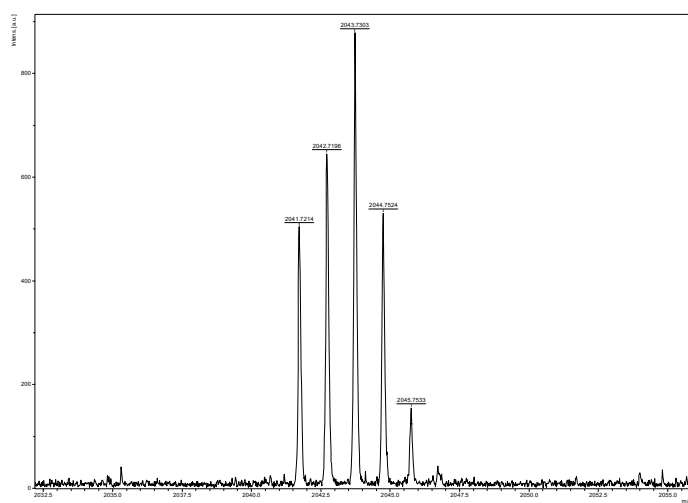


FT-IR (KBr)

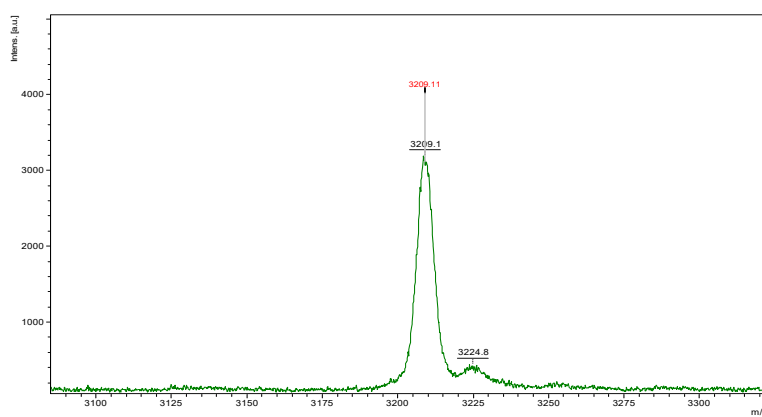




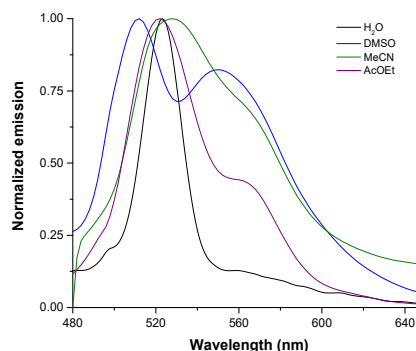
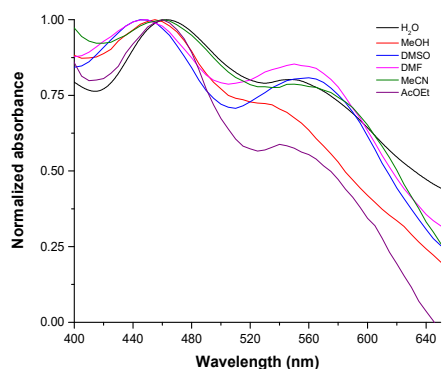
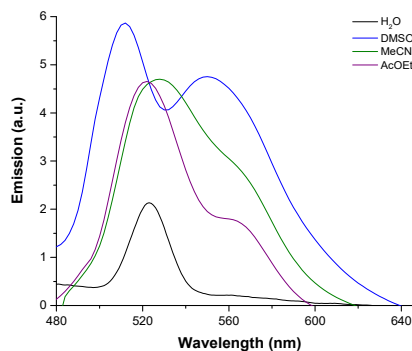
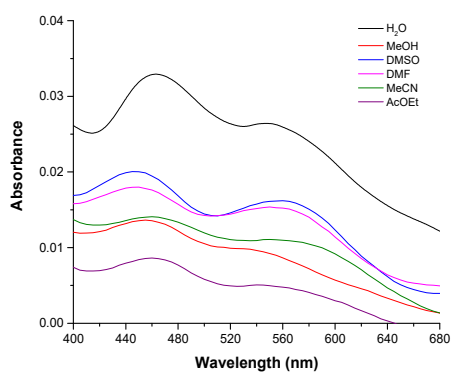
HR-MS (MALDI+, DCTB) DR37 dimer



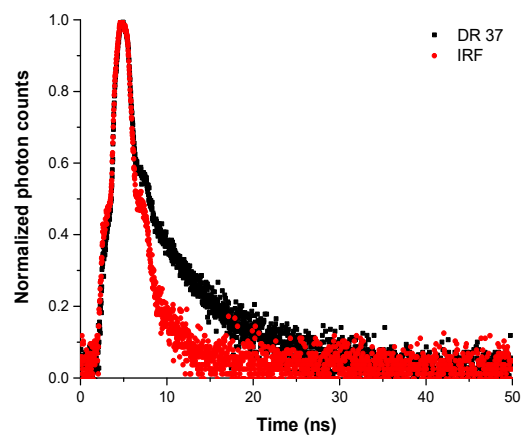
HR-MS (MALDI+, DCTB) DR37 + 1CB[7]



HR-MS (MALDI+, DCTB) DR37 + 2CB[7]



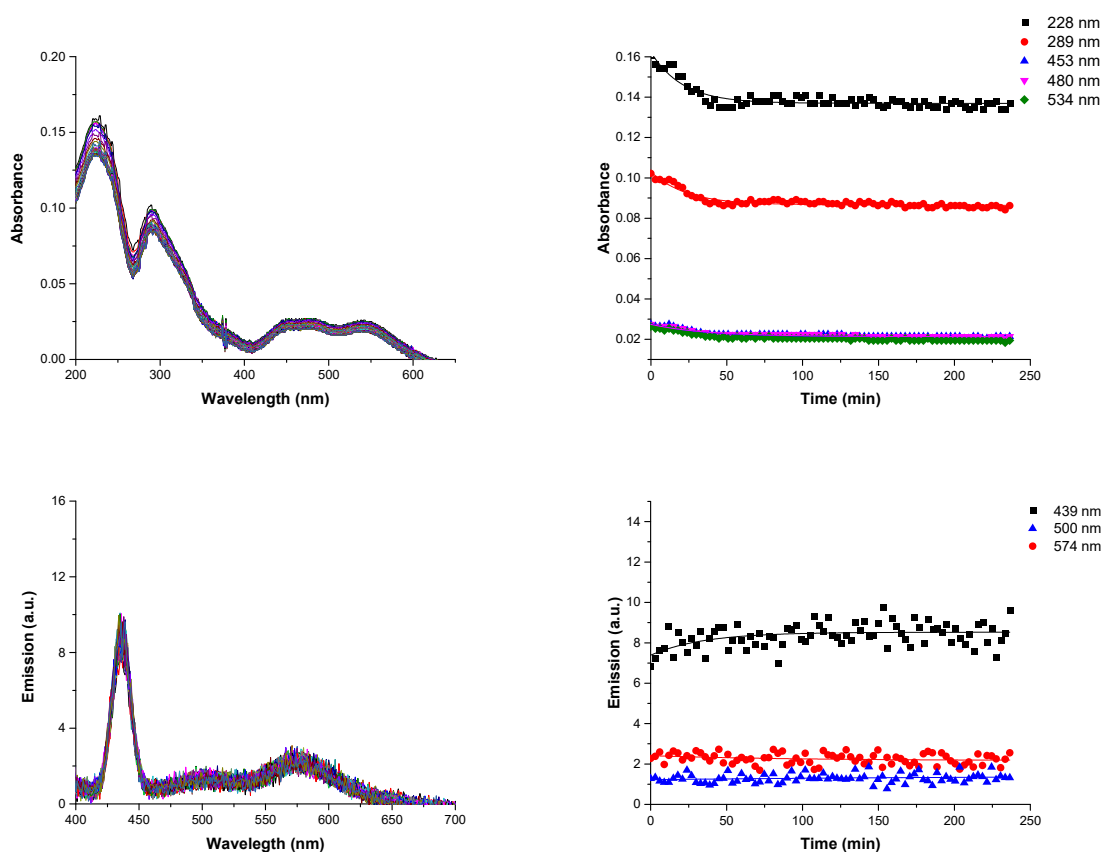
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 458 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 458 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelength 523 nm.

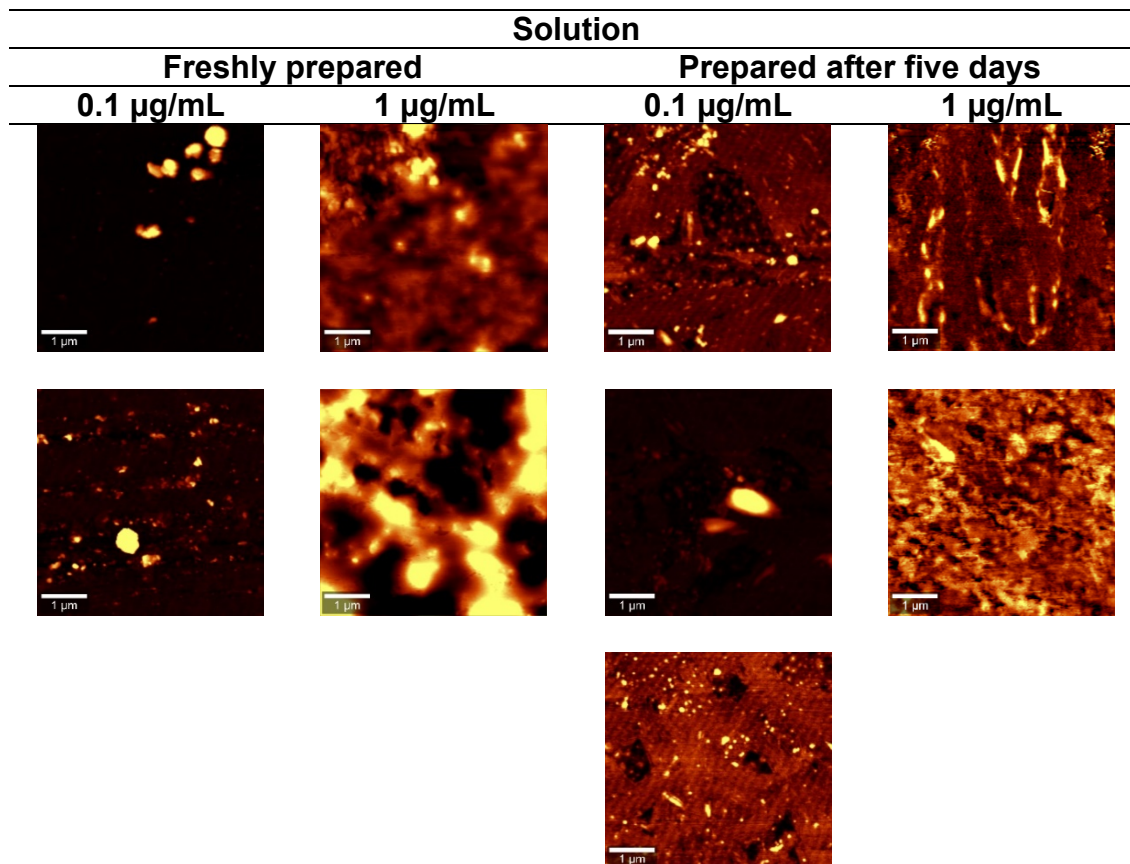
Kinetic effect study:

Compound was dissolved in water. Absorbance and emission (excitation wavelength 458 nm) were measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by 3 minute. **No significant changes** in the spectra were appreciated after 50 minutes.

