

**REACTIVIDAD EN FASE GASEOSA DE α -CIANOFENILENVINILENOS COMO
MATRICES MALDI DE TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA**

DAMARIS SULEY GODOY MIRANDA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2019

**REACTIVIDAD EN FASE GASEOSA DE α -CIANOFENILENVINILENOS COMO
MATRICES MALDI DE TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA**

DAMARIS SULEY GODOY MIRANDA

Trabajo de grado como requisito para optar el título de Químico

DIRECTOR

MARIANNY YAJAIRA COMBARIZA

Ph. D. EN QUÍMICA

CO-DIRECTOR

JUAN SEBASTIÁN RAMÍREZ PRADILLA

M.Sc. EN QUÍMICA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2019

DEDICATORIA

A Dios por ser el centro y motor de mi vida e indudablemente a mis padres porque son los pilares que me motivan a ser cada día mejor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por estar siempre en mi vida y ayudarme en esta etapa, a mis padres Jesús Godoy y Mercedes Miranda por brindarme su apoyo incondicional y siempre confiar en mí.

A la Universidad Industrial de Santander y a los directores del grupo de investigación GIFTEX, Marianny Combariza y Cristian Blanco por darme la oportunidad de realizar el proyecto de investigación, a Sebastián Ramírez por cada una de sus asesorías que con paciencia y dedicación han permitido la elaboración de este proyecto y me han hecho crecer como profesional, y a la entidad COLCIENCIAS por la ayuda económica que hizo posible la culminación de esta investigación.

Gracias a Felipe Pinzón por ser mi amigo y confidente, por darme consejos y motivarme a nunca renunciar, gracias por ser parte indispensable en mi vida, al igual que Lizeth León por ser mi hermana, mejor amiga y colega quien en momento de dificultad siempre me acompañó, ahora comprendo cuando se dice que quien encuentra un amigo, encuentra un tesoro.

A mis compañeros de laboratorio; a Juliana Pérez quien compartió sus conocimientos conmigo y me enseñó que la ciencia es el camino para descubrir un millar de cosas nuevas; a Jesús Oñate y Karen Rodríguez porque cada día en el laboratorio fue ameno y lleno de alegrías a pesar de las vicisitudes que se presentaban a diario.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	17
1. OBJETIVOS.....	20
1.1. OBJETIVO GENERAL	20
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
2. MARCO TEÓRICO	21
2.1 TÉCNICA DE IONIZACIÓN /DESORCIÓN LÁSER ASISTIDA POR MATRIZ (MALDI).....	21
2.2. PROCESOS DE FORMACIÓN DE IONES EN MALDI.....	22
2.2.1 Formación primaria de iones.....	22
2.2.2 Transferencia electrónica.....	24
2.2.3 Transferencia protónica	28
2.2.4 Abstracción protónica.....	29
2.3 MATRICES MALDI.....	29
2.4 SISTEMAS FENILENVINILENO	31
2.5 ESPECTROSCOPIA FOTOELECTRÓNICA ULTRAVIOLETA (UPS) Y BRACKETING.....	32
3. METODOLOGÍA	35
3.1 SÍNTESIS DE α -CIANOFENILENVINILENOS	35
3.1.1 Síntesis de precursores	35
3.1.2 Síntesis de α -cianofenilenvinilenos	36
3.1.3 Caracterización estructural de α -cianofenilenvinilenos	37
3.2 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA.....	37
3.2.1 Caracterización UV-vis.....	37
3.2.2 Caracterización por reflectancia difusa.	38
3.2.3 Caracterización por espectrometría de masas MALDI.....	39
3.2.4. Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS)	39
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
4.1 SÍNTESIS DE α -CNPVs.....	40
4.1 CARACTERIZACIÓN FOTOQUÍMICA.....	42

4.1.1 Espectroscopia ultravioleta- visible	42
4.1.2 Determinación del coeficiente de absortividad molar (ϵ)	43
4.1.3 Espectroscopia ultravioleta- visible de reflectancia difusa	45
4.1.4 Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS)	49
4.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI	50
4.2.1 Experimentos LDI-MS	50
4.2.2 Curva de aparición de iones	53
4.3 DESEMPEÑO TERMODINÁMICO EN LA FASE GASEOSA DE LOS CNPVs	55
4.3.1 Bracketing	61
4.3.2 Aplicación.....	63
5. CONCLUSIONES	69
6. RECOMENDACIONES	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de Pooling- Ionización de la matriz y ionización secundaria (transferencia electrónica) donde M:Matriz y A:analito	24
Figura 2. Espectros de masas MALDI donde se exhiben los iones-radicales de los diferentes oligometalocenos: a) Espectro del dímero ferroceno, matriz:ditranol. b) Espectro del hexarutenoceno, matriz: 9-nitroantraceno.....	25
Figura 3. Espectros de masa MALDI de los diferentes polímeros: c) FC15, matriz: 9-nitroantraceno. d) FC30, matriz: quinizarina... ..	¡Error! Marcador no definido.
Figura 4. Vías de formación de moléculas deprotonadas del analito en MALDI mono negativo... ..	29
Figura 5. Estructura de moléculas empleadas como matrices MALDI de transferencia electrónica.....	31
Figura 6. Modelo de tres pasos para UPS.	34
Figura 7. Portamuestra con matriz para análisis por reflectancia difusa.	38
Figura 8. Espectros de absorción UV-Vis de α -CNPVs-CH ₃ , α -CNPVs-OCH ₃ , α -CNPV-H, α -CNPV-Cl, α -CNPV-N(CH ₃) ₂ y α -CNPV-N(Ph) ₂ a una concentración de 50 μ M en THF.....	43
Figura 9. Absortividad molar de los derivados α -CNPVs a $\lambda = 355$ nm.....	44
Figura 10. Reflectancia Difusa de los derivados α -CNPVs.	45
Figura 11. Representación gráfica del método Kubelka-Munk para los derivados α -CNPVs	48
Figura 12. Distribución de energía UPS para α -CNPVs.....	49
Figura 13. Espectros LDI y perfiles isotópicos experimentales de las matrices sintetizadas.....	52
Figura 14. Curva de aparición de iones	54
Figura 15. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Naftopireno.	56
Figura 16. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con 9-10-difenilantraceno.....	57

Figura 17. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Coroneno.	58
Figura 18. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Fullerenos.	59
Figura 19. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con DCTB.	60
Figura 20. Método indirecto de Bracketing para el derivado α -CNPV-CH ₃	62
Figura 21. Espectro de masas MALDI con mezcla de analitos: Antraceno y 9,10-difenilantraceno.	65
Figura 22. Espectro de masas MALDI con mezcla: Antraceno, 9,10-difenilantraceno y porfirina de níquel.	66
Figura 23. Espectros LDI y MALDI de alta resolución, de una fracción de crudo.	68

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema general de la síntesis de α -CNPVs	37
Esquema 2. Mecanismo de reacción para la obtención de sistemas fenilenvinileno	41

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Rendimientos y tiempo de reacción para la obtención de α -CNPVs	40
Tabla 2. Mass Accuracy de los derivados α -CNPVs.	51
Tabla 3. Diferencias entre los potenciales de ionización de los derivados y los analitos modelo.....	56

ANEXOS

ANEXOS	77
ANEXO A: Espectro RMN- ^1H del derivado $\alpha\text{-CNPV-CH}_3$	77
ANEXO B: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV-CH}_3$	78
ANEXO C: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV- OCH}_3$	79
ANEXO D: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV- N(CH}_3)_2$	80
ANEXO E: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV- N(Ph)}_2$	81
ANEXO F: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV- Cl}$	82
ANEXO G: Espectro de infrarrojo del $\alpha\text{-CNPV-H}$	83
ANEXO H: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-CH}_3$	84
ANEXO I: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-OCH}_3$	84
ANEXO J: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-H}$..	85
ANEXO K: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-Cl}$.	85
ANEXO L: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-}$ $\text{N(CH}_3)_2$	86
ANEXO M: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado $\alpha\text{-CNPV-}$ N(Ph)_2	86

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA

<i>Símbolo</i>	<i>Término</i>
Da	Dalton
DCT B	trans-2-[3-(4-tert-Butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene]malononitrile
ET	Transferencia electrónica
eV	Electrón-voltio
FVs	Sistemas Fenilenvinilenos
LDI	Laser Desorption/Ionization
m/z	Relación masa-carga
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization
mL	Mililitros
mM	Milimolar
MS	Mass Spectrometry
Nd:YAG	Láser de Neodymium-doped Yttrium aluminium garnet
nm	Nanómetro
PI	Potencial de Ionización
ppm	Partes por millón
S/N	Relación Señal- Ruido
α-CNPVs	Alfa-Cianofenilenvinilenos
α-CNPV- Cl	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-(4-chlorophenyl)acrylonitrile)
α-CNPVs- H	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-phenylacrylonitrile)
α-CNPVs-CH₃	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-(p-tolyl)acrylonitrile)
α-CNPVs-N(CH₃)₂	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-(4-(dimethylamino)phenyl)acrylonitrile)
α-CNPVs-N(Ph)₂	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-(4-(diphenylamino)phenyl)acrylonitrile)
α-CNPVs-OCH₃	(2Z,2'Z)-2,2'-(1,4-phenylene)bis(3-(4-methoxyphenyl)acrylonitrile)
ϵ	Coeficiente de Absortividad molar
λ	Longitud de onda

RESUMEN

TÍTULO: REACTIVIDAD EN FASE GASEOSA DE α - CIANOFENILENVINILENOS COMO MATRICES MALDI DE TRANSFERENCIA ELECTRÓNICAⁱ.

AUTOR: DAMARIS SULEY GODOY MIRANDAⁱⁱ.

PALABRAS CLAVES: Espectrometría de masas MALDI-TOF, transferencia electrónica, derivados fenilenvinileno, Bracketing.

La espectrometría de masas MALDI es una técnica analítica considerada como el pilar del análisis de macromoléculas (e.g. polímeros, proteínas, ADN, etc), compuestos lábiles y termo-inestables que no pueden ser analizados en medios próticos o de limitada solubilidad. La técnica de MALDI se basa en el uso de compuestos fotoactivos como matrices que absorben eficientemente los fotones de un láser (Nd:YAG 355 nm o N2 337 nm) en el que se encuentra co-cristalizado el analito, en consecuencia, la desorción y posterior ionización conllevan a la obtención de espectros de masas en rangos que alcanzan hasta los 500 kDa.

La transferencia de electrones, poco estudiada a la fecha, se basa en reacciones bimoleculares en la fase gaseosa donde los fenómenos de transferencia de carga de analitos a iones preformados de la matriz o viceversa conllevan a la formación de especies ionizadas en ausencia de H⁺ o metales Na⁺, K⁺, etc. Sin embargo, este tipo de mecanismos están limitados debido al uso de matrices adecuadas, las cuales deben tener unas características fisicoquímicas definidas para su buen desempeño. En el presente trabajo de investigación se estudió el marco termodinámico del proceso de transferencia electrónica analito-matriz en MALDI, utilizando matrices basadas en sistemas ciano-fenilenvinilenos y analitos modelo en mezclas 1:1. Los resultados señalan al α -CNPV-CH₃ como la matriz con mejor desempeño; asimismo, se calculó el potencial de ionización de esta matriz utilizando el método indirecto conocido como *bracketing* con porcentaje de error del 0.95 cuando se comparan con los valores obtenidos por UPS (*Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy*).

ⁱ Proyecto de Grado

ⁱⁱ Facultad de ciencias. Escuela de Química. Director: Marianny Yajaira Combariza Montañez, PhD. Co-director: Juan Sebastián Ramírez Pradilla, M. Sc.

ABSTRACT

TITLE: ELECTRON TRANSFER REACTIVITY IN THE GAS-PHASE OF α -CYANOPHENYLENEVINYLENES AS MATRICES FOR MALDIⁱ

AUTHOR: DAMARIS SULEY GODOY MIRANDAⁱⁱ

KEYWORDS: Mass spectrometry MALDI-TOF, electron transfer, phenylene vinyl derivatives, Bracketing.

MALDI mass spectrometry is an analytical technique considered as the mainstay of the analysis of macromolecules (for example, polymers, proteins, DNA, etc.), labile and thermo-unstable compounds that can not be analysed in protic media or of limited solubility. The principle of MALDI is based on the use of photoactive compounds as matrices that efficiently absorb the photons of a coherent laser (Nd: YAG 355 nm or N2 337 nm) in which the analyte is co-crystallized, consequently, desorption and subsequent ionization leads to the obtaining of mass spectra.

The electron transfer, little studied to date, is based on bimolecular reactions in the gas phase where the phenomena of charge transfer of analytes to preformed ions of the matrix or vice versa lead to the formation of ionized species in the absence of H⁺ or metals Na⁺, K⁺, etc. However, this type of mechanisms are limited due to the use of suitable matrices, which must have defined physicochemical characteristics for their good performance. In the present research work, the thermodynamic framework of the analyte-matrix electronic transfer process was studied in MALDI, using matrices based on cyano-phenylene vinylenes systems and model analytes in 1: 1 mixtures. The results point to α -CNPV-CH₃ as the matrix with the best performance; also, the ionization potential of this matrix was calculated using the indirect method known as *bracketing* with an error rate of 0.95 when compared to the values obtained by UPS (Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy).

ⁱ Degree Project

ⁱⁱ Facultad de ciencias. Escuela de Química. Advisor: Marianny Yajaira Combariza Montañez, PhD. Co-advisor: Juan Sebastián Ramírez Pradilla, M.Sc.

INTRODUCCIÓN

La espectrometría de masas es una técnica de gran interés en el área de la química analítica debido a su utilidad para el análisis composicional y la caracterización estructural de mezclas complejas¹, productos naturales, biomoléculas y fármacos², entre otros. Debido a su versatilidad, derivada de múltiples avances instrumentales, la técnica se destaca por ser rápida, sensible y aplicable a casi cualquier tipo de analito.