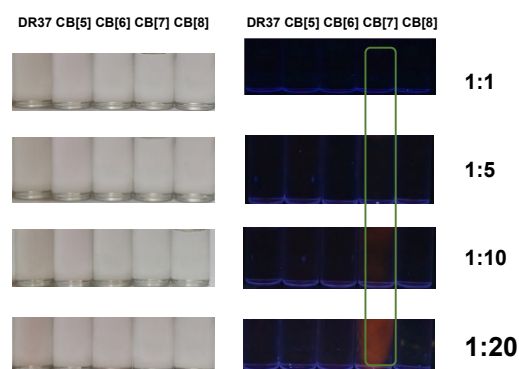


Up: Left: Absorbance spectra at different times. Right: Representation of absorbance maxima along the time. Down: Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Morphology: AFM images of samples prepared in water in different concentrations. Solutions were prepared freshly or five days before.



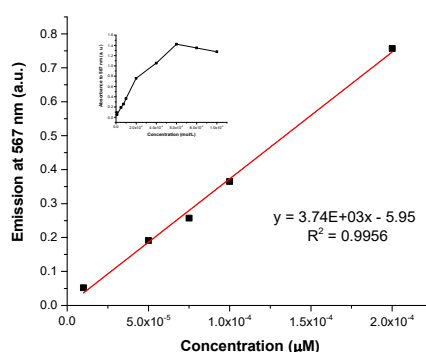
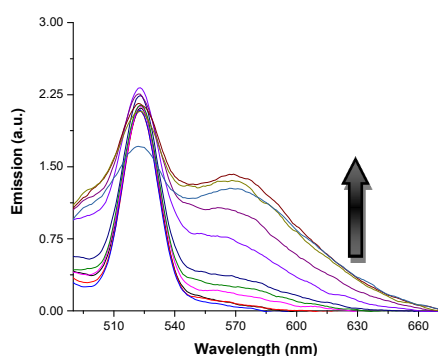
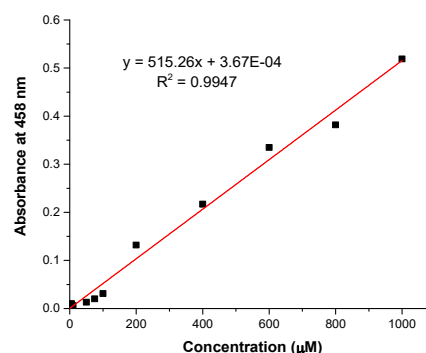
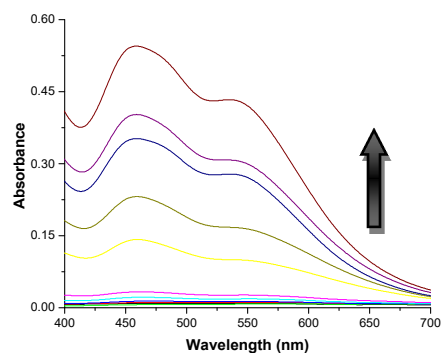
Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in water. This tests result **positive** for **DR 37** with **CB[7]**.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cucurbituril of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye, dye with CB[5], CB[6], CB[7] and CB[8].

Lambert-Beer study:

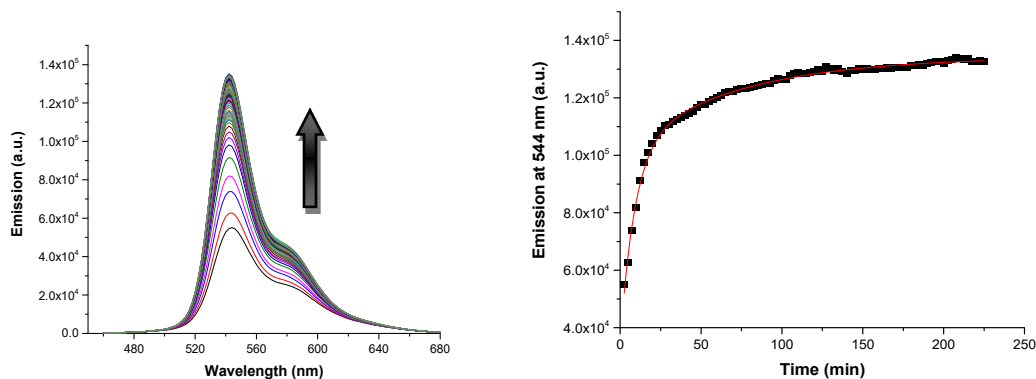
Compound was dissolved in water, in a concentration range of 1 to 1000 μM (10 points). Absorbance and emission (excitation wavelength 453 nm) were measured for each concentration. A significant quenching of the fluorescence (self-aggregation) was observed with concentrations above 75 μM . The selected work concentration was 10 μM .



Up: Left: Absorbance spectra at different concentrations. Right: Representation of absorbance maxima versus concentration. Down: Left: Emission spectra at different concentrations. Right: Representation of emission maxima versus concentration.

Kinetic effect study with cucurbituril:

Compound was dissolved in water. Cucurbituril[7] was added until a molar proportion of 1:20 (compound:CB[7]). Emission (excitation wavelength 458 nm) was measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by every 3 minutes. **An increase of absorbance and emission intensity was observed.**



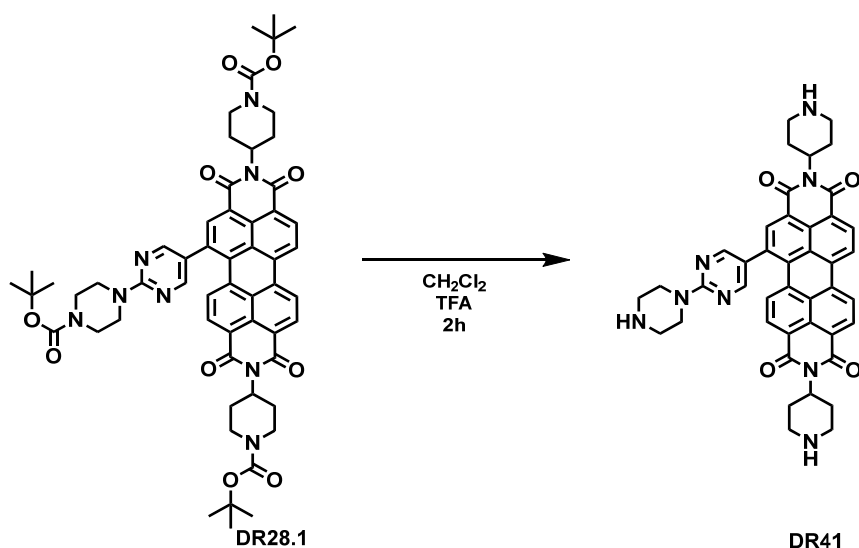
Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Test with cations, anions, oxidizing and reducing agents: the compound was dissolved in water. This test result **negative** for DR 37.

Test of pH effect: This test showed that compound was not affected by change in pH.

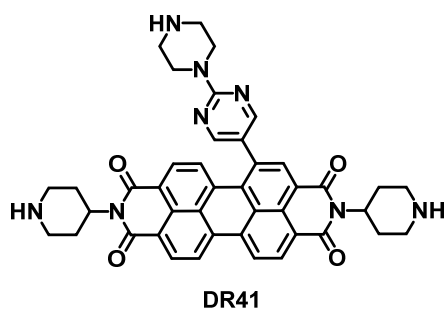


Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye in buffer of pH 5.44 (1), 5.68 (2), 6.77 (3), 6.94 (4), 7.07 (5), 7.09 (6), 7.25 (7), 7.40 (8), 7.46 (9), 7.96 (10), 9.14 (11) and 10.49 (12).

Removal of *N*-Boc protecting groups.

Synthesis:

Trifluoroacetic acid (650 μl) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1-((4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR28.1**) (66.8 mg, 0.06 mmol) in CH_2Cl_2 (4.0 ml). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a dark red solid.



N,N'-Bis(piperidin-1-yl)-1-((piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR41**) was obtained in 96% yield (45.0 mg, 0.06 mmol).

MP ($^{\circ}\text{C}$): > 350 $^{\circ}\text{C}$.

R_f (CH_2Cl_2 :MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3438 (N-H, amine), 2968 (C-H, aromatic), 2933 (C-H, aliphatic), 2846 (C-H, aliphatic), 1696 (C=O, imide), 1595, 1514 (C=C), 1445 (C-N), 1365 (C-N), 1330, 1201 (C-N), 1134, 832, 808, 793, 748, 720 (fingerprint region).

^1H NMR (300 MHz, MeOD) δ : 8.61 – 8.53 (m, 3H, Ar-H), 8.43 – 8.36 (m, 1H, Ar-H), 8.28 – 8.06 (m, 2H, Ar-H), 7.72 – 7.54 (m, 2H, Ar-H), 5.48 – 5.27 (m, 2H, N-CH), 4.22 – 4.18 (m, 4H, CH_2), 4.14 – 4.11 (m, 7H, CH_2), 3.63 – 3.57 (m, 4H, CH_2), 3.26 – 3.22 (m, 4H, CH_2), 3.10 – 3.05 (m, 4H, CH_2), 2.14 – 2.04 (m, 4H, CH_2).