A finales de los años 80's, los investigadores Franz Hillenkamp y Michel Karas³ introdujeron la técnica de desorción laser asistida por una matriz, MALDI (por sus siglas en inglés), la cual fue el punto de partida para el análisis de macromoléculas de baja volatilidad como proteínas⁴, polímeros⁵, azúcares⁶, péptidos⁷ y ácidos nucleicos⁸. La técnica MALDI se basa en el uso de una matriz, que comúnmente es un compuesto orgánico con características fisicoquímicas definidas (e.g. absorción UV, potencial de ionización, afinidad protónica, cristalización, entre otras), que se encuentra co-cristalizada con los analitos en una mezcla que se irradia con una fuente de energía láser (frecuentemente de Nd:YAG 355 nm). Los procesos de absorción, excitación, ionización de la matriz conducen a la formación de iones primarios que posteriormente reaccionan, a través de mecanismos de transferencia de protones, cationes y electrones, con los analitos para conferirles

¹ QIAN, K.; *et al.* Measurement of Total Acid Number (TAN) and TAN Boiling Point Distribution in Petroleum Products by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2008, 80 (3), pág.849–855.

² VANDERFORD, B. J.; PEARSON, R. A.; REXING, D. J.; SNYDER, S. A. Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2003, 75 (22), p. 6265–6274.

³ KARAS, M.; BACHMANN, D.; HILLENKAMP, F. Influence of the Wavelength in High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectrometry of Organic Molecules. *Anal. Chem.* 1985, 57 (14), pág.2935–2939.

⁴ KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10,000 Daltons. *Anal. Chem.* 1988, 60 (20), p. 2299–2301.

⁵ TANAKA, K.; *et al.* Protein and Polymer Analyses up to M/z 100 000 by Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1988, 2 (8), p.151–153.

⁶ ROHMER, M.; *et al.* 3-Aminoquinoline Acting As Matrix and Derivatizing Agent for Maldi Ms Analysis of Oligosaccharides. *Anal. Chem.* 2010, 82 (9), p. 3719–3726.

⁷ CHAURAND, P.; LUETZENKIRCHEN, F.; SPENGLER, B. Peptide and Protein Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI) and MALDI-Post-Source Decay Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1999, 10 (2), p. 91–103.

⁸ FITZGERALD, M. C.; SMITH, L. M. Nucleic Acids: The Promise of Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization (MALDI) Mass Spectrometry. *Instrumentation* 1995, 24, p.40–117.

carga. El proceso de transferencia electrónica es uno de los menos explorados en MALDI. La transferencia de electrones (ET) en MALDI-MS, fue introducida por Costello et al.⁹ con el uso del 9-nitroantraceno como matriz para la caracterización de rutenocenos. Desde entonces, matrices como antraceno, 9-Nitroantraceno¹⁰, 1,4-Benzoquinona¹¹, Ditranol¹², DCTB¹³, entre otras, han sido empleadas para la caracterización de compuestos derivados de fullerenos, complejos organometálicos, polímeros electrónicos, pigmentos, clorofilas y porfirinas mediante la formación de cationes/aniones radicales de moléculas intactas.

Los procesos de ionización por ET en MALDI son complejos y dependen de las características fisicoquímicas de la matriz y de los analitos. Consecuentemente, el conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de la matriz y los analitos, así como de su reactividad en el marco termodinámico, son fundamentales para el desarrollo de aplicaciones basadas en ET.

Recientemente el Grupo de Investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental GIFTEX-UIS reportó la síntesis de un conjunto de matrices basadas en el núcleo de FV y su uso como matrices de ET de excelente desempeño cuando se comparan con matrices comerciales como el DCTB, TPB, 9-nitroantraceno, entre otras^{14,15}. La caracterización fisicoquímica de estos materiales es de fundamental importancia para determinar su función y sus aplicaciones. Por esta razón en este trabajo de investigación se estudió la reactividad en fase gaseosa de una serie de

⁹ JUHASZ, P.; COSTELLO, C. E. Generation of Large Radical Ions from Oligometallocenes by Matrix-assisted Laser Desorption Ionization. *Rapid Commun. mass ...* 1993, 7 (March), p.343–351.

¹⁰ MACHA, S. F.; MCCARLEY, T. D.; LIMBACH, P. A. Influence of Ionization Energy on Charge-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 1999, 397 (1–3), p.235–245.

¹¹ SRINIVASA, N.; et al. Investigation of MALDI TOF Mass Spectrometry of Diverse Synthetic Metalloporphyrins, Phthalocyanines and Multiporphyrin Arrays. *J. Porphyr. Phthalocyanines* 1999, 3, p.283-291.

¹² BELU, A. M.; et al. Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry for Polymer Characterization. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1996, 7 (1), p.11–24.

¹³ ULMER, L.; et al. Letter: The Use of 2-[(2E)-3-(4-Tert-Butylphenyl)-2- Methylprop-2-Enylidene]malononitrile as a Matrix for Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Eur. J. Mass Spectrom.* 2000, 6 (1), p. 49.

¹⁴ CRISTANCHO GONZÁLEZ, L. M. *Diseño Racional Y Síntesis de Nuevas Matrices MALDI de Transferencia Electrónica Basada En 2,7-Dibromofluoreno*; 2016.

¹⁵ ROSALES SOLANO, H. F. A. *Ensayo de Compuestos Con Núcleo de Fenilenvinileno Como Matrices MALDI*; 2013.

derivados de α -CNPVs con uso potencial como matrices de ET en MALDI. La reactividad se determinó mediante reacciones bimoleculares en mezclas 1:1 matriz: analito-modelo utilizando el método de *bracketing*.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el marco termodinámico de los procesos de ionización secundaria de transferencia electrónica empleando matrices basadas en α -cianofenilenvinileno

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la síntesis de α -cianofenilenvinilenos (α -CNPVs) a partir de reacciones tipo Knoevenagel
- Caracterizar espectroscópicamente las matrices basadas en α -cianofenilenvinileno mediante espectroscopía UV-Vis en líquido y sólido y UPS (ultraviolet photoelectron spectroscopy)
- Aplicar el método de *Bracketing* para estudiar el comportamiento de las matrices durante los procesos de ionización por transferencia electrónica
- Establecer la matriz de mejor respuesta durante la transferencia electrónica para su aplicación en procesos de ionización selectiva en mezclas complejas

2. MARCO TEÓRICO

2.1 TÉCNICA DE IONIZACIÓN /DESORCIÓN LÁSER ASISTIDA POR MATRIZ (MALDI)

La ionización/ desorción de láser (LDI, por sus siglas en inglés), introducida en los años 60s del siglo pasado¹⁶, permitía realizar análisis de moléculas orgánicas estables, de bajo peso molecular con la capacidad de absorber radiación láser incidente¹⁷. Sin embargo, los análisis de moléculas complejas –particularmente biomoléculas- con pesos moleculares por encima de 2000 Da eran imposibles. Dos décadas después, en los 80's, los investigadores Michael Karas y Franz Hillenkamp, reportaron el uso de moléculas orgánicas volátiles de bajo peso molecular como “matrices” capaces de absorber radiación electromagnética coherente (láser) para promover la desorción e ionización de macromoléculas¹⁸. Simultáneamente, Koichi Tanaka reportó el uso de polvo fino de cobalto para el análisis de polímeros y proteínas por encima de los 100 kDa¹⁹. Estos avances llevaron al desarrollo de la técnica de ionización/desorción láser asistida por una matriz, comúnmente conocida como MALDI.

En la mayoría de los casos, la matriz empleada en MALDI está constituida por un compuesto orgánico con capacidad de absorber fotones provenientes de la fuente de radiación usada (láser UV/IR). Esta matriz contribuye tanto a la dispersión de las moléculas del analito con el que se co-cristaliza, como a la absorción de fotones para producir, por medio de reacciones fotoquímicas, iones secundarios del analito como resultado de procesos de transferencia de carga entre un neutral (analito) y un ión primario de la matriz (este proceso para ionización en modo positivo).

¹⁶ CALVANO, C. D.; *et al.* Electron-Transfer Secondary Reaction Matrices for MALDI MS Analysis of Bacteriochlorophyll a in Rhodobacter Sphaeroides and Its Zinc and Copper Analogue Pigments. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2017, 28 (1), p.125–135.

¹⁷ VASTOLA, F. J.; MUMMA, R. O.; PIRONE, A. J., Analysis of Organic Salts by Laser Ionization. *Org. Mass Spectrom.* 1970, 3 (1), p. 101–104.

¹⁸ KARAS, M.; BACHMANN, D.; HILLENKAMP, Op. Cit. p. 2936.

¹⁹ TANAKA, K.; *et al.* Op. Cit. p.152.

2.2. PROCESOS DE FORMACIÓN DE IONES EN MALDI

2.2.1 Formación primaria de iones: El mecanismo de formación de iones en MALDI ha sido objeto de estudios extensos debido a su complejidad y a los diferentes procesos involucrados²⁰. Generalmente, se considera que la formación de iones es un proceso de dos etapas consecutivas; la primera consiste en una combinación de absorción y acumulación de energía por parte de la red cristalina de la matriz, mediante la formación de excitones, para eventualmente formar iones primarios. En la segunda etapa ocurren reacciones ion-molécula entre los iones primarios de la matriz y las moléculas neutras del analito para formar iones secundarios.^{21,22}

En la primera etapa, durante los primeros nanosegundos del proceso, las moléculas de la matriz absorben energía y la liberan en forma radiativa y no radiativa. El relajamiento radiativo contribuye al proceso de “pooling” de energía – responsable de la ionización primaria de la matriz- mientras que la relajación no radiativa causa expansión de la red cristalina y ablación del material, tal como se postula en el modelo CPCD (*Coupled Physical and Chemical Dynamics*) introducido por Richard Knochenmuss.^{23,24,25,26} En MALDI una hipótesis razonable para la ionización primaria sería que la matriz pueda absorber secuencialmente 2 fotones, pero los potenciales de ionización de las matrices en MALDI están en el rango de 7 a 9 eV (muy por encima de la energía de 2 fotones), por tanto para una ionización eficaz serían necesarios 3 fotones. Ahora bien, la potencia máxima de los láseres utilizados es demasiado baja para una absorción directa significativa

²⁰ GROSS, J. H. *Mass Spectrometry*; 2000; Vol. 16.

²¹ KARAS, M.; KRÜGER, R. Ion Formation in MALDI: The Cluster Ionization Mechanism. *Chem. Rev.* 2003, 103 (2), p. 427–439.

²² STUTZMAN, J. R.; MCLUCKEY, S. A. Ion/ion Reactions of MALDI-Derived Peptide Ions: Increased Sequence Coverage via Covalent and Electrostatic Modification upon Charge Inversion. *Anal. Chem.* 2012, 84 (24), p. 10679–10685.

²³ FUCHS, B.; SÜß, R.; SCHILLER, J. An Update of MALDI-TOF Mass Spectrometry in Lipid Research. *Prog. Lipid Res.* 2010, 49 (4), p.450–475.

²⁴ KNOCHENMUSS, R.; ZENOBI R. MALDI Ionization: The Role of in-Plume Processes. *Chem. Rev.* 2003, 103 (2), p.441–452.

²⁵ KNOCHENMUSS, R., Ion Formation Mechanisms in UV-MALDI, *Analyst* 2006,131 (9), p.966–986.

²⁶ KNOCHENMUSS, R. MALDI Mechanisms: Wavelength and Matrix Dependence of the Coupled Photophysical and Chemical Dynamics Model. *Analyst* 2014, 139 (1), p.147–156.

de 3 fotones, adicionalmente el proceso muy poco plausible desde el punto de vista probabilístico. Existe consenso, entre la comunidad MALDI, que la cantidad de energía necesaria para ionización primaria se puede concentrar en una molécula mediante dos eventos de agrupación secuencial o *pooling*. Este proceso es posible gracias a la capacidad de formación de excitones de las matrices MALDI²⁷. La acumulación de energía puede ocurrir cuando dos moléculas vecinas están lo suficientemente cerca para que sus estados electrónicos interactúen. En las matrices MALDI, esto implica el contacto de los sistemas aromáticos ricos en electrones π de las moléculas ordenadas apiladas en el sólido. Los vecinos excitados pueden concentrar energía en una molécula, obteniendo la misma energía total que la excitación deslocalizada original. (Ver figura 1) La vida útil del estado electrónico excitado de la matriz S_1 es crítica para UV-MALDI, pues la ionización resulta de la combinación de excitones y saltos²⁸.

Los iones primarios tienen muchas oportunidades de reaccionar con moléculas neutras, iones y contraiones, para formar nuevos iones, en procesos de ionización secundarios que corresponden a la segunda etapa del modelo de ionización.

²⁷ KNOCHENMUSS, R. The Coupled Physical and Chemical Dynamics Model of MALDI. 2016, No. March, p. 1–21.

²⁸Ibíd., p.3-4.

FORMACIÓN DE IONES EN ET-MALDI

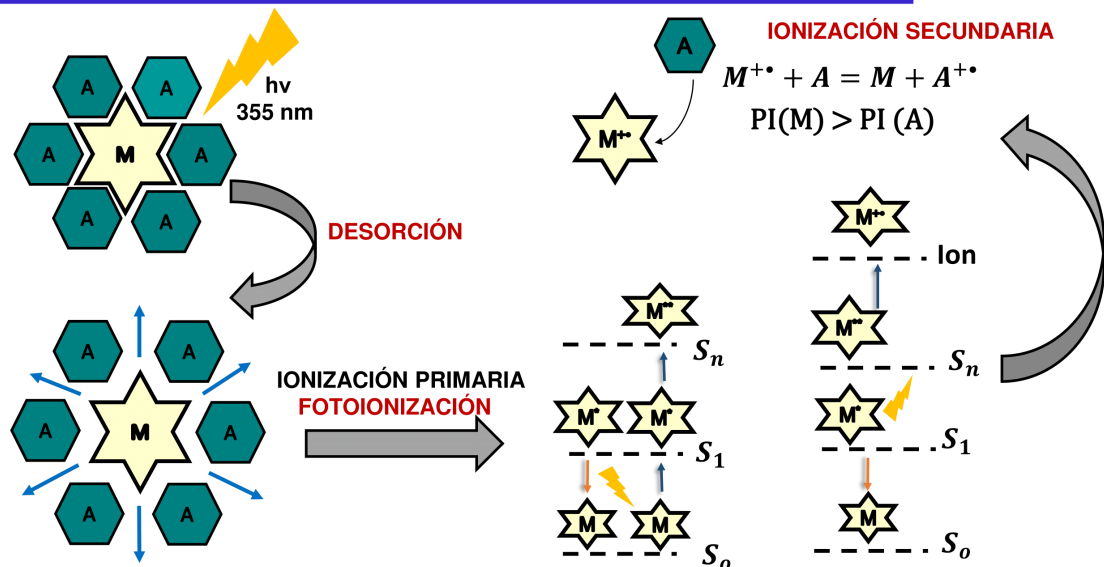


Figura 1. Mecanismo de Pooling- Ionización de la matriz.^{29,30} y ionización secundaria (transferencia electrónica) donde M: Matriz y A: analito

2.2.2 Transferencia electrónica: El desarrollo inicial de MALDI se centró en procesos de transferencia protónica y catiónica y poco o casi nada se sabía acerca de la transferencia electrónica, y de sus aplicaciones en el estudio de moléculas altamente conjugadas o analitos que simplemente carecen de sitios protonables en su estructura. Fue entonces cuando Juhaz & Costello³¹, en 1993 reportaron el análisis MALDI de oligocenos no polares que contienen en sus unidades de repetición ferroceno, ferrocenilnaftaleno y rutenocenilnaftaleno, empleando como matrices MALDI moléculas con alta absortividad UV como ditranol, 9-nitroantraceno y quinizarina.

²⁹ KNOCHENMUSS, R.; ZENOBI R, Op.Cit. p.441–452.

³⁰ CASTELLANOS-GARCÍA, L. J.; *et al.*, Y. Oligo P-Phenylenevinylene Derivatives as Electron Transfer Matrices for UV-MALDI. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2017, 28 (12), p. 2548–2560.

³¹ JUHASZ, P.; COSTELLO, C. E. Op. Cit., p. 343–351.

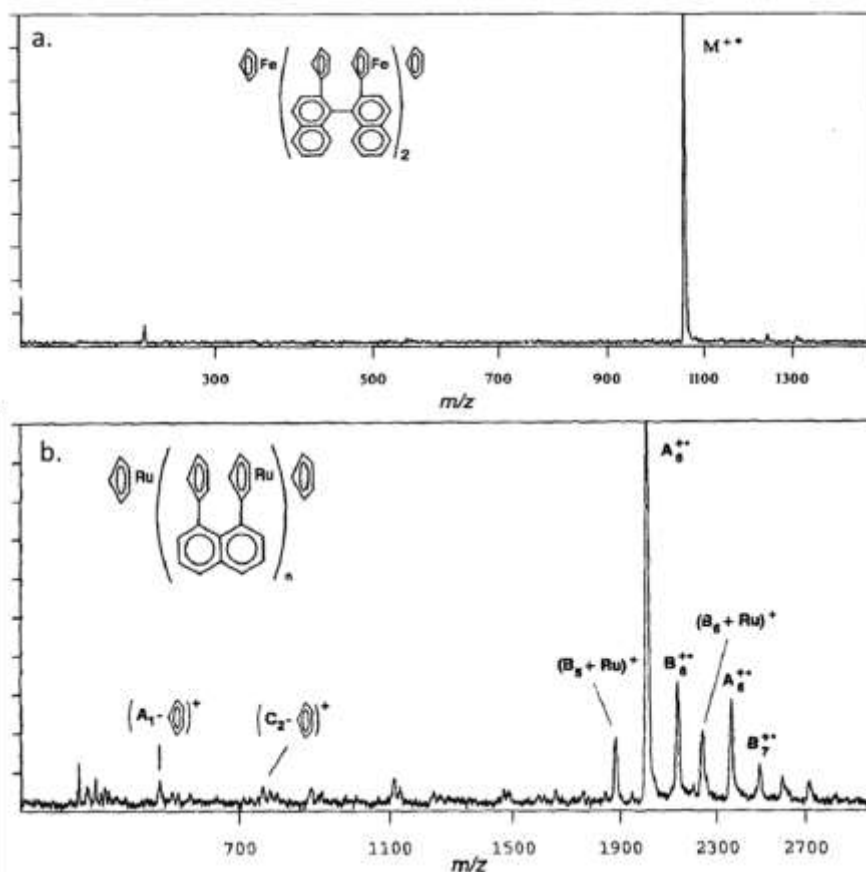


Figura 2. Espectros de masas MALDI donde se exhiben los iones-radicales de los diferentes oligometalocenos: a) Espectro del dímero ferroceno, matriz:ditranol. b) Espectro del hexarutenoceno, matriz: 9-nitroantraceno. Fuente: Juhaz & Costello³².

En estos experimentos se compararon los espectros de los oligometalocenos con las diferentes matrices, como se puede observar en las Figuras 2 y 3, en donde las señales principales corresponden a los iones moleculares (cationes radicales). En la Figura 2a se observa el dímero de ferroceno en m/z 1058.71 correspondiente al catión-radical con fórmula $C_{70}H_{50}Fe_3$. Mientras el espectro en la Figura 2b muestra diferentes especies correspondientes a cationes-radicales intactos utilizando la matriz 9-nitroantraceno; las letras A,B y C indican diferentes sustituyentes. En la Figura 3 se presentan los espectros de polímeros de ferroceno

³² Ibid., p.345–347.

mostrando la distribución de pesos moleculares utilizando como matrices MALDI 9-nitroantraceno y quinizarina (Figura 3^a y 3b, respectivamente).

Estos análisis demostraron que es posible ver iones-radicales intactos en un rango de masas de 1kDa-13k Da. Costello et al. también propusieron un mecanismo probable de ionización para la formación de iones radicales de los analitos que involucra una reacción de intercambio de carga entre un ion precursor de la matriz (probablemente un cation radical) y el analito en fase gaseosa. Fue entonces cuando McCarley et al.³³ reportaron el primer estudio de reacciones de transferencia electrónica en MALDI, utilizando tertiofeno y antraceno como matrices para analizar metalocenos, se reportaron señales predominantes correspondientes a cationes radicales.

³³ MCCARLEY, T. D.; MCCARLEY, R. L.; LIMBACH, P. A. Electron-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 1998, 70 (20), p. 4376–4379.

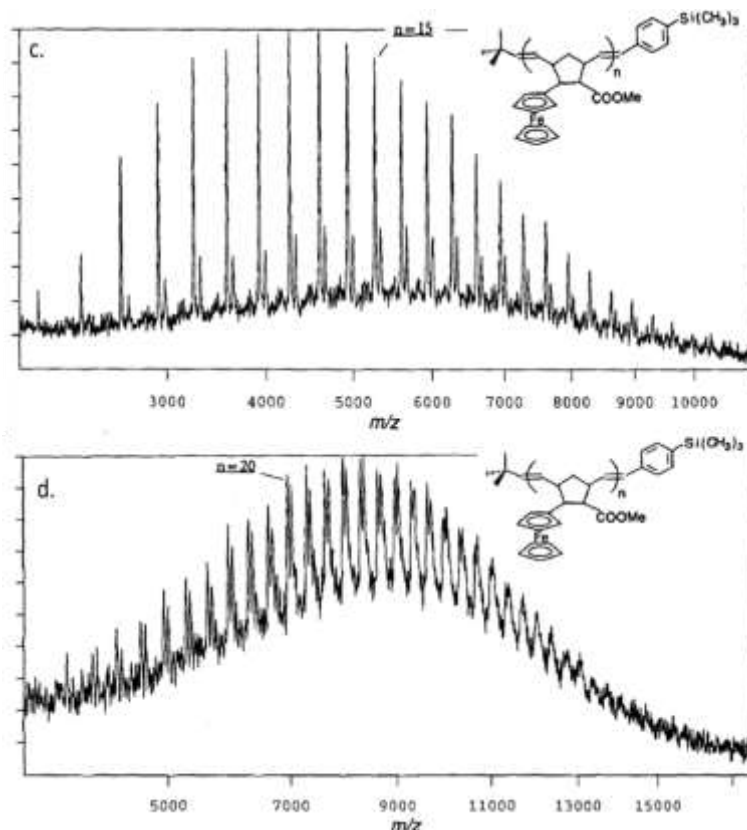


Figura 3. Espectros de masa MALDI de los diferentes polímeros: c) FC15, matriz: 9-nitroantraceno. d) FC30, matriz: quinizarina*. Fuente: Juhász & Costello³⁴

El d-10 antraceno fue utilizado para comprobar la aparición de iones por medio de la transferencia electrónica y no de la transferencia protónica. Así mismo, McCarley et al. sugieren que, cuando se usan matrices y analitos que no pueden experimentar reacciones de transferencia de protones, las reacciones entre los cationes radicales de matriz y los analitos neutros pueden resultar en procesos de transferencia de electrones, que finalizan con la producción de cationes radicales del analito.

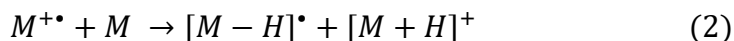


³⁴ JUHASZ, P.; COSTELLO, C. E. Op.Cit., p.343–351.

Para que esta transferencia sea posible es necesario que el potencial de ionización del analito sea menor que el potencial de ionización de la matriz, de acuerdo con la ecuación (1); bajo estas condiciones habrá migración de carga hacia la especie termodinámicamente más favorable, en este caso el analito.

Más tarde, el DCTB, introducido por Ulmer et al.³⁵ se convierte en una de las matrices más utilizadas para el proceso de transferencia electrónica. Esta molécula, no prótica, fue inicialmente utilizada en el estudio de derivados de fullerenos para los cuales se observaron cationes y aniones radicales. Recientemente, en el grupo de investigación en fisicoquímica teórica y experimental, GIFTEX de la UIS, se han reportado matrices basadas en fenilenvinileno como alternativa para el análisis por transferencia electrónica. Por ejemplo, Castellanos y col.³⁶ utilizaron dichas matrices para el análisis de porfirinas, ftalocianinas y compuestos aromáticos.

2.2.3 Transferencia protónica: La transferencia protónica es probablemente la reacción secundaria más importante en MALDI, pues muchas clases de analitos (especialmente biomoléculas como proteínas y péptidos) se detectan en forma protonada. Karas et al.³⁷ reportó que las moléculas protonadas del analito $[A + H]^+$ pueden formarse de la siguiente manera: primero ocurre una reacción ion catión-radical de la matriz con una molécula neutra de la misma matriz según la ecuación 2, posteriormente el ion protonado de la matriz reacciona con una molécula neutra del analito según la ecuación 3.



Adicionalmente, es fundamental que la afinidad protónica del analito sea mayor que la afinidad protónica de la matriz (ecuación 3).



³⁵ ULMER, L.; MATTAY, J.; TORRES-GARCIA, H.; LUFTMANN, H. Letter: The Use of 2-[(2E)-3-(4-Tert-Butylphenyl)-2-Methylprop-2-Enylidene]malononitrile as a Matrix for Matrix-Assisted Laser Desorption/ionization Mass Spectrometry. *Eur. J. Mass Spectrom.* 2000, 6 (1), p.49.

³⁶ CASTELLANOS-GARCÍA, L. J.; *et al.*, Op.Cit. p.2548–2560.

³⁷ EHRING, H.; KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Role of Photoionization and Photochemistry in Ionization Processes of Organic Molecules and Relevance for Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. *Org. Mass Spectrom.* 1992, 27(4), p.472–480.

2.2.4 Abstracción protónica: En los procesos de ionización por MALDI también es posible formar aniones radicales (modo negativo) gracias a la sustracción de protones del analito en el caso de matrices básicas (ecuación 4).



MALDI en modo negativo se utiliza para el análisis de analitos con elevado carácter ácido y cuyos grupos funcionales presentes fácilmente estabilicen el anión formado³⁸. Un ejemplo de estos analitos son los compuestos poliinsaturados, polisacáridos, fosfolípidos, ácidos orgánicos y oligonucleótidos. Además también es posible observar otras especies negativas mediante reacciones de deprotonación matriz-analito como se observa en la figura 4³⁹, donde M es el analito, T: matriz, Cat: catión, Me: metal y B: base.

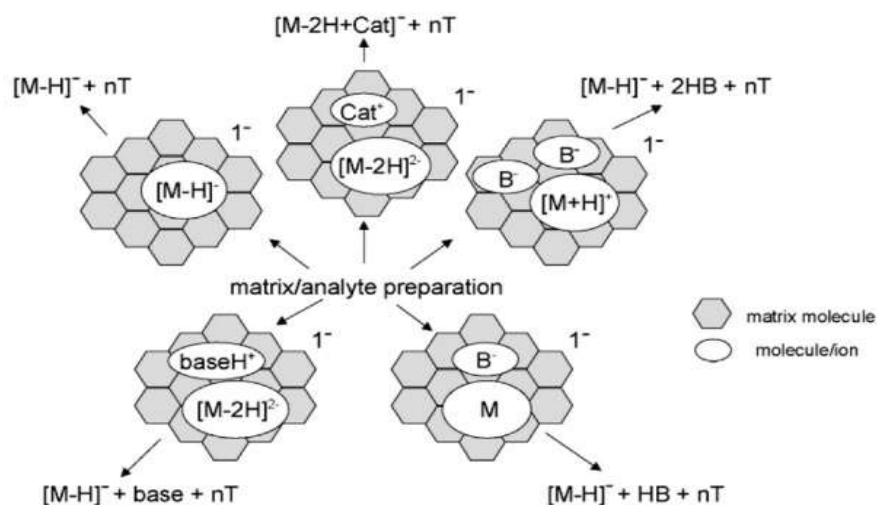


Figura 4. Vías de formación de moléculas deprotonadas del analito en MALDI mono negativo. **Fuente:** Gross, J. H. *Mass Spectrometry*; 2000; Vol. 16, 537.