HR-MS (MALDI-, DIT): m/z calcd. for $\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4$ ($[\text{M}]^-$): 718.3011; found: 718.3051.

MS (MALDI+, DCTB) $\text{DR}_{41+\text{CB}[7]}$: m/z calcd. for $(\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4 + \text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{N}_{28}\text{O}_{14})$ ($[\text{M} + \text{CB}[7]]^+$): 1880; found: 1879.

MS (MALDI+, DCTB) $\text{DR}_{41+2\text{CB}[7]}$: m/z calcd. for $(\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4 + 2\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{N}_{28}\text{O}_{14})$ ($[\text{M} + 2\text{CB}[7]]^+$): 3044; found: 3048.

UV-VIS (CHCl_3) λ_{max} / nm (ϵ / $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 530 (705).

UV-VIS (H_2O) λ_{max} / nm (ϵ / $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$): 537(1708).

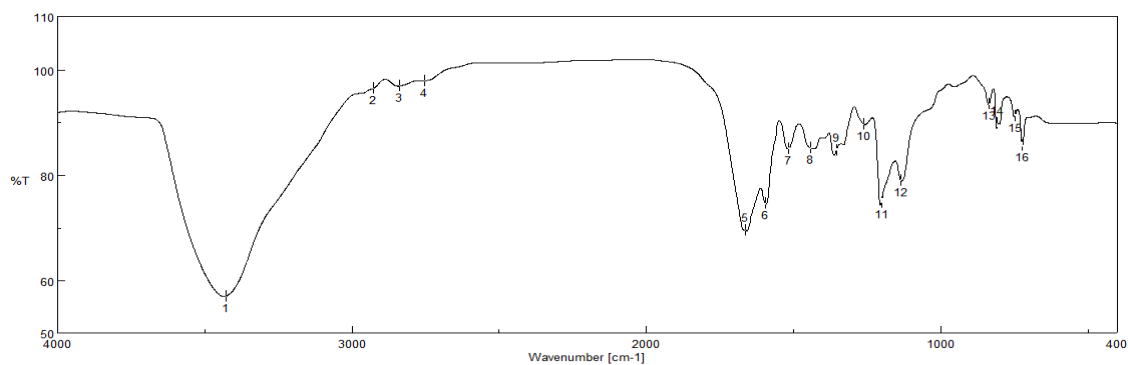
Emission (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=435$ nm) λ_{max} / nm: 597.

τ / ns (CHCl_3 χ^2): 4.30 (1.28).

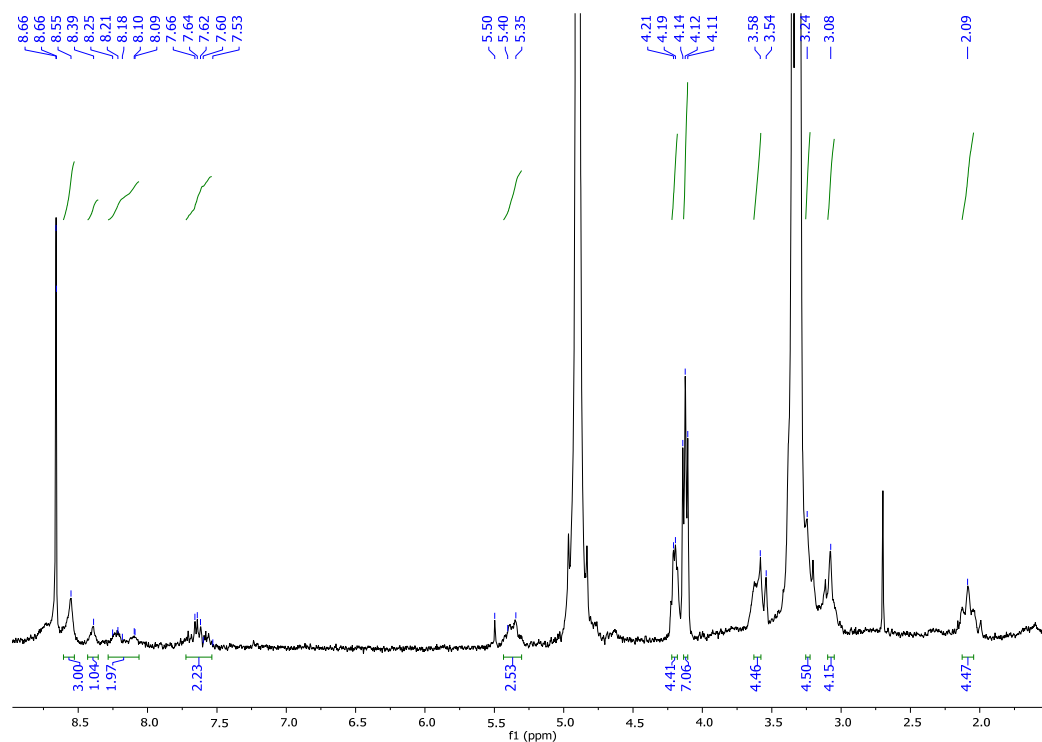
τ / ns (H_2O , χ^2) $\text{DR}_{41+\text{CB}[7]}$: 4.59 (17.50%) and 9.54 (82.50%) (1.05).

Φ (CHCl_3 , $\lambda_{\text{ex}}=450$ nm): 0.12 ± 0.01 .

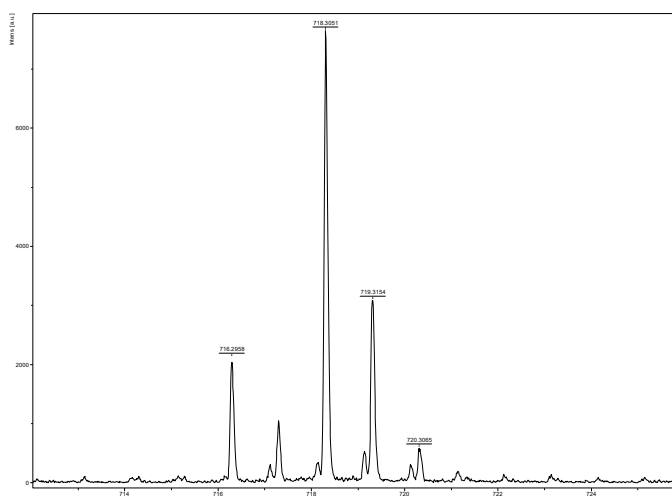
Φ (H_2O , $\lambda_{\text{ex}}=450$ nm) $\text{DR}_{41+\text{CB}[7]}$: 0.25 ± 0.01 .



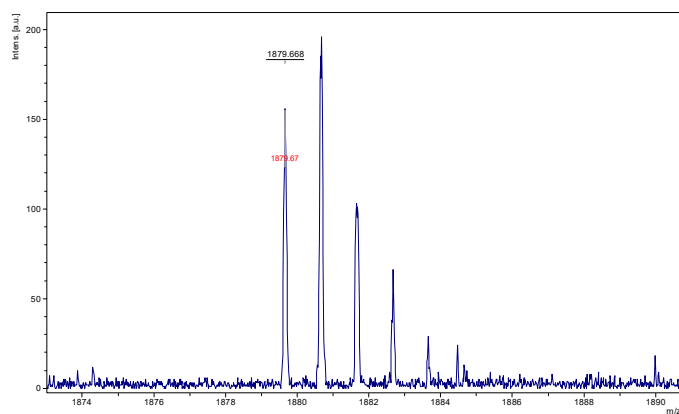
FT-IR (KBr)



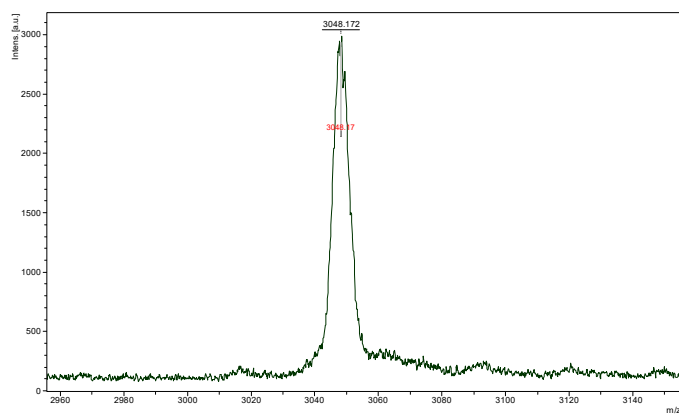
¹H NMR (101 MHz, MeOH)



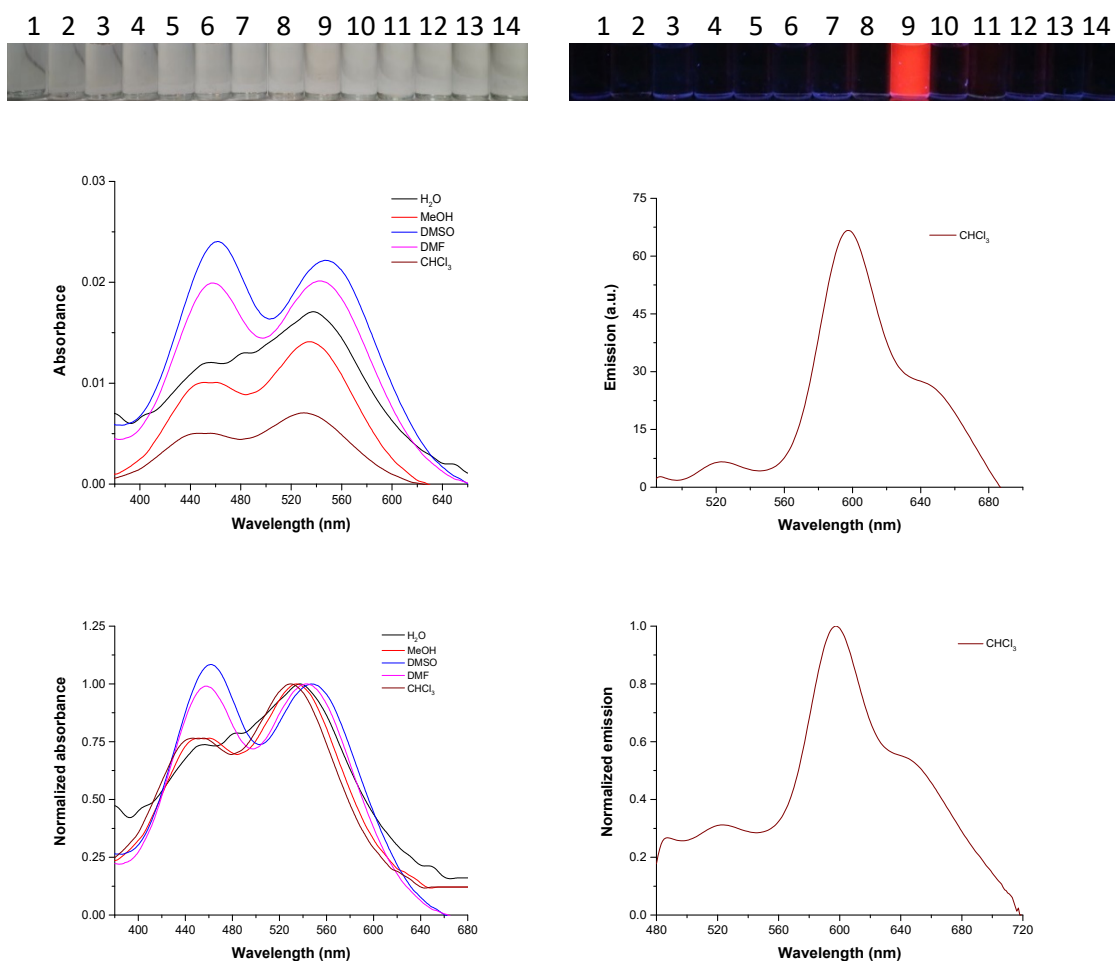
HR-MS (MALDI-, DIT)



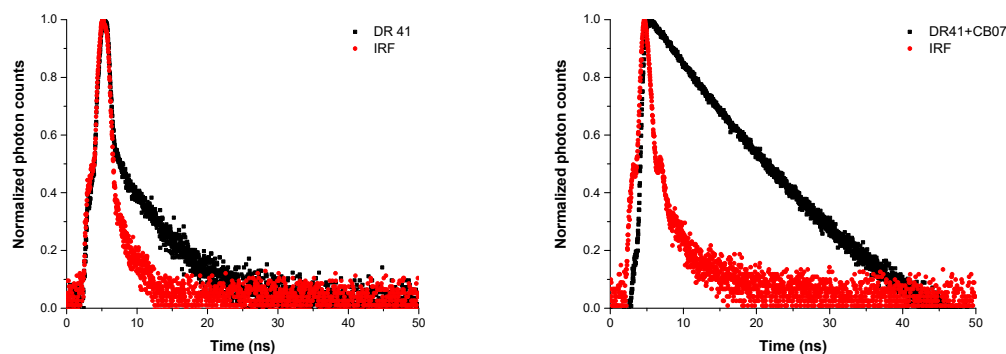
HR-MS (MALDI+, DCTB) DR41 + 1CB[7]



HR-MS (MALDI+, DCTB) DR41 + 2CB[7]



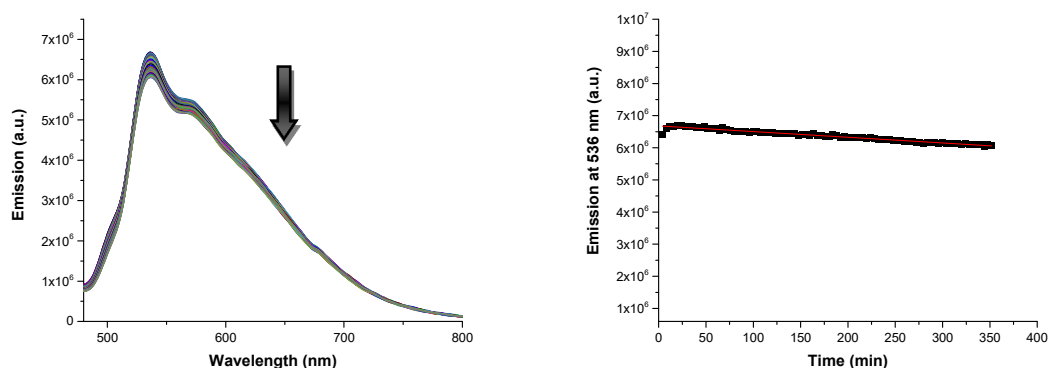
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 435 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 435 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



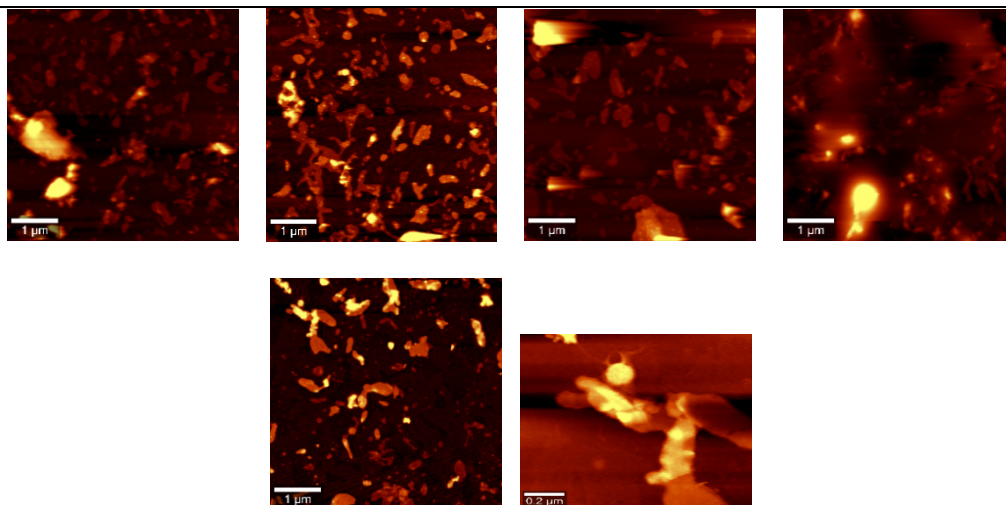
Normalized emission lifetime decay curves of a) DR41 (black) and blank (red) and b) DR41 with CB[7] (1:100 in mol) (black) and blank (red). The laser employed was 445 nm and the emission wavelengths 597 nm (a) and 540 nm.

Kinetic effect study:

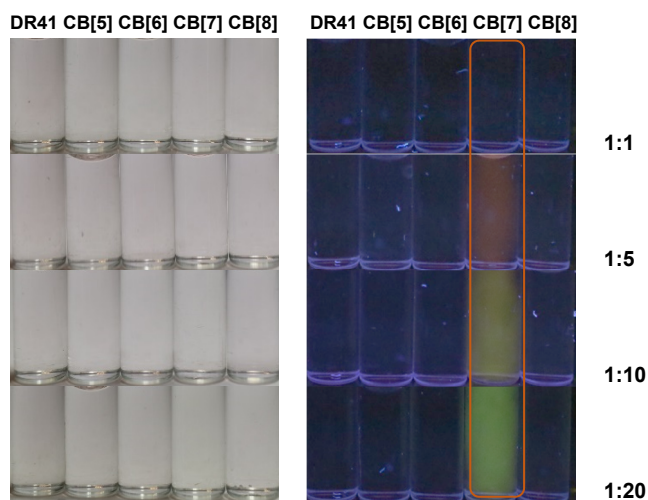
Compound was dissolved in water. Emission (excitation wavelength 450 nm) was measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by every 4 minute. **No significant changes** in the spectra were appreciated during the study.



Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Morphology: AFM images of samples prepared in chloroform in 0.1 µg/mL.
Water 0.1 µg/mL


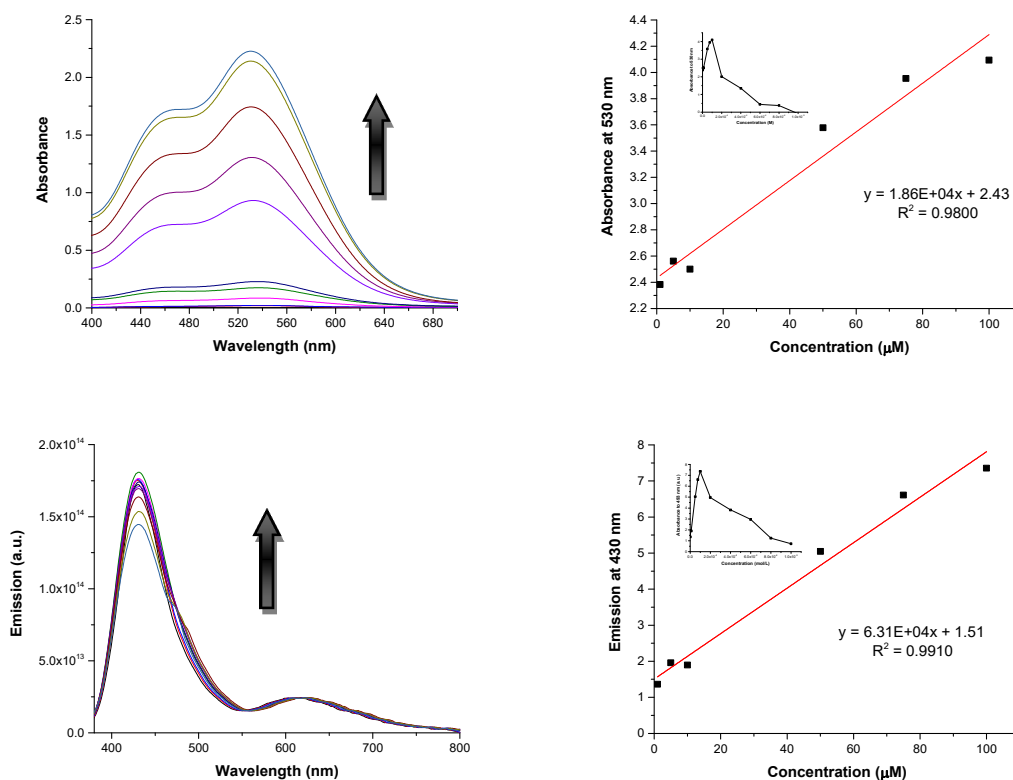
Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in water. This tests result **positive** for **DR 41** with **CB[7]**.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cucurbituril of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye, dye with CB[5], CB[6], CB[7] and CB[8].