³⁸ KARAS, M.; KRÜGER, R., *Op.Cit.*, p. 427–439.

³⁹ ROSS, J. H. *Mass Spectrometry*, *Op.Cit.*

2.3 MATRICES MALDI

Las matrices MALDI son generalmente sólidos orgánicos cristalinos, estables bajo condiciones de vacío (1×10^{-9} bar) y con capacidad de absorber fotones en la longitud de onda de emisión del láser. Estos compuestos típicamente tienen en su estructura núcleos aromáticos con alta conjugación, con el fin de aumentar la eficiencia de producción de iones primarios,⁴⁰ asimismo es necesario que las matrices cristalicen homogéneamente para evitar puntos dulces y lograr espectros reproducibles con buenas relaciones S/N.

La primera matriz UV-MALDI empleada con éxito en el análisis de péptidos y proteínas fue el ácido nicotínico (NA)⁴¹, y posteriormente se introdujeron el ácido cinámico, el dihidroxibenzóico y muchos otros que se utilizan rutinariamente para el análisis de biomoléculas. Con relación a matrices que promuevan el proceso de ET, existen algunos reportes como por ejemplo: Macha et al.⁴², que utilizaron matrices no-polares como tertiofeno, antraceno, pireno, para estudiar analitos no polares y encontraron que la formación del ion molecular (catión radical) depende de la diferencia en los potenciales de ionización entre la matriz y el analito. Además, demostraron que la transferencia electrónica es viable para la caracterización de analitos polares, no polares, y dendrímeros funcionalizados. Más adelante, Nazim et al.⁴³ utilizaron 9-10-difenilantraceno como matriz de transferencia electrónica para el análisis de *clorofila a* y retinol, con un alto rendimiento en los procesos de ionización, aunque dicha matriz sólo se emplea cuando los analitos tienen potenciales de ionización inferiores a 7.0 eV. El DCTB es la matriz ET más utilizada⁴⁴, sin embargo tiene desventajas como la formación de agregados “clusters”, alta reactividad con analitos que contengan grupos

⁴⁰ OVERBERG, A.; KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Matrix-Assisted Laser Desorption of Large Biomolecules with a TEA-CO₂-Laser. 1991, 5 (3), p. 128–131.

⁴¹ KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Op.Cit. p.2299–2301.

⁴² MACHA, S. F.; MCCARLEY, T. D.; LIMBACH, P. A. Op.Cit.,p. 235–245.

⁴³ NAZIM BOUTAGHOU, M.; COLE, R. B. 9,10-Diphenylanthracene as a Matrix for MALDI-MS Electron Transfer Secondary Reactions. *J. Mass Spectrom.* 2012, 47 (8), 995–1003.

⁴⁴ ULMER, L.; MATTAY, J.; TORRES-GARCIA, H.; LUFTMANN, H. Letter: Op.Cit., p.49.

amino, y baja estabilidad en condiciones de alto vacío. La Figura 5 muestra las estructuras de las matrices ET de uso más común en MALDI.

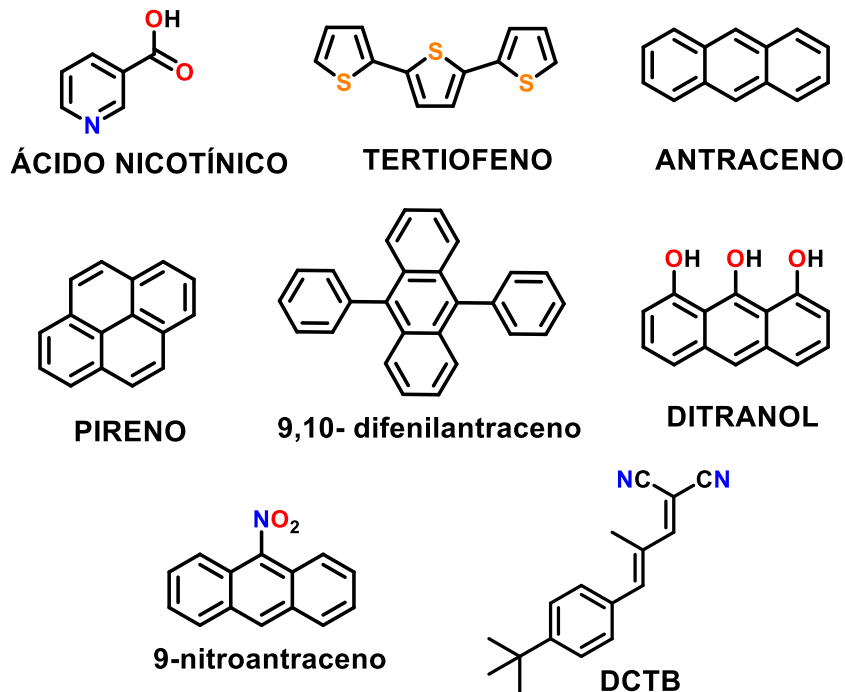


Figura 5. Estructura de moléculas empleadas como matrices MALDI de transferencia electrónica.

2.4 SISTEMAS FENILENVINILENO

Los sistemas fenilenvinilenos (FVs) poseen una estructura planar altamente conjugada que puede ser alterada, mediante la adición de sustituyentes⁴⁵. Los FVs son moléculas muy versátiles que se utilizan en el campo de la electrónica orgánica debido a sus propiedades fotoluminiscentes. Numerosos estudios sustentan las propiedades fotofísicas de estos compuestos. Por ejemplo, Amrutha

⁴⁵ CASTRO AGUDELO, B. A.; SIERRA AVILA, C. A. *Op.Cit.*

y Jayakannan⁴⁶ investigaron la agregación molecular en Fvs mediante el apilamiento π para mejorar las propiedades de fotoluminiscencia, y comprobaron que la configuración estructural juega un papel importante en la intensidad de luminiscencia en estado sólido. Además, estudiaron la capacidad de los sistemas FVs para someterse a procesos de transferencia de carga fotoinducidos. Hanack et al.⁴⁷ reportó la influencia sobre los espectros de absorción y fluorescencia debido a la sustitución del grupo ciano en los FV y el cambio en electroluminiscencia. Asimismo, Pond et al.⁴⁸ analizó el efecto que tiene CNPVs en las propiedades optoelectrónicas produciendo una fluorescencia débil, bajo rendimiento cuántico y exhibiéndose como colectoras de fotones. También Castellanos et al.⁴⁹ investigaron una serie de oligómeros de FVs con potencial para ser utilizados como matrices MALDI en el análisis de complejos metálicos y aromáticos.

2.5 ESPECTROSCOPIA FOTOELECTRÓNICA ULTRAVIOLETA (UPS) Y BRACKETING

La espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS, por sus siglas en inglés) se basa en el estudio de curvas de distribución de energía de los electrones emitidos por una superficie cuando ha sido irradiada por fotones de energía bien definida, al utilizarse energías del fotón menores a 40 eV, típicamente de 21.2 eV los niveles de valencia son accesibles.

En principio, una fuente de luz (lámpara de Helio I con λ 58,43 nm y energía de fotón de 21.22 eV) se hace incidir sobre la muestra, los electrones emitidos por el efecto fotoeléctrico, que provienen de la banda de valencia con energía E_B , se

⁴⁶ AMRUTHA, S. R.; JAYAKANNAN, M. Probing the π -Stacking Induced Molecular Aggregation in π -Conjugated Polymers, Oligomers, and Their Blends of P-Phenylenevinylenes. *J. Phys. Chem. B* 2008, *112* (4), p.1119–1129.

⁴⁷ SCHWEIKART, K. Influence of the Cyano-Group on the Optical Properties of Oligomeric. 2002, *417*, p. 26–31.

⁴⁸ POND, S. J. K.; *et al.*, One- and Two-Photon Spectroscopy of Donor-Acceptor-Donor Distyrylbenzene Derivatives: Effect of Cyano Substitution and Distortion from Planarity. *J. Phys. Chem. A* 2002, *106* (47), p. 11470–11480.

⁴⁹ CASTELLANOS-GARCÍA, L. J.; *et al.*, Op.Cit., p.2548–2560.

analizan con respecto a su energía cinética E_k y el momento P (vector de onda P/h) en un analizador electrostático. En un experimento de UPS la energía cinética es igual a:

$$E_k = h\nu - e\phi - E_B$$

Donde ϕ es la función de trabajo, esta se puede obtener directamente a partir de las curvas de distribución de energía. La máxima energía cinética de los fotoelectrones vendrá dada por $(h\nu - e\phi)$, donde $h\nu$ es la energía del fotón y $e\phi$ la función de trabajo de la muestra⁵⁰.

Para la interpretación de los experimentos, el llamado modelo de tres pasos ha demostrado ser extremadamente útil (Figura 6). En el modelo de tres pasos, el experimento se divide en tres procesos distintos e independientes. En el primer paso se produce la fotoionización; localmente el fotón es absorbido y un electrón es excitado. En el segundo paso, este electrón viaja a través de la muestra hacia la superficie. Finalmente, en el tercer paso, el electrón se escapa a través de la superficie hacia el vacío donde se detecta. Esta separación de etapas es algo artificial y, en principio, todo el proceso de fotoexcitación, viaje y escape a través de la superficie se debe tratar como un paso.

Como ya se mencionó anteriormente, UPS permite calcular el potencial de ionización de las moléculas, pero, ¿qué pasa cuando no contamos con dicha técnica a la mano? Algunos estudios realizados por Bach y colaboradores⁵¹ permitieron calcular los potenciales de ionización de moléculas que contienen 6 a 24 átomos, al observar la ocurrencia o no ocurrencia de las reacciones de transferencia de carga con moléculas neutras de potencial de ionización conocido. El método, es una adaptación del método cinético de Cooks, y se conoce con el nombre de “*Bracketing*”. Utilizando el *Bracketing* es posible hacer una correlación

⁵⁰ HÜFNER, S. *Photoelectron Spectroscopy Principles and Applications*, 3rd ed.; Springer Berlin Heidelberg: Alemania, 1935.

⁵¹ BACH, S. B. H.; EYLER, J. R. Determination of Carbon Cluster Ionization Potentials via Charge Transfer Reactions. *J. Chem. Phys.* 1990, 92 (1), p. 358–363.

lineal entre el logaritmo natural de las abundancias relativas de los analitos de referencia sobre las abundancias relativas del analito desconocido en función de los potenciales de ionización de los analitos de referencia, para así, al extrapolar los valores en el eje x de la función lineal, obtener el potencial de ionización desconocido del analito.

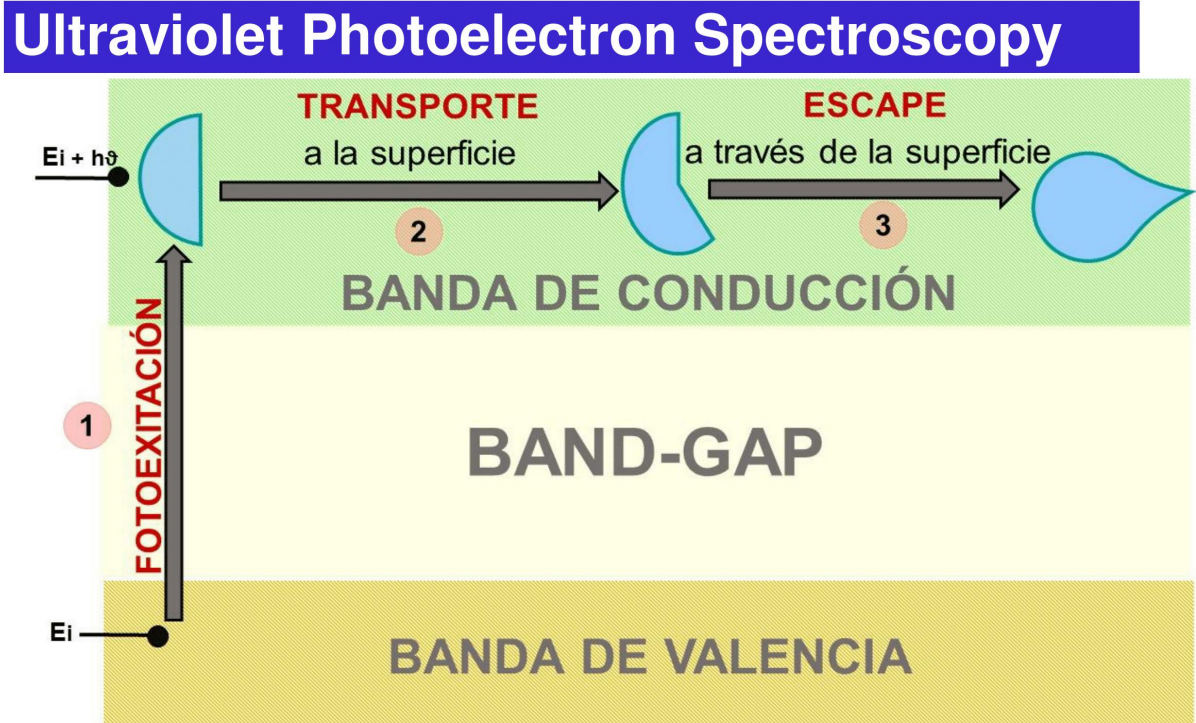


Figura 6. Modelo de tres pasos para UPS. **Fuente:** modificado de Hüfner, S. Photoelectron Spectroscopy Principles and Applications, 3rd ed.; Springer Berlin Heidelberg: Alemania, 1935.