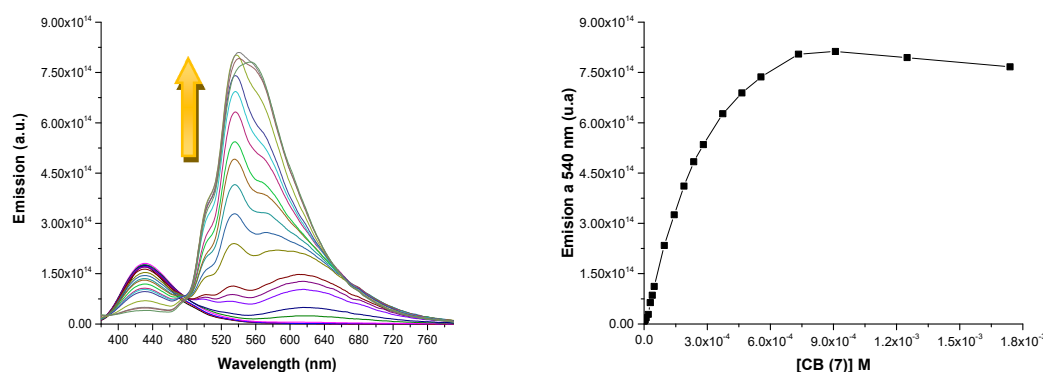
Lambert-Beer study:

Compound was dissolved in water, in a concentration range of 1 to 1000 μM (10 points). Absorbance and emission (excitation wavelength 295 nm) were measured for each concentration. A significant quenching of the fluorescence (self-aggregation) was observed with concentrations above 75 μM . The selected work concentration was 10 μM .



Up: Left: Absorbance spectra at different concentrations. Right: Representation of absorbance maxima versus concentration. Down: Left: Emission spectra at different concentrations. Right: Representation of emission maxima versus concentration.

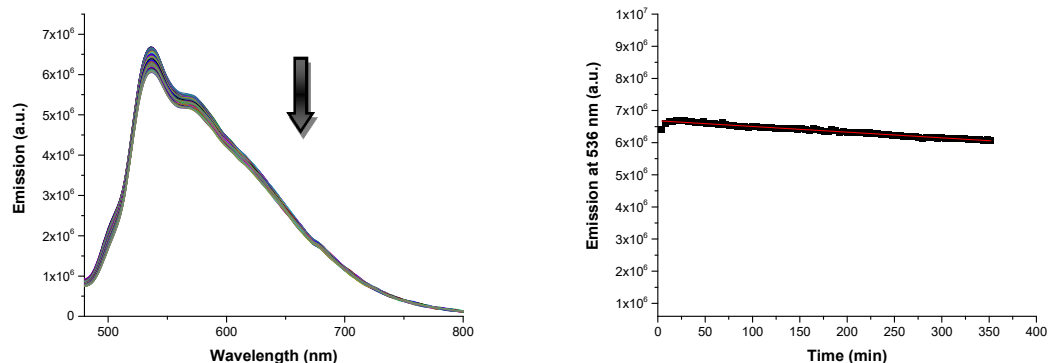
Fluorescence titration plot of DR 41 and CB07 in H₂O.



Fluorescence titration plot of DR41 and CB[7] in H₂O, 10 μ M DR41 (left) and fitted line (right).

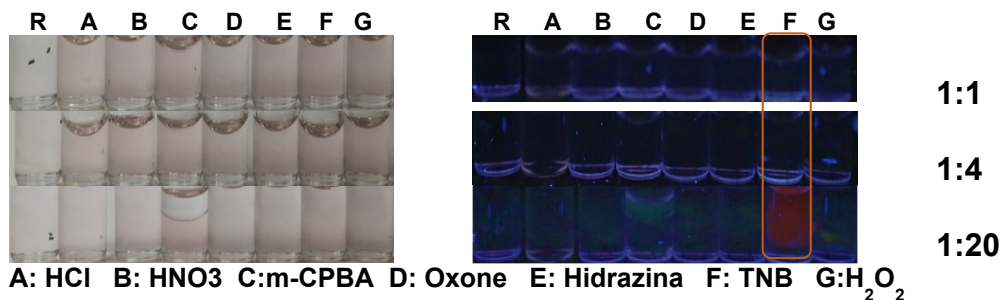
Kinetic effect study with cucurbituril:

Compound was dissolved in water. Cucurbituril[7] was added until a molar proportion of 1:20 (compound:CB[7]) Emission (excitation wavelength 287 nm) were measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum by every 3 minutes. **No significant changes** in the spectra were appreciated during the study.



Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Test with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in water. This tests result **positive** for **DR 41** with TNB and **negative** for the rest.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and oxidizing of 1:1, 1:4 and 1:20.

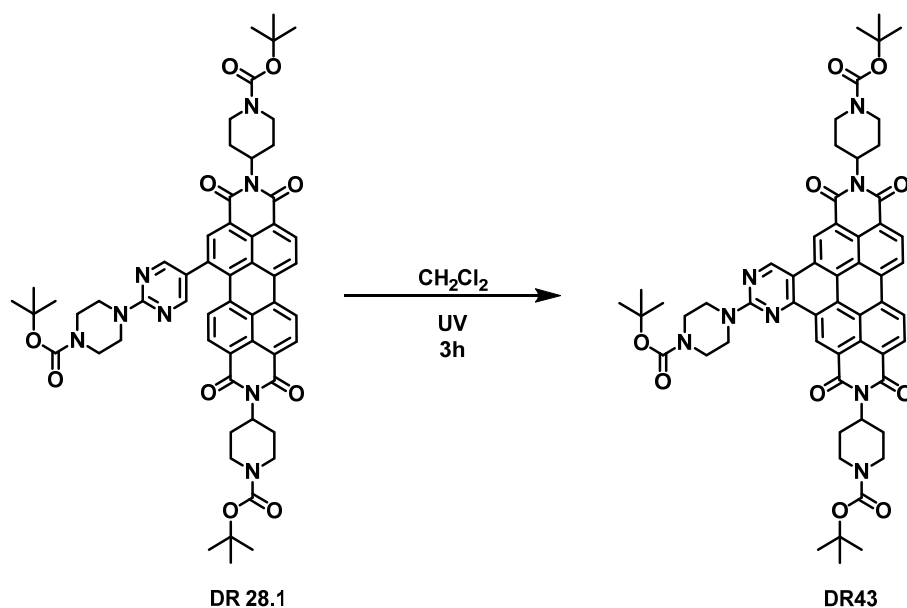
Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye with HCl (A), HNO₃ (B), *m*-CPBA (C), oxone (D), hydrazine (E), TNB (F) and H₂O₂ (G).

Test of pH effect: This test showed that compound was not affected by change in pH.



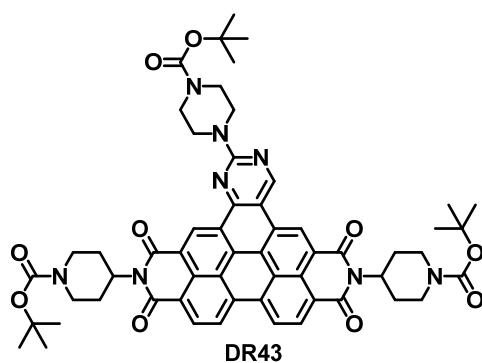
Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. Each tube in every image correspond (from left to right) to: dye (R), dye in buffer of pH 5.44 (1), 5.68 (2), 6.77 (3), 6.94 (4), 7.07 (5), 7.09 (6), 7.25 (7), 7.40 (8), 7.46 (9), 7.96 (10), 9.14 (11) and 10.49 (12).

Ring closure at bay positions of monosubstituted PDI.



Synthesis:

N,N'-Bis-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1-((4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-1-yl)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR28.1**) (30.0 mg, 0.03 mmol) in CH₂Cl₂ (40 ml) was added under inert atmosphere to a flat bottom flask, equipped with a magnetic stirrer and a cooling system. The reaction mixture was stirred under UV-VIS irradiation (50W, 4 cm of distance) for three hours. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was subjected to column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂:MeCN, 5:1) to afford the perylene diimide as a purple solid that shows red emission in solid state.



N,N'-Bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR 43**) was obtained in 52% yield (15.4 mg, 0.02 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50: 2): 0.41.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 2968 (C-H, aromatic), 2923 (C-H, aliphatic), 2857 (C-H, aliphatic), 1696 (C=O, carbamate), 1658 (C=O, imide), 1598, 1522 (C=C), 1434, 1417 (C-N), 1365 (C-N), 1320, 1250, 1170 (C-N), 1117, 1024, 814, 720 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, CHCl₃) δ: 9.45 – 8.89 (m, 3H, Ar-H), 8.66 – 8.42 (m, 4H, Ar-H), 5.36 – 5.19 (m, 2H, N-CH), 4.62 – 4.37 (m, 4H, CH₂), 4.15 – 3.99 (m, 4H, CH₂), 3.80 – 3.66 (m, 4H, CH₂), 3.06 – 2.81 (m, 8H, CH₂), 2.06 – 1.96 (m, 4H, CH₂), 1.62 (s, 18H, CH₃), 1.60 (s, 9H, CH₃).

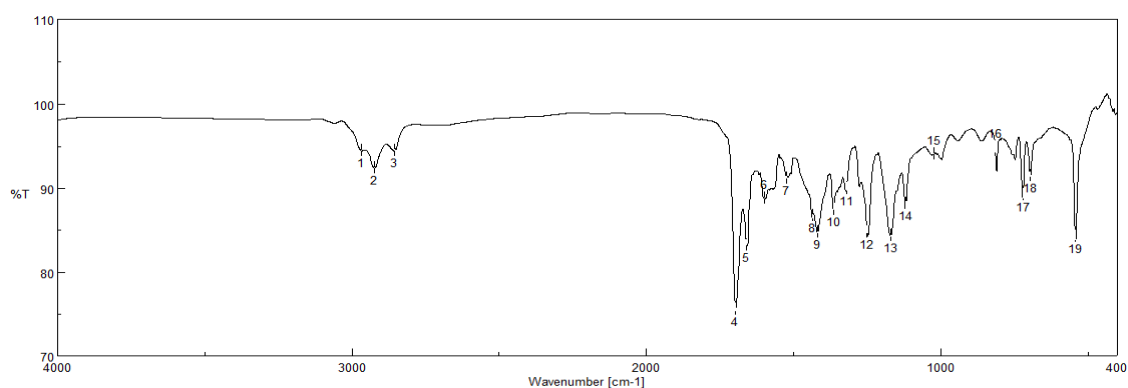
HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₅₇H₆₀N₈O₁₀ ([M]⁻): 1016.4427; found: 1016.4467.