3. METODOLOGÍA

Este trabajo de investigación tiene como fin el estudio de sistemas α -CNPVs como nuevas matrices MALDI y la determinación de su reactividad en fase gaseosa. En la primera etapa, se realizó la síntesis de los α -cianofenilenvinilenos (α -CNPVs) por medio de la condensación de Knoevenagel y los derivados obtenidos se caracterizaron por las técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN) e Infrarrojo (IR). Seguidamente se realizó el estudio de las propiedades de absorción de fotones de estos materiales, mediante espectroscopia UV-Vis y UV en estado sólido, y finalmente, se estudió su reactividad en fase gaseosa por medio del método de *Bracketing* usando una serie de analitos de referencia.

3.1 SÍNTESIS DE α -CIANOFENILENVINILENOS

Para la obtención de α -cianofenilenvinilenos (α -CNPVs) se realizó una síntesis en 4 etapas⁵². Los disolventes empleados en la síntesis son de origen comercial y no se sometieron a tratamiento previo, a continuación, se describe el proceso:

3.1.1 Síntesis de precursores

3.1.1.1 Obtención de 1,4-fenilendimetanol: En la primera etapa se realizó una reducción a partir de una solución de tereftaldehído (20 mmol) en 100 mL de metanol con borohidruro de sodio (50 mmol), este fue añadido en pequeñas porciones durante un periodo de 1 hora con agitación y a temperatura ambiente. El proceso de reacción fue monitoreado por cromatografía de capa delgada TLC usando una mezcla DCM: MeOH 10:1 como eluyente, una vez se consume todo el tereftaldehído, el compuesto resultante fue sujeto a extracción con diclorometano,

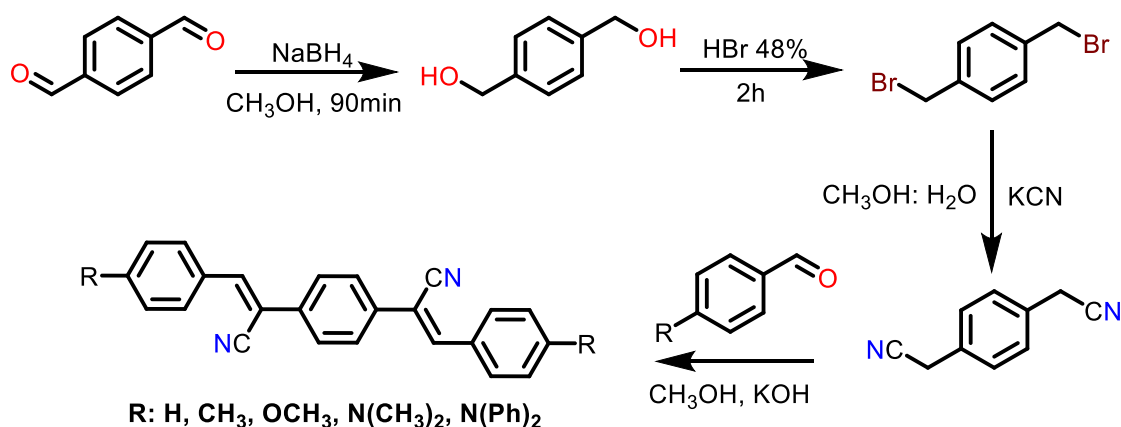
⁵² HÜFNER, S. *Photoelectron Spectroscopy Principles and Applications*, 3rd ed.; Springer Berlin Heidelberg: Alemania, 1935.

posteriormente la fase orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio y evaporado bajo presión reducida, obteniendo agujas blancas de 1,4-fenilendimetanol.

3.1.1.2 Obtención de 1,4-bis(bromometil)benceno: En la segunda etapa, el 1,4-fenilendimetanol fue tratado directamente con una solución de ácido bromhídrico al 48% (10 mL) y agitado vigorosamente por 2 horas a 40 °C, la mezcla de reacción se volvió transparente durante los primeros 10 minutos y luego se precipitó un sólido blanco, posteriormente la mezcla fue tratada con agua fría y filtrada lavando en repetidas ocasiones con una mezcla de agua:MeOH en frío.

3.1.1.3 Obtención de 2,2'-(1,4-fenileno) diacetonitrilo: En la tercera etapa a una solución de 1,4-bis(bromometil)benceno (14mmol) en 40 mL de metanol y 20 mL de agua se adicionó cianuro de potasio (36mmol) en pequeñas porciones y luego se llevó a reflujo durante 2 horas. El proceso de reacción fue monitoreado por TLC usando DCM como eluyente, una vez finalizada la reacción, se realizó la extracción de la solución resultante con diclorometano, la fase orgánica se redujo a presión obteniendo un aceite transparente, por último, el 2,2'-(1,4-fenileno) diacetonitrilo fue purificado en mediante cromatografía *flash* utilizando diclorometano como fase móvil.

3.1.2 Síntesis de α -cianofenilenvinilenos: La cuarta etapa de síntesis consiste en la condensación de Knoevenagel en la cual se trató con cantidades equimolares una solución de 2,2'-(1,4-fenileno) diacetonitrilo y el correspondiente aldehído en 80 mL de metanol, luego se adicionó el hidróxido de potasio como base (1,5 equivalente) y se dejó en agitación y a temperatura ambiente por 3 horas. Los α -CNPVs correspondientes fueron purificados por cromatografía flash utilizando una mezcla DCM: HEPTANO 70:30 como fase móvil.



Esquema 1. Esquema general de la síntesis de α -CNPVs

3.1.3 Caracterización estructural de α -cianofenilvinilenos: Los análisis de espectroscopia de infrarroja se realizaron en un espectrofotómetro FT-IR bruker tensor 27, y para los análisis de RMN se utilizó un espectrómetro Bruker TopSpin 400 MHz utilizando dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) a una temperatura de 80°C debido a que los derivados α -CNPVs son parcialmente solubles en dicho solvente.

3.2 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

3.2.1 Caracterización UV-vis: La caracterización empleando la técnica de ultravioleta visible, se realizó en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis, el barrido espectral en la región entre 270-600 nm se realizó a velocidad de escaneo media y slit de 1 nm, se empleó una celda de cuarzo de camino óptico de 1 cm y una solución de 50 μ M en THF para cada uno de los α -CNPVs. La ecuación de Beer-Lambert permite obtener los valores del coeficiente de absortividad molar a 355 nm (longitud de onda de fotones emitidos por láser Nd:YAG), para ello se realizó una curva de calibración con diferentes diluciones de 5,10,15,20,25 y 30 μ M.

3.2.2 Caracterización por reflectancia difusa: Los espectros de UV-vis de reflectancia difusa se midieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2401PC con el fin de observar el comportamiento en la absorción y obtener información sobre la energía del excitón en estado sólido de los compuestos sintetizados, ya que estas condiciones permiten una aproximación a las condiciones operacionales del equipo en MALDI.

Para la obtención de los espectros, se utilizó el sulfato de bario (BaSO_4) como blanco con un rango espectral de 200 nm a 900 nm y *slit* de 1.0 nm, posteriormente se realizó un fondo de 500 mg de sulfato de bario (BaSO_4) con el cual se preparó la pastilla y luego, se colocaron en el centro del portamuestras 5 mg de cada matriz, en la capa realizada previamente, tal como se observa en la Figura 7.

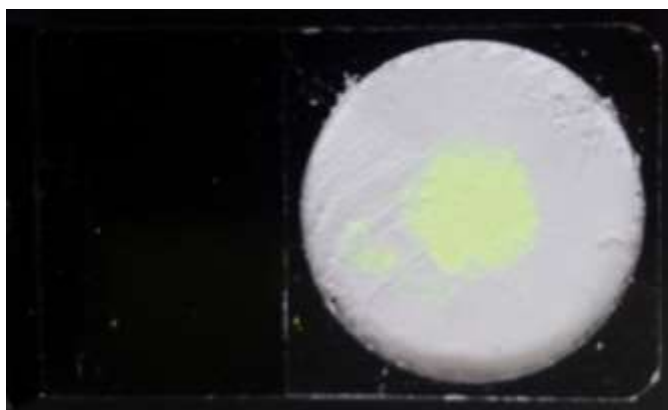


Figura 7. Portamuestra con matriz para análisis por reflectancia difusa.

3.2.3 Caracterización por espectrometría de masas MALDI: El análisis por espectrometría de masas de las moléculas sintetizadas se realizó en un espectrómetro Bruker UltraFlex extreme MALDI TOF-TOF (Bruker Daltonics, Billerica, MA) equipado con un láser Nd:YAG (355 nm). Los experimentos de MALDI se hicieron en modo ion-positivo y se procesaron empleando el software FlexAnalysis (Bruker Daltonics, Billerica MA, USA) el cual permite extraer información acerca de las abundancias, relaciones señal ruido (S/N), resolución de los picos y los valores de masa monoisotópicos para las matrices evaluadas.

Como primer ensayo se registraron los LDI de las matrices calculándose luego, los potenciales de ionización mediante un ajuste en el método de Bracketing, para esto se emplearon analitos de referencia (Naphtho [2,3-*b*]pyrene, Coroneno, 9,10-difenilantraceno, antraceno, fullereno C₆₀, 9-nitroantraceno, fluorenona y DCTB) que se disolvieron en cantidades equimolares junto con las matrices, posteriormente 1 µL de la mezcla de solución se colocó sobre un target de acero pulido (MALDI- TARGET Bruker, Billerica, MA). Para observar la reactividad en fase gaseosa se compararon las intensidades tanto de los analitos de referencia como de las matrices en las mezclas realizadas.

3.2.4. Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS): Se obtuvieron los valores de los potenciales de ionización de las matrices mediante la interacción de una muestra derivada purificada con un haz de fotones coherente de una lámpara He; la energía de los fotoelectrones emitidos, desde la banda de valencia, corresponde al IP de la molécula. Estos análisis se hicieron en el Laboratorio Nacional de Brookhaven de Estados Unidos con la colaboración del doctor Dmytro Nykypanchuk.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 SÍNTESIS DE α -CNPVs

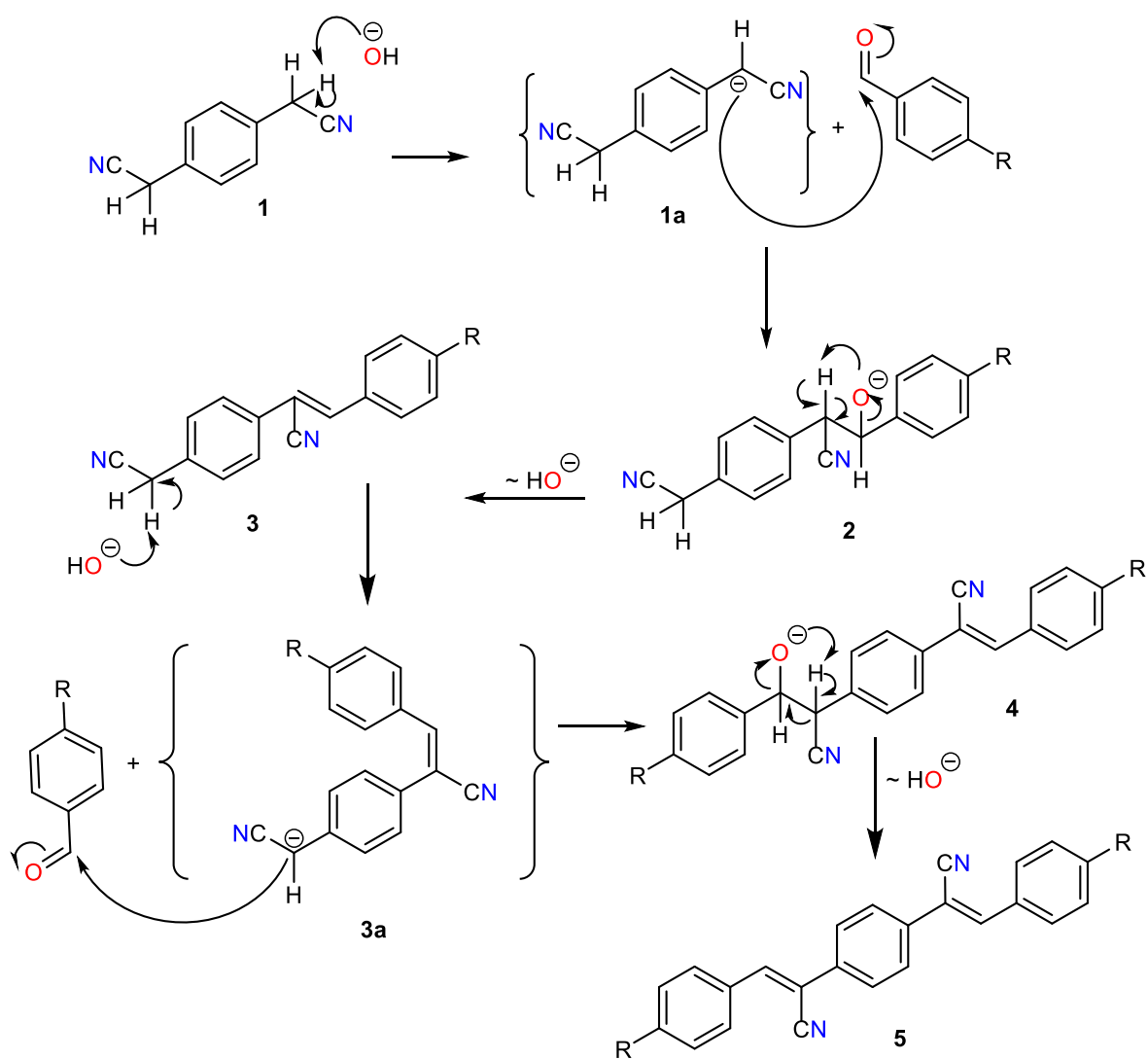
La reacción de condensación de Knoevenagel es una metodología atractiva para obtener acoplamiento carbono-carbono, bajo condiciones amigables con el medio ambiente. La reacción es además menos drástica, cuando se compara con otro tipo de reacciones de acoplamiento en las que se favorecen la formación de productos insaturados más estables y de menor energía con geometría tipo z.