UV-VIS (CHCl₃) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 536 (2996).

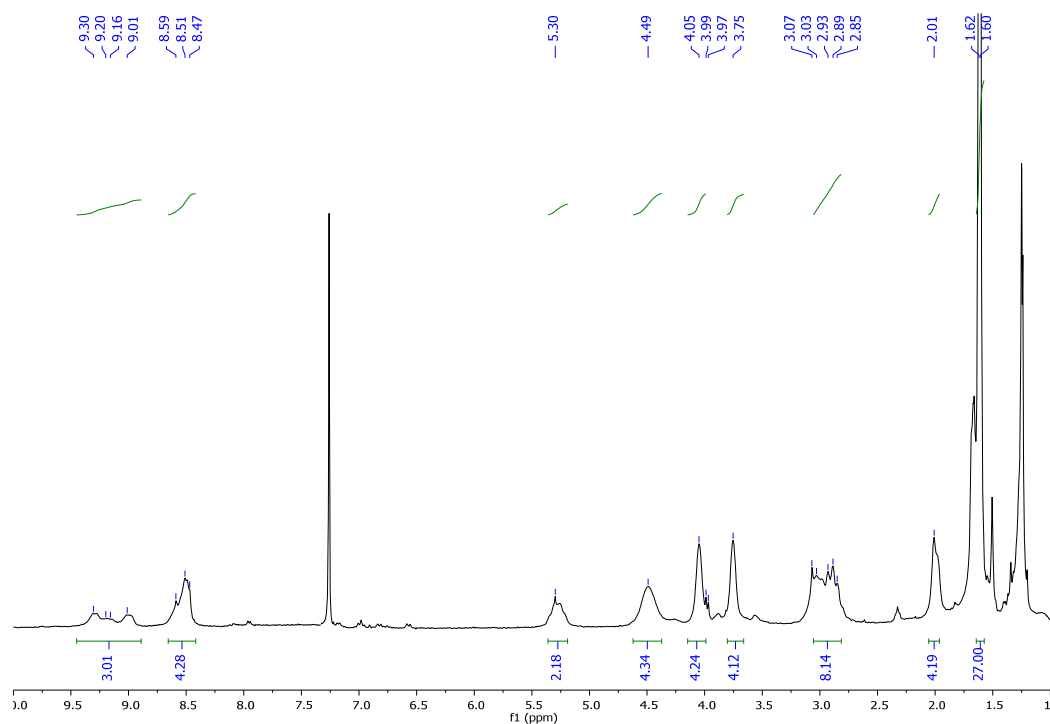
Emission (CHCl₃, λ_{ex}=435 nm) λ_{max} / nm: 602.

τ / ns (CHCl₃, χ²): 5.29 (57.56%) and 9.99 (42.44%) (1.10).

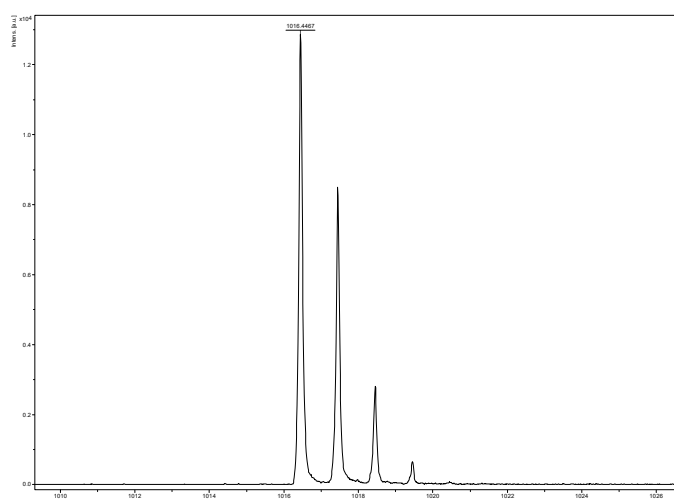
Φ (CHCl₃, λ_{ex}=435 nm): 0.63 ± 0.01.



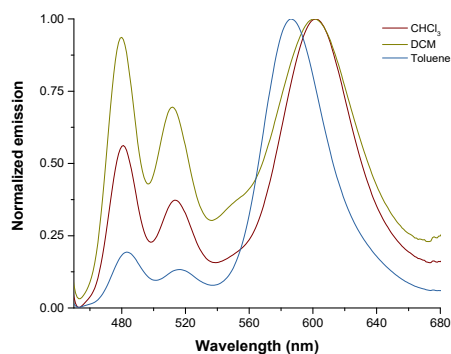
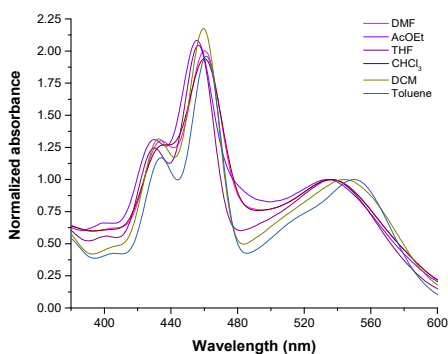
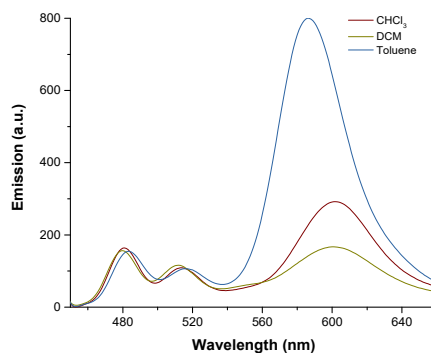
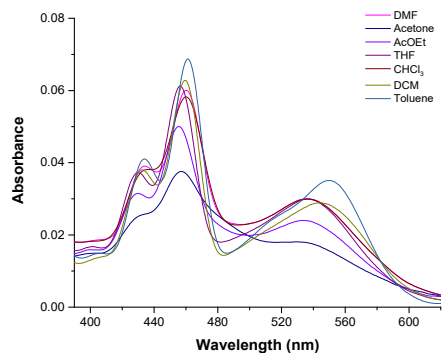
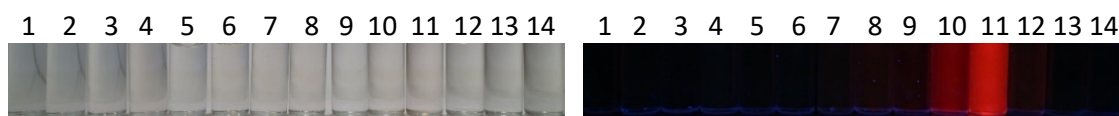
FT-IR (KBr)



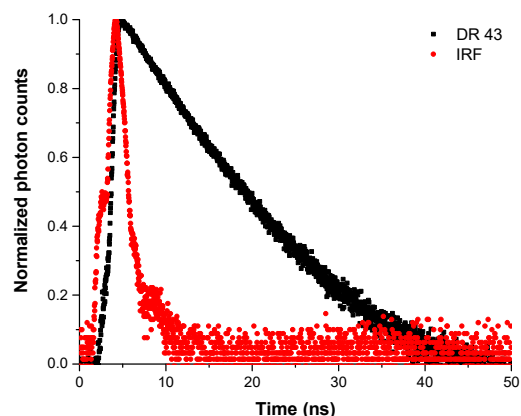
¹H NMR (300 MHz, CHCl₃)



HR-MS (MALDI-, DIT)



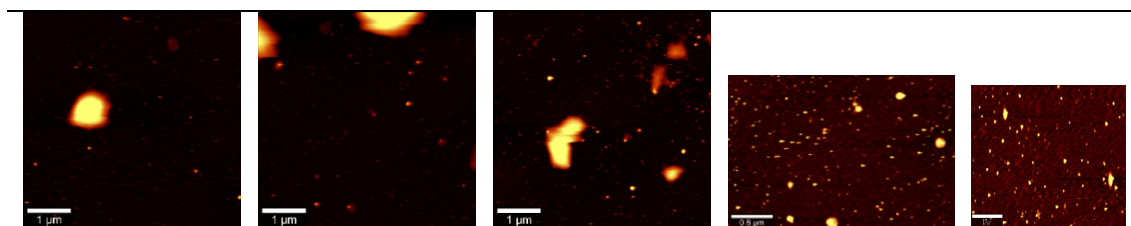
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 435 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 435 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



Normalized emission lifetime decay curve of fluorophore (black) and blank (red). The laser employed was 405 nm and the emission wavelength 600 nm.

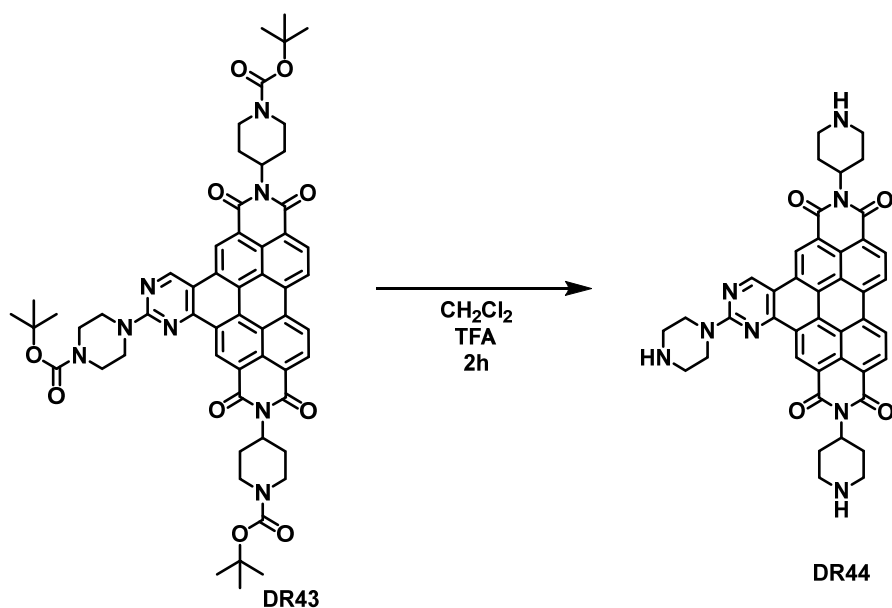
Morphology: AFM images of samples prepared in chloroform in 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Chloroform 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$



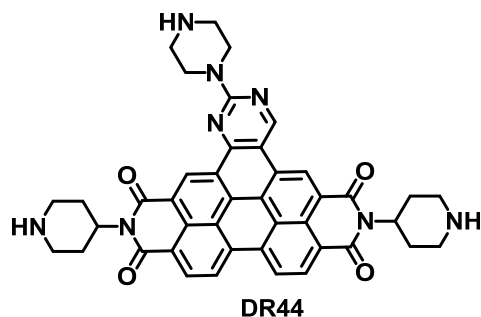
Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in DMF and diluted with water (DMF volume less than 5% of total). This tests result **negative** for **DR 43**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in DMF and diluted with water (DMF volume less than 5% of total). This tests result **negative** for **DR 43**.