Para que se lleve a cabo la condensación de Knoevenagel es necesario emplear un metileno activo y un carbonilo en presencia de una base como el hidróxido de potasio. El mecanismo de reacción involucra la abstracción de un protón ácido del 2,2'-(1,4-fenileno) diacetónitrilo por parte de la base (compuesto **1**) como se observa en el esquema 2 para generar el carbanión **1^a**. Este a su vez, realiza un ataque nucleofílico sobre el carbono electrodeficiente del carbonilo formando el anión **2**, luego la participación de los cuatros centros permite el acoplamiento carbono-carbono y la eliminación del grupo OH para dar el compuesto **3**. Debido a que el precursor con sustituyentes ciano tiene dos metilenos activos es posible producir un nuevo acoplamiento que sigue los mismos pasos anteriormente nombrados para originar un enlace vinílico como el compuesto **5** final.

COMPUESTO	PESO MOLECULAR	RENDIMIENTO	TIEMPO
α -CNPV – CH ₃	360.1626 g/mol	48%	3h
α -CNPV – OCH ₃	392.1524 g/mol	39%	4h
α -CNPV – Cl	400.0534 g/mol	52%	2h
α -CNPV – H	332.1313 g/mol	47%	1h
α -CNPV – N(CH ₃) ₂	418.2157 g/mol	41%	2h
α -CNPV – N(Ph) ₂	666.2784 g/mol	60%	2h

Tabla 1. Rendimientos y tiempo de reacción para la obtención de α -CNPVs

En la Tabla 1 se observan buenos rendimientos de los compuestos obtenidos en tiempos de reacción relativamente cortos, que varían dependiendo del tipo de sustituyente. Por ejemplo, los grupos electrodonadores demoran más tiempo en reaccionar, debido a que proveen mayor densidad electrónica al carbonilo disminuyendo su reactividad frente al carbanión previamente formado y por tanto aumentando la energía de activación mientras que los grupos electroattractores tienen tiempos de reacción cortos, gracias a que disminuyen la energía de activación.



Esquema 2. Mecanismo de reacción para la obtención de sistemas fenilvinileno

4.1 CARACTERIZACIÓN FOTOQUÍMICA

4.1.1 Espectroscopia ultravioleta- visible: Los sistemas FV tienen diversas aplicaciones gracias a sus propiedades fotofísicas y químicas, que a su vez dependen del tipo de sustituyente y su posición en el núcleo base.

Para estudiar el efecto de los sustituyentes en el núcleo de fenilenvinileno ciano sustituido, se realizaron experimentos UV-Vis en solución. En la Figura 8 se observa la banda de absorción UV normalizada de los diferentes derivados α -CNPVs, que corresponde mayoritariamente a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$. El núcleo de referencia α -CNPV-H presenta λ_{max} de 339 nm; mientras los derivados α -CNPV-N(CH₃)₂ y α -CNPV-N(Ph)₂ con grupos auxocromos como sustituyentes, exhibieron un corrimiento batocrómico de 41 nm y 102 nm respectivamente, debido a los pares de electrones libres (no enlazados) del nitrógeno que están disponibles para interactuar con la nube de electrones π del núcleo fenilenvinileno^{53,54}.

De manera análoga sucede un corrimiento hacia el rojo para los derivados con grupos sustituyentes electrodonadores como el metoxi y el metil. Por ejemplo, en el derivado α -CNPV-OCH₃ se observa un corrimiento de 19 nm influenciado por el par de electrones libres del oxígeno que interactúa con la densidad electrónica del núcleo permitiendo que la energía del HOMO se eleve y la energía del LUMO disminuya y aumentando así la longitud de onda máxima. El α -CNPV-CH₃ exhibe un corrimiento suave de 9 nm, también el α -CNPV-Cl presenta un desplazamiento hacia longitudes de onda más largas debido a la sustitución de un heteroátomo en el núcleo FV⁵⁵. Por otra parte, los derivados α -CNPV-CH₃ y α -CNPV-Cl presentan máximos de absorción cercanos a 355 nm, indicando su mayor capacidad de interacción con los fotones emitidos por el láser MALDI, perfilándose como compuestos con buen desempeño fotoquímico.

⁵³ POND, S. J. K.; *et al.* Op. Cit. p.11470–11480.

⁵⁴ LI, C.; HANIF, M.; *et al.* Effect of Cyano-Substitution in Distyrylbenzene Derivatives on Their Fluorescence and Electroluminescence Properties. *J. Mater. Chem. C* 2016, 4 (31), p. 7478–7484.

⁵⁵ CASTELLANOS-GARCÍA, L. J.; *et al.* Op. Cit. p.2548–2560.

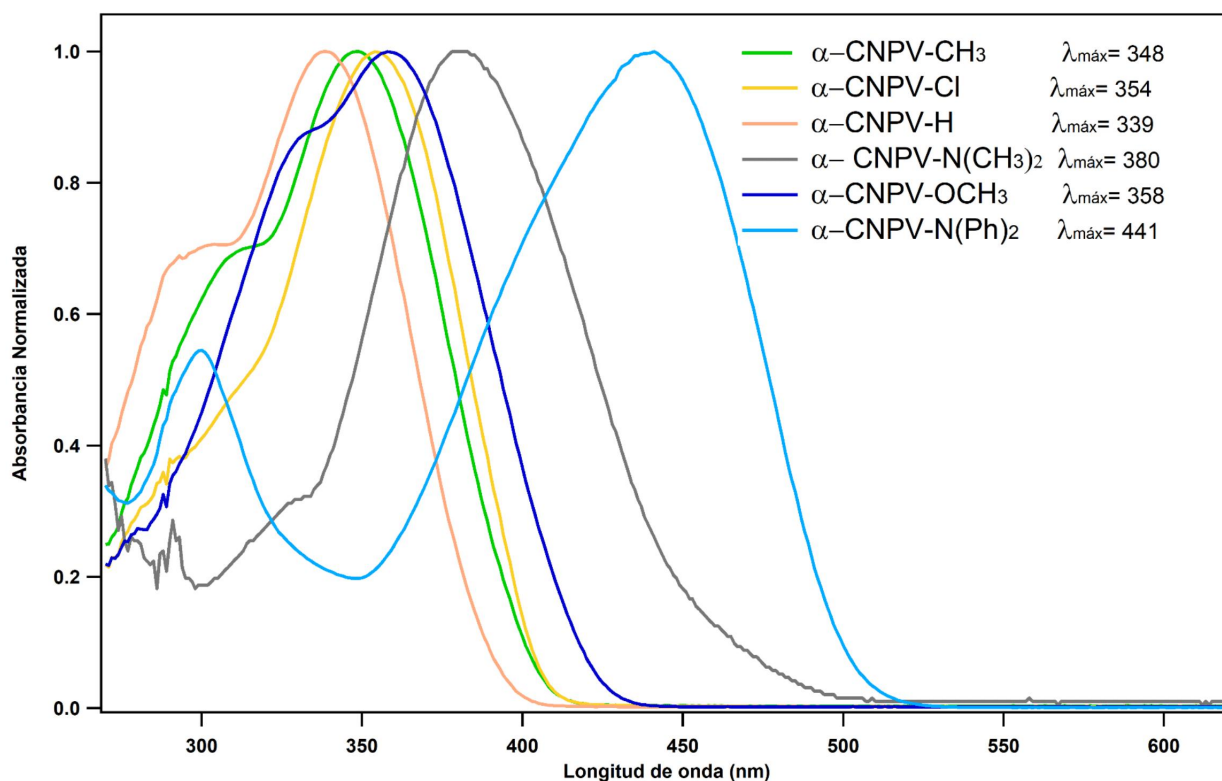


Figura 8. Espectros de absorción UV-Vis de α -CNPVs-CH₃, α -CNPVs-OCH₃, α -CNPV-H, α -CNPV-Cl, α -CNPV-N(CH₃)₂ y α -CNPV-N(Ph)₂ a una concentración de 50 μ M en THF.

4.1.2 Determinación del coeficiente de absortividad molar (ϵ): Los coeficientes de absortividad molar de los diferentes derivados α -CNPVs se determinaron mediante la ecuación de Lambert-Beer utilizando una serie de diluciones en rango de concentración entre 5 μ M a 30 μ M en THF.

En la Figura 9 se observa la tendencia lineal y los coeficientes de absortividad molar para cada α -CNPVs. Se destacan, el α -CNPV-CH₃ (con $\epsilon_{355}=70000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y α -CNPV-OCH₃ (con $\epsilon_{355}=41000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), en comparación con el DCTB ($\epsilon_{355}=33980 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) a una longitud de onda de 355 nm. Estos valores indican que los α -CNPVs tienen, una buena eficiencia de absorción de fotones a la longitud de onda del láser MALDI en fase líquida. Sin embargo, es bien sabido que los

procesos de ionización ocurren en fase condensada y que el desempeño de las matrices depende de sus propiedades fotoquímicas en estado sólido.

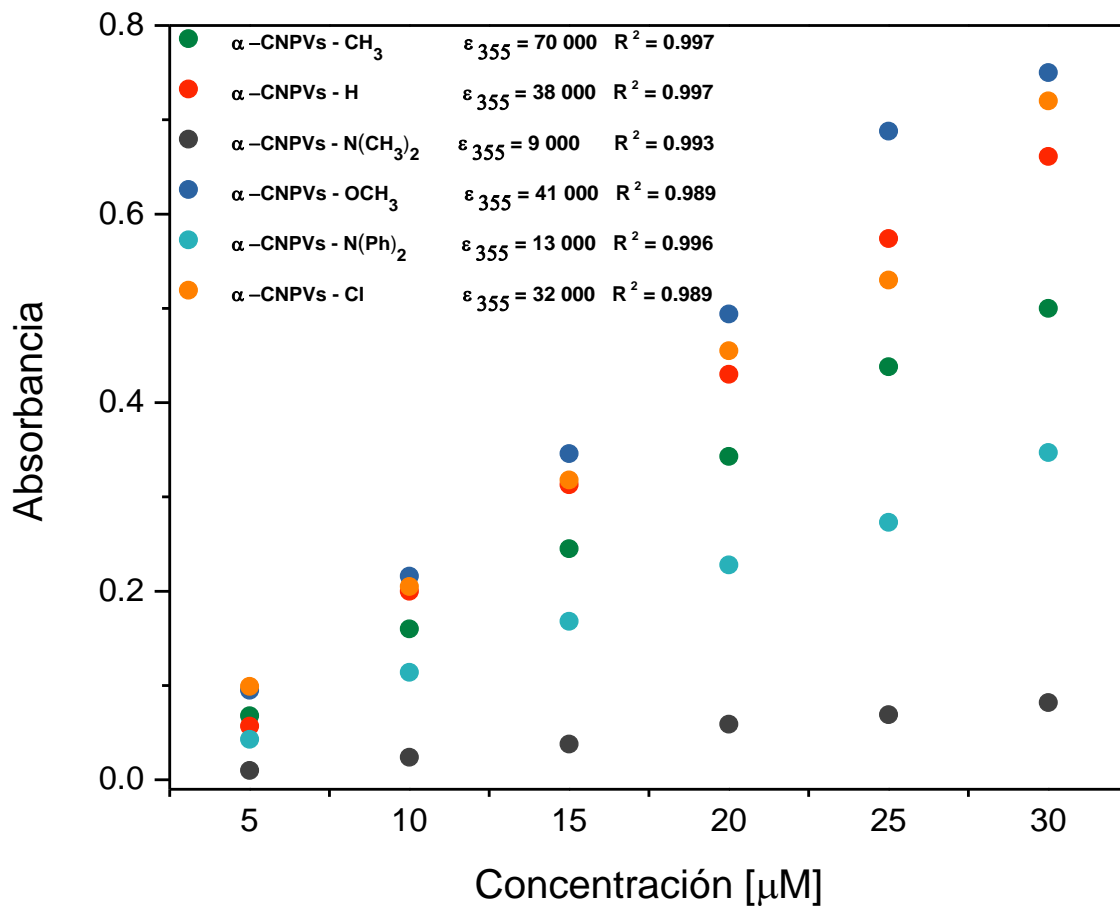


Figura 9. Absortividad molar de los derivados α -CNPVs a $\lambda = 355$ nm

4.1.3 Espectroscopia ultravioleta- visible de reflectancia difusa: La técnica de reflectancia difusa describe el comportamiento electrónico en la estructura de un sólido, donde a través de los espectros de absorción; proporciona información sobre las transiciones electrónicas de los diferentes orbitales en un sólido, dicho esto, la excitación de los electrones desde el estado HOMO al estado LUMO se evidencia por un aumento en la absorbancia a una longitud de onda dada.

La Figura 10 exhibe las curvas de decaimiento de reflectancia para los diferentes derivados α -CNPVs en el rango de 250 a 600 nm. Se seleccionó este rango debido a que la aplicación de estos sistemas como matrices MALDI requiere su interacción efectiva con una fuente de radiación láser de 355 nm.