Removal of *N*-Boc protecting groups.

Synthesis:

Trifluoroacetic acid (196 μ l) was added dropwise to a stirred solution of *N,N'*-bis-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-[6,7-*e*]-2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (**DR43**) (0.20 g, 0.02 mmol) in CH₂Cl₂ (2.0 ml). The reaction mixture was stirred for two hours. After that, aqueous NaOH (1M) was added over the solution until basic pH (8-9). Finally, the mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water and the combined organic layers were dried. The solvent was removed under reduced pressure to afford the perylene diimide as a dark red solid.



***N,N'*-Bis-(piperidin-4-yl)-[6,7-*e*]-2-(1,4-piperazin-1-yl)-1,3-pyrimidin)perylene-3,4:9,10-tetracarboxylic diimide (DR44)** was obtained in 71% yield (10.0 mg, 0.01 mmol).

MP (°C): > 350°C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 50:4): 0.01.

FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3433 (N-H, amine), 2917 (C-H, aromatic), 2855 (C-H, aliphatic), 2725 (C-H, aliphatic), 1659 (C=O, imide), 1596 (C=C), 1439 (C-N), 1370 (C-N), 1321, 1255 (C-N), 1193, 1126, 1042, 850, 795, 746, 711 (fingerprint region).

¹H NMR (300 MHz, TFA) δ: 10.71 – 10.55 (m, 1H, Ar-H), 10.47 – 10.28 (m, 1H, Ar-H), 10.16 – 9.94 (m, 1H, Ar-H), 9.47 – 9.35 (m, 2H, Ar-H), 9.23 – 9.16 (m, 1H, Ar-H), 9.15 – 9.07 (m, 1H, Ar-H), 5.82 – 5.49 (m, 2H, N-CH), 4.90 – 4.58 (m, 4H, CH₂), 3.94 – 3.78 (m, 8H, CH₂), 3.47 – 3.25 (m, 8H, CH₂), 2.29 – 2.17 (m, 4H, CH₂).

HR-MS (MALDI-, DIT): *m/z* calcd. for C₄₂H₃₆N₈O₄ ([M]⁻): 716.2854; found: 716.2827.

UV-VIS (DMSO) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 535 (10916).

UV-VIS (H₂O) λ_{max} / nm (ε / M⁻¹·cm⁻¹): 475 (8400).

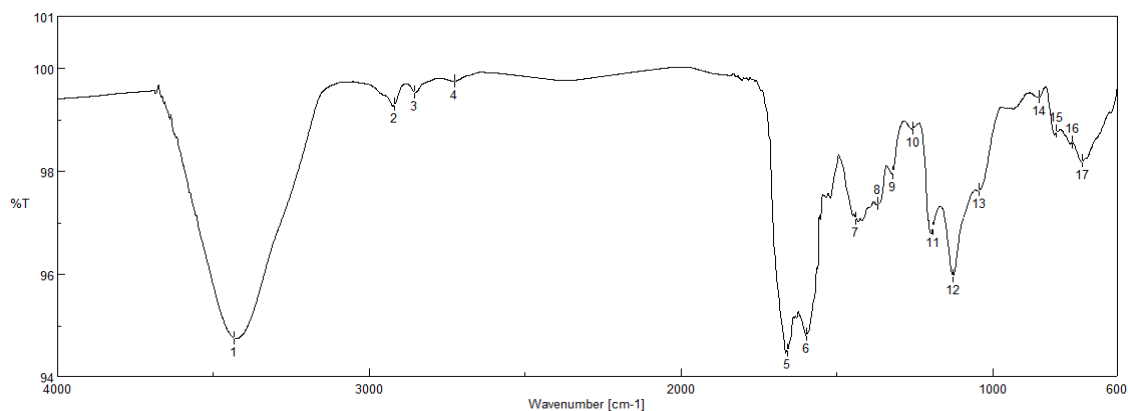
Emission (DMSO, λ_{ex}=430 nm) λ_{max} / nm: 646.

τ / ns (DMSO, χ₂): 1.45 (52.55%) and 4.97 (47.45%) (1.25).

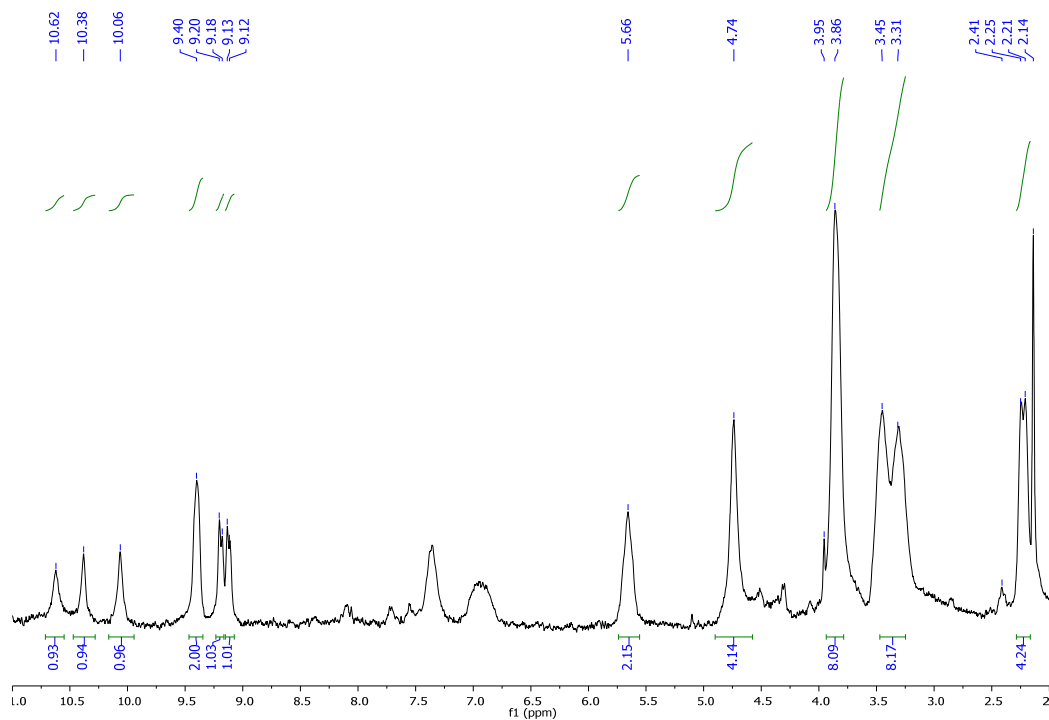
τ / ns (H₂O, χ₂)_{DR44+CB[7]} (1:100 in mol): 4.42 (80.87%) and 10.25 (19.13%) (0.99).

Φ (DMSO, λ_{ex}=435 nm): 0.03 ± 0.01.

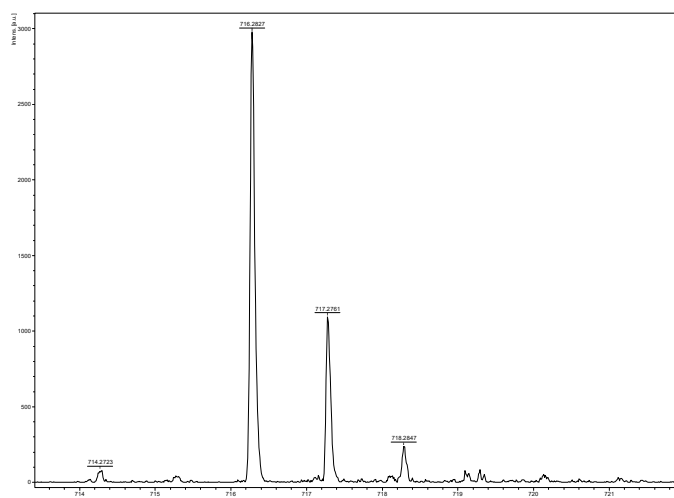
Φ (H₂O, λ_{ex}=435 nm)_{DR44+CB[7]} (1:100 in mol): 0.30 ± 0.01.



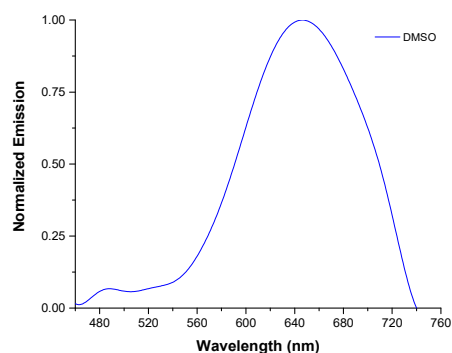
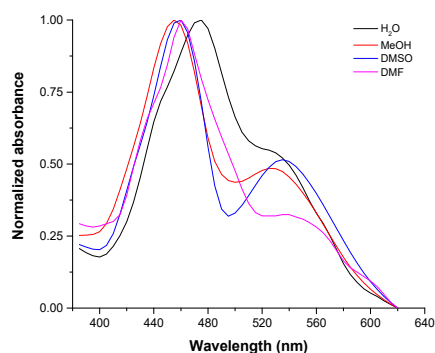
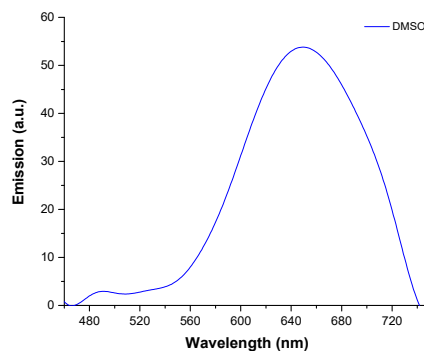
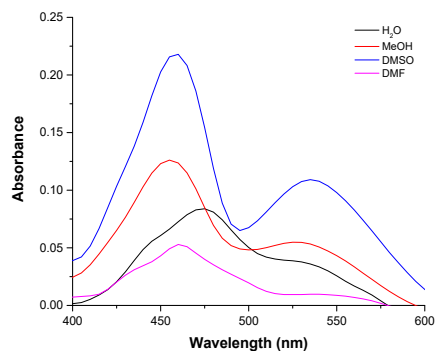
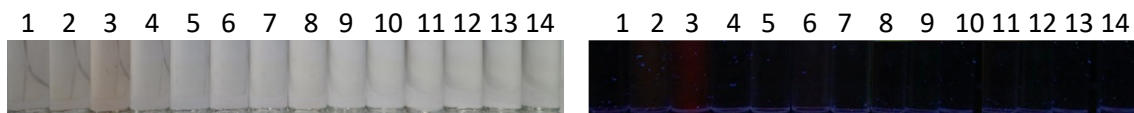
FT-IR (KBr)