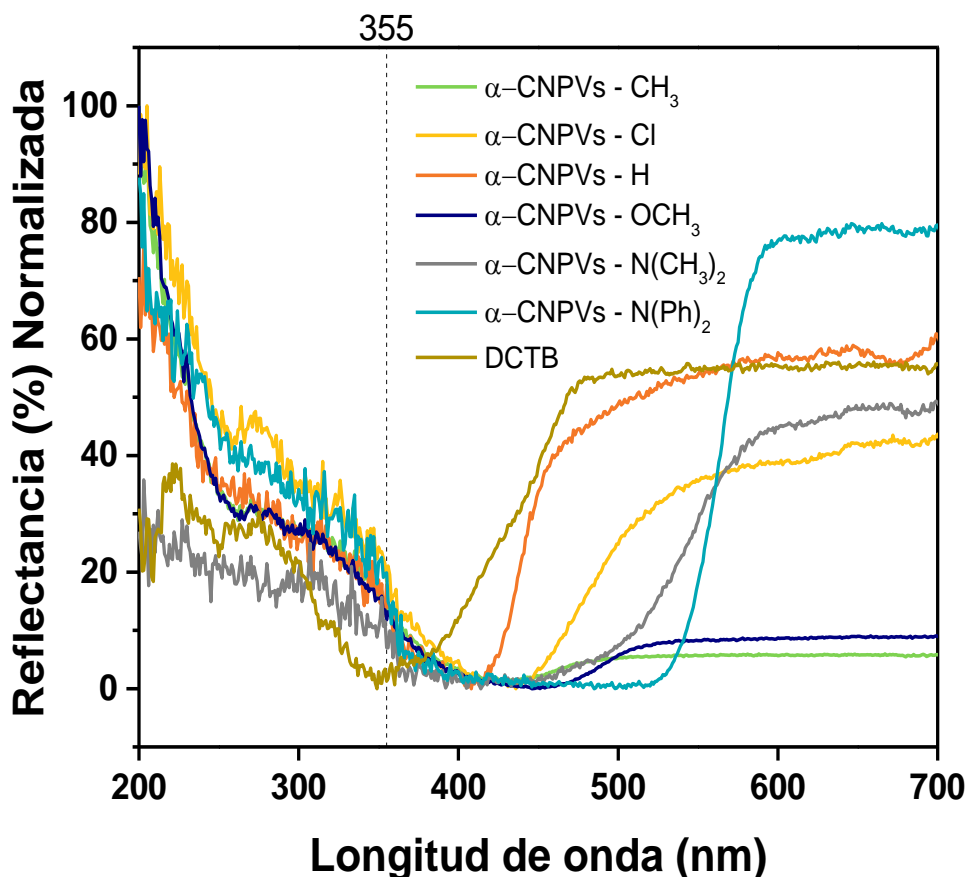


Figura 10. Reflectancia Difusa de los derivados α -CNPVs.

Estudios realizados a diferentes sólidos conductores y semiconductores sugieren que el análisis de la sección lineal en los espectros de reflectancia difusa, utilizando una función modificada del método de Kubelka-Munk, permite determinar la energía del espacio de banda denominada E_{Gap} . Este método se aplica generalmente a materiales altamente dispersantes de luz y a partículas absorbentes en una matriz por lo que es posible hacer una analogía con las matrices MALDI y obtener la energía del espacio de banda o energía del excitón molecular, que corresponde a la energía necesaria para excitar un electrón de la capa de valencia de la red orgánica a la banda de conducción, en este caso, el HOMO al LUMO de una molécula de la matriz. Considerando que los procesos de ionización en MALDI involucran estados excitados intermedios, la probabilidad de formarlos está relacionada con el E_{gap} de las matrices y la formación primaria de iones, lo cual sugiere, que compuestos con menor energía son más fáciles de excitar.

Transformación de los espectros de reflectancia difusa, aplicando el método de Kubelka-Munk, a diagramas donde la magnitud $(F(R) \cdot hv)^{1/2}$ correspondiente a, la transición indirecta entre el estado electrónico de valencia de menor energía y el estado electrónico excitado de mayor energía se grafica vs la energía (hv) de la fuente de radiación; el valor de la energía del espacio de banda se obtiene por extrapolación.^{56,57}

La Figura 11 muestra que los derivados con sustituyentes electrodonadores como α -CNPV $-CH_3$ y α -CNPV $-O(CH_3)_2$ exhiben las más altas energías, correspondientes a 2.44 eV y 2.27 eV respectivamente. Los derivados con sustituyentes amino como lo son α -CNPV $-N(CH_3)_2$ y α -CNPV $-N(Ph)_2$ exhiben bajas energías de excitón correspondientes a 2.10 eV y 2.15 eV respectivamente,

⁵⁶ STANKOVIC, A. RSC Advances Simultaneous Enhancement of Natural Sunlight- and Artificial UV-Driven Photocatalytic Activity of a Mechanically Activated ZnO / SnO₂ Composite. 2017, 7, p. 42725–42737.

⁵⁷ LOPEZ, R.; GOMEZ, R. Band-Gap Energy Estimation from Diffuse Reflectance Measurements on Sol – Gel and Commercial TiO₂: A Comparative Study. 2012, p. 1–7.

debido probablemente a que presentan mayor conjugación lo que promueve la disminución del E_{gap} . Finalmente, α -CNPV – Cl y α -CNPV – H presentan energías de 2.29 eV y 1.93eV, respectivamente. Como se puede observar anteriormente la energía del espacio de banda de los derivados α -CNPVs oscila entre 1.93 y 2.44 eV, muy por debajo de la energía de un fotón de la fuente de láser de 355 nm cuya energía es de 3.49 eV para formar el excitón. Esto significa que la absorción de un fotón es suficiente para promover electrones de la banda de valencia de la molécula a la banda de conducción y así generar excitones moleculares.

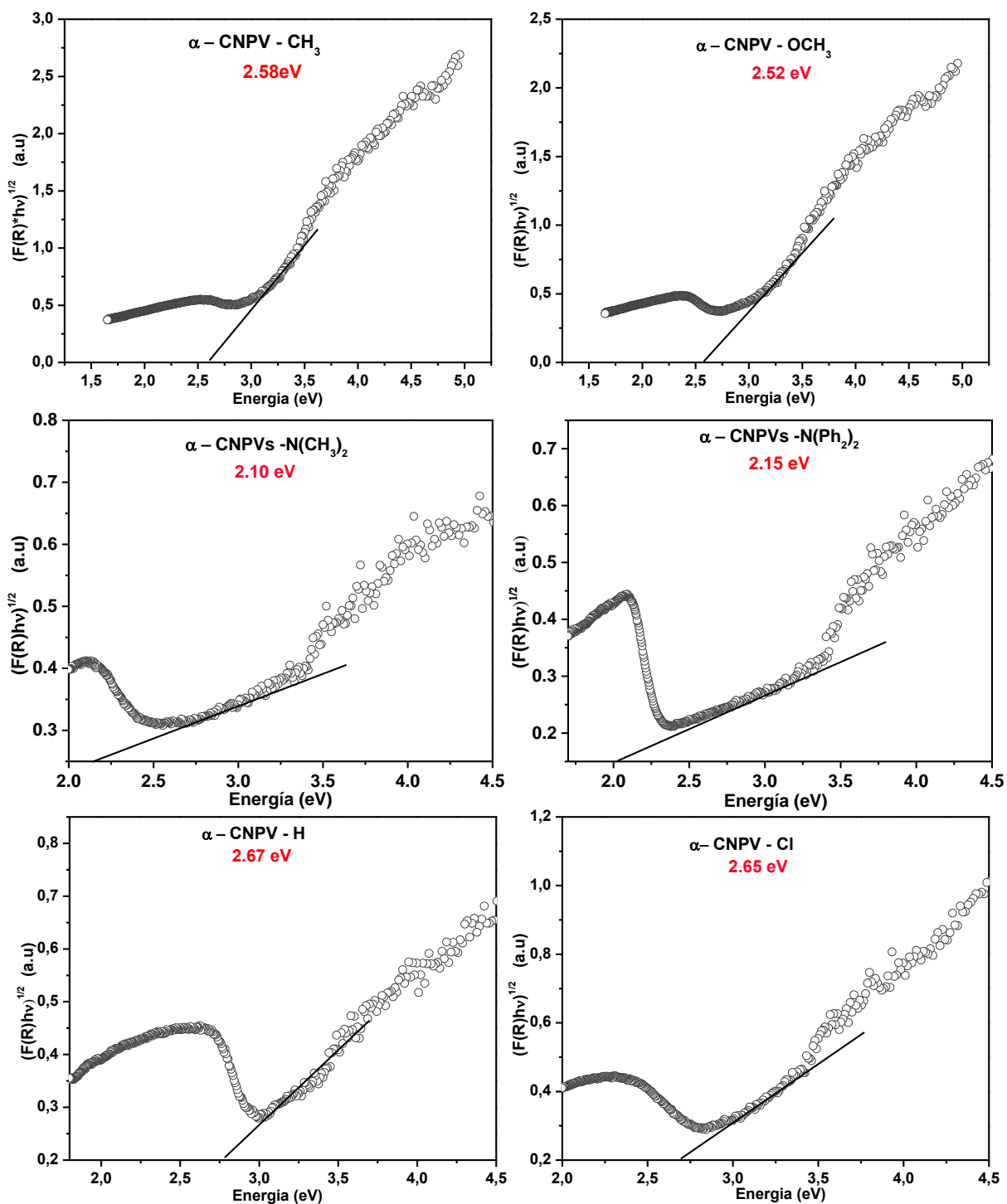


Figura 11. Representación gráfica del método Kubelka-Munk para los derivados α -CNPVs

4.1.4 Espectroscopia fotoelectrónica ultravioleta (UPS): En la Figura 12 se observan las distribuciones de energía cinética o la función trabajo para los α -CNPVs. Para obtener el potencial de ionización es necesario realizar una resta entre la energía de excitación que es 21.22eV proveniente de una fuente ultravioleta (Helio I) y la diferencia entre: la posición límite y el inicio de la banda de valencia. Los potenciales de ionización más bajos corresponden al α -CNPV- $N(CH_3)_2$ (7.7eV) y α -CNPV- $N(Ph)_2$ (8.22 eV) que son los derivados con alta conjugación en su estructura. Bajos IP limitan las aplicaciones de estos compuestos como matrices MALDI de ET. Por otra parte, el α -CNPV- CH_3 y α -CNPV- OCH_3 tienen IP de 8.42 y 8.30 eV respectivamente; valores altos de IP en una matriz de ET permiten aplicaciones a mayor número de analitos. Lo mismo ocurre con los derivados α -CNPV-H con IP de 8.62eV y α -CNPV-Cl con 8.92 eV.

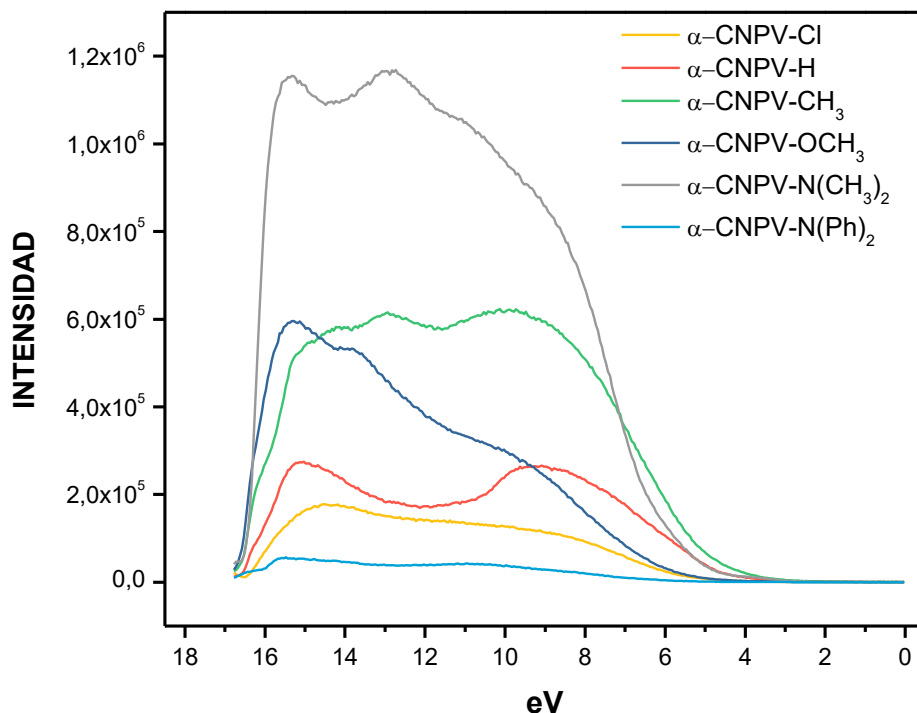
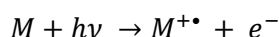
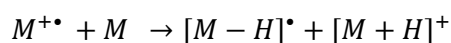


Figura 12. Distribución de energía UPS para α -CNPVs.

4.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDI

4.2.1 Experimentos LDI-MS: Los espectros LDI-MS se tomaron para todos los α -CNPVs en THF a una concentración de 2.5 mM en modo ion positivo. Este tipo de experimentos es esencial para conocer el comportamiento que tienen los compuestos que serán utilizados como matrices MALDI en su estado sólido; debido a que es de suma importancia la ionización de las matrices bajo las condiciones operacionales del equipo sin presentar degradación por la presión de vacío o los procesos térmicos en su espectro base. Es necesario que no exhiban formación de clusters que conlleven a una caracterización equivocada de los analitos utilizando las matrices propuestas.

En la Figura 13, los espectros LDI de los derivados α -CNPVs tomados a 0.89 μ J/pulso energía del láser muestran señales correspondientes a cationes radicales $[M]^{\bullet+}$ con contribución de especies protonadas $[M+H]^+$ (Ver anexos 8-13 de patrones isotópicos simulados). En fase gaseosa ocurren diferentes reacciones que pueden originar la formación de especies protonadas y iones primarios de la matriz como:



En los espectros de los derivados α -CNPV-CH₃, α -CNPV-OCH₃ y α -CNPV-N(Ph)₂ no hay presencia de: clusters, iones multicargados, excesiva fragmentación ni presencia de aductos como $[M+Na]^+$ y $[M+K]^+$. Lo que implica que dichos compuestos logren estabilizar la carga generada por el proceso de ionización debido a su alta conjugación, generando un espectro limpio y sin fondo especialmente en las regiones de masas bajas. Lo que posibilita que sean útiles como matrices MALDI especialmente los derivados α -CNPV-CH₃, α -CNPV-OCH₃ por tener potenciales de ionización altos que permitan analizar una amplia gama de analitos. A diferencia de los derivados α -CNPV-H y α -CNPV-Cl que exhiben en

su espectro fragmentación en las regiones de masas bajas producto de la degradación.