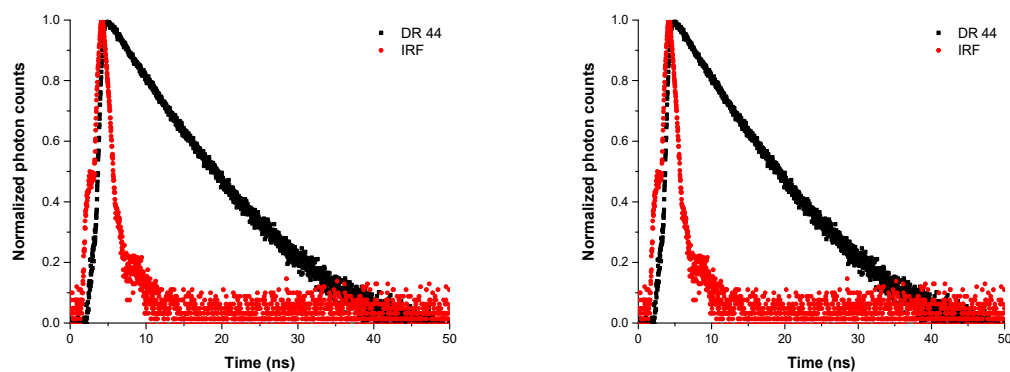
¹H NMR (300 MHz, TFA)



HR-MS (MALDI-, DIT)



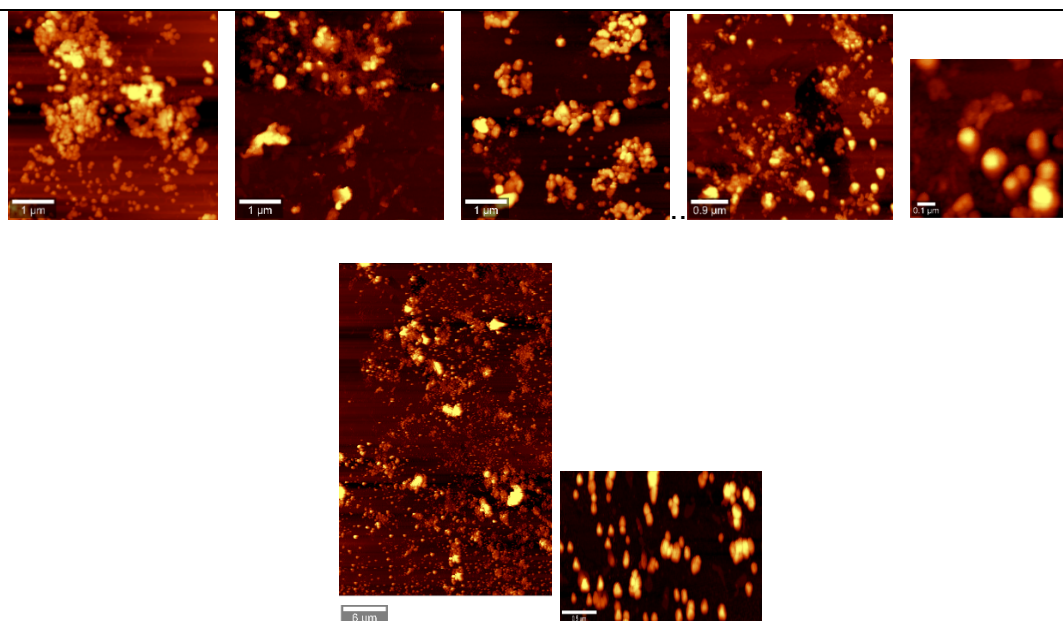
Solvatochromism test: Up: Photos under white and 366 nm lights. Medium: Absorption (left) and emission spectra (right) under excitation wavelength of 430 nm. Down: Normalized absorption spectrum (left) and normalized emission one (right) under excitation wavelength of 430 nm. The employed solvents were: 1: H₂O, 2: MeOH (methanol), 3: DMSO (dimethylsulfoxide), 4: DMF (*N,N'*-dimethylformamide), 5: MeCN (acetonitrile), 6: Acetone, 7: AcOEt (ethyl acetate), 8: THF (tetrahydrofuran), 9: CHCl₃, 10: CH₂Cl₂ (dichloromethane), 11: Toluene, 12: Et₂O (diethyl ether), 13: *n*-Hx (hexane), 14: *c*-Hx (cyclohexane).



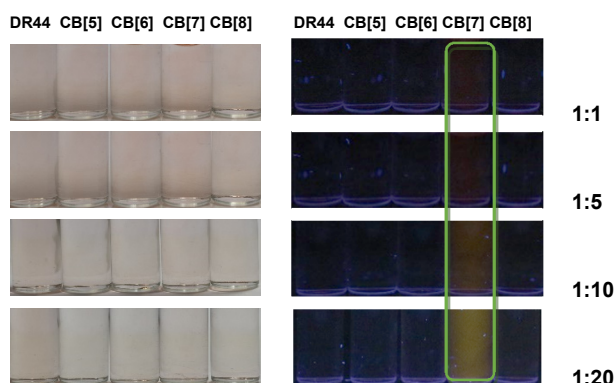
Normalized emission lifetime decay curves of a) DR44 (black) and blank (red) and b) DR44 with CB[7] (1:100 in mol) (black) and blank (red). The laser employed was 405 nm and the emission wavelengths 646 nm (a) and 538 nm (b).

Morphology: AFM images of samples prepared in water in 0.1 $\mu\text{g/mL}$.

Water 0.1 $\mu\text{g/mL}$



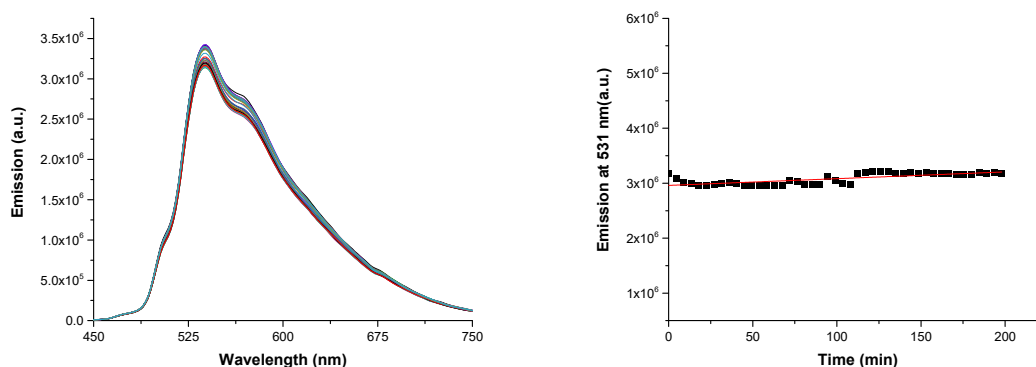
Tests with cucurbituril: The compound was dissolved in water. This tests result **positive** for **DR 44** with **CB[7]**.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. From top to bottom, molar proportion between dye and cucurbituril of 1:1, 1:5, 1:10 and 1:20. Each tube in every image corresponds (from left to right) to: dye, dye with CB[5], CB[6], CB[7] and CB[8].

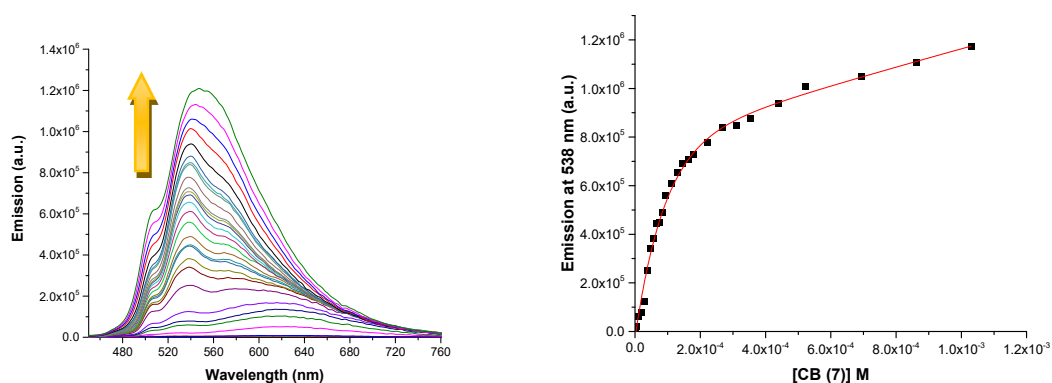
Kinetic effect study with cucurbituril:

Compound was dissolved in water. Cucurbituril[7] was added until a molar proportion of 1:20 (compound:CB[7]) Emission (excitation wavelength 435 nm) was measured for 270 minutes with a rate of 1 spectrum every 4.5 minutes. **No significant changes** in the spectra were appreciated during the study.



Left: Emission spectra at different times. Right: Representation of emission maxima along the time.

Fluorescence titration plot of DR 44 and CB07 in H₂O.



Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents in the presence of CB[7]: The compound was dissolved in water, with **CB[7]** as an additive (molar proportion 1:100, compound:CB[7]). This test resulted **negative** for **DR44-CB [7]**.

Tests with cations, anions, oxidizing and reducing agents: The compound was dissolved in water. This test resulted **negative** for **DR 44**.

Test of pH effect: This test showed that compound was not affected by change in pH.



Photos were taken under white (left) and 366 nm (right) lights. Each tube in every image corresponds (from left to right) to: dye (R), dye in buffer of pH 5.44 (1), 5.68 (2), 6.77 (3), 6.94 (4), 7.07 (5), 7.09 (6), 7.25 (7), 7.40 (8), 7.46 (9), 7.96 (10), 9.14 (11) and 10.49 (12).