Los derivados α -CNPV-CH₃ y α -CNPV-H tienen mayor contribución de la señal correspondiente a [M+H]⁺ en m/z 361.172 y m/z 333.139, probablemente debido a reacciones bimoleculares. Por el contrario, los derivados α -CNPV-OCH₃, α -CNPV-N(Ph)₂ y α -CNPV-N(CH₃)₂ presentan pequeñas contribuciones del [M+H]⁺ debido a que estos grupos son electro-donadores fuertes y tienen un par de electrones libres que permiten deslocalizar la carga por resonancia haciendo más estable el catión-radical.

COMPUESTO	FORMULA MOLECULAR	MASA EXACTA
α -CNPV – CH ₃	C ₂₆ H ₂₀ N ₂	0.27 ppm
α -CNPV – OCH ₃	C ₂₆ H ₂₀ N ₂ O ₂	0.18 ppm
α -CNPV – Cl	C ₂₄ H ₁₄ N ₂ Cl ₂	0.36 ppm
α -CNPV – H	C ₂₄ H ₁₆ N ₂	0.60 ppm
α -CNPV – N(CH ₃) ₂	C ₂₈ H ₂₆ N ₄	0.47 ppm
α -CNPV – N(Ph) ₂	C ₄₈ H ₃₄ N ₄	0.30 ppm

Tabla 2. Mass Accuracy de los derivados α -CNPVs.

El derivado α -CNPV-N(CH₃)₂ presenta en su espectro la señal de catión- radical [M]⁺ m/z 418.216, así mismo, se observa una señal en m/z 287.171 catión- radical correspondiente al mono-derivado del α -CNPV-N(CH₃)₂ puesto que en el proceso de purificación tanto el mono como di-sustituido del α -CNPV-N(CH₃)₂ co-eluyen, por tanto, es difícil efectuar un proceso de purificación eficaz. En la Tabla 2. Se muestran las masas exactas para los diferentes derivados en un rango de 0.18 a 0.60 ppm.

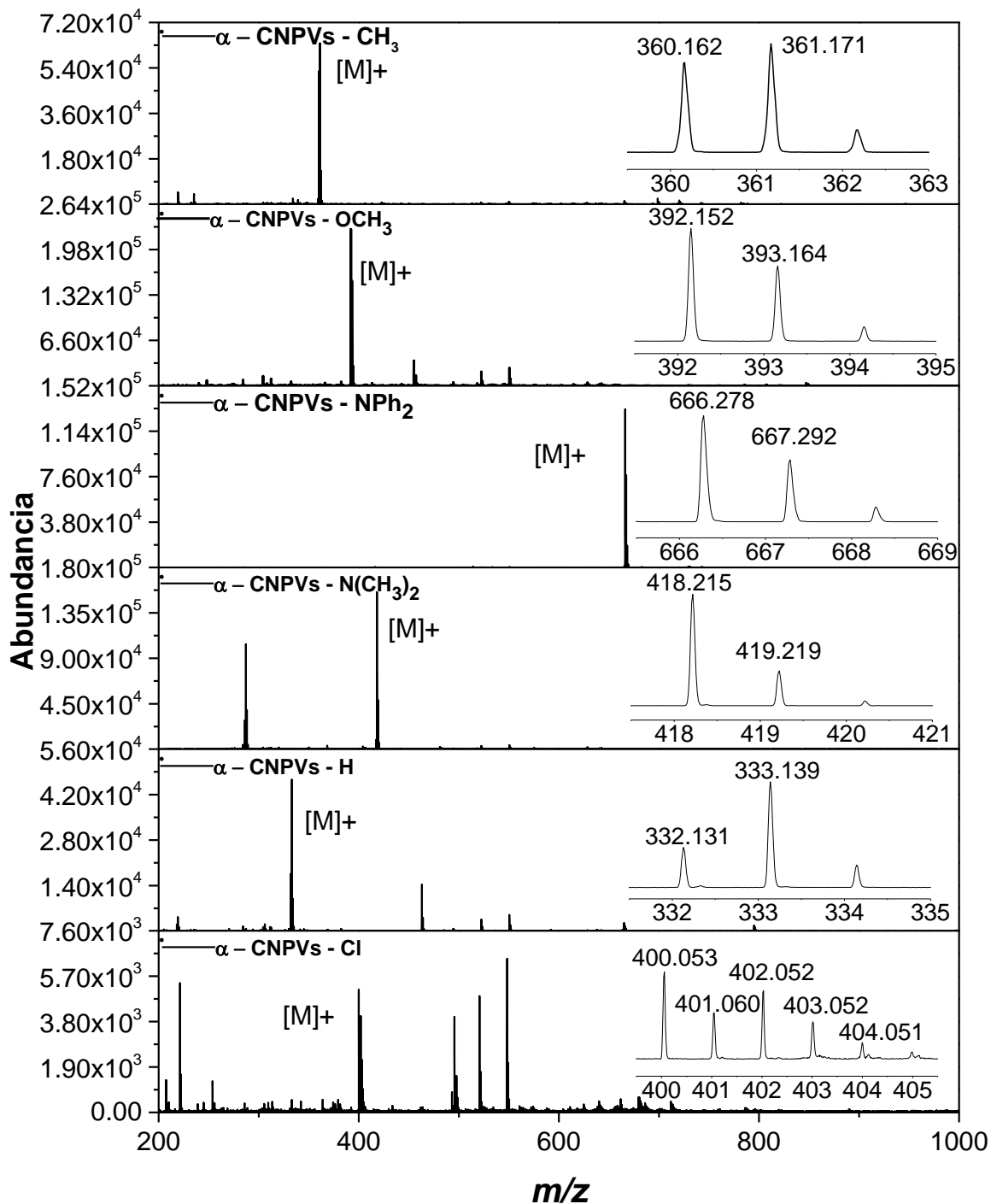


Figura 13. Espectros LDI y perfiles isotópicos experimentales de las matrices sintetizadas.

4.2.2 Curva de aparición de iones: El desempeño de una matriz en MALDI está relacionado con su capacidad para formar iones primarios. La fuente de energía utilizada en los experimentos MALDI puede modularse para emitir pulsos entre 0.39 a 2.80 μJ ; idealmente una matriz debe formar iones primarios, a bajas energías por pulso. En la Figura 14 se observa la relación entre la energía por pulso del láser y la abundancia de iones primarios de los derivados α -CNPVs investigados en este trabajo⁵⁸.

Las curvas de aparición de iones tienen una estructura similar para todos los compuestos investigados. Por encima del umbral de detección, la abundancia de iones aumenta rápidamente con el incremento de la energía por pulso del láser hasta 1.5 μJ por pulso. Para una matriz MALDI se considera que la energía de trabajo debe estar 2 o 3 veces por encima de la energía umbral; valores de trabajo más altos causan fragmentación extensa, disminución en la resolución y saturación del detector⁵⁹.

La sección lineal de la curva de aparición se puede ajustar a una función de potencia de tipo $Y \sim H^m$,⁴⁴ donde Y es abundancia de iones, H se relaciona con la energía del pulso y m es la pendiente que describe el desempeño de la matriz en términos de producción de iones primarios. Para los derivados α -CNPVs, m varía entre 4.60 para el α -CNPV-H y 7.64 para el derivado α -CNPV-CH₃. En contraste, el DCTB presenta una pendiente de 4.75.

Estos valores indican que, bajo condiciones experimentales idénticas, cinco de los seis derivados α -CNPVs analizados tienen capacidad de absorber energía de manera eficiente, y producir más iones, en comparación con una matriz estándar de transferencia electrónica como DCTB.

⁵⁸ WESTMACOTT, G.; ENS, W.; HILLENKAMP, F.; DREISEWERD, K.; SCHÜRENBERG, M. The Influence of Laser Fluence on Ion Yield in Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. 2002, 221, 67–81.

⁵⁹ DREISEWERD, K. *The Desorption Process in MALDI*; 2003.

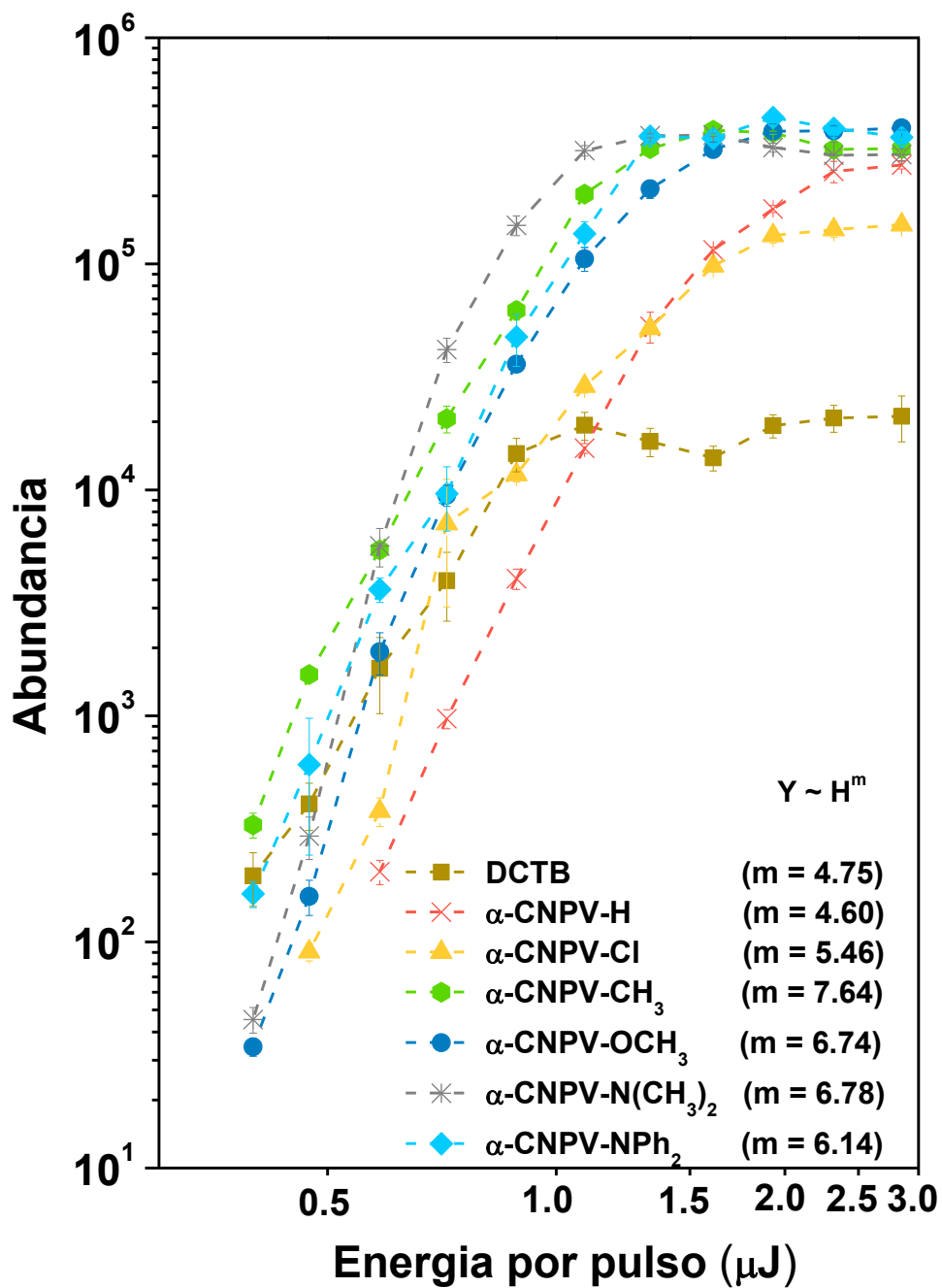


Figura 14. Curva de aparición de iones

4.3 DESEMPEÑO TERMODINÁMICO EN LA FASE GASEOSA DE LOS CNPVs

Las reacciones de transferencia electrónica en espectrometría de masas MALDI dependen directamente de la diferencia entre los valores de potencial de ionización entre la matriz y los analitos. En 1998, McCarley et al⁶⁰, demostraron experimentalmente que la diferencia de potenciales de ionización es fundamental para la transferencia. Posteriormente, Vasil'ev et al⁶¹, empleando el DCTB como matriz, realizaron un estudio detallado de la termodinámica de la transferencia electrónica utilizando antraceno, fenantreno, y fluorofullereno como analitos.

Para estudiar el marco termodinámico de las reacciones de transferencia electrónica usando los α -CNPVs, se eligió un conjunto de analitos modelo con diferentes potenciales de ionización que van desde 6.8 eV hasta 8.54 eV,⁴⁵⁻⁴⁹ y se realizaron los experimentos bajo condiciones experimentales controladas con; relaciones molares M:A 1:1, energía del láser de 0.89 μ J/pulso. El analito de potencial de ionización más bajo naftopireno; 6.82 eV arroja valores de Δ IP (diferencia entre el potencial de ionización de la matriz y el analito) desde 0.95 hasta 2.1 eV, de acuerdo a la Tabla 3. Como se puede observar en la Figura 15, las abundancias relativas correspondientes al catión radical del naftopireno [NP]^{•+} y las matrices [α -CNPV]^{•+}, exhibieron un comportamiento acorde a la termodinámica de la reacción. Por ejemplo, las matrices de potencial de ionización más bajo: α -CNPV-N(CH₃)₂ y α -CNPV-N(Ph)₂ presentaron abundancias relativas de 3.6 y 36 respectivamente, mientras que el decaimiento de la señal de la matriz para α -CNPV -OCH₃, α -CNPV -CH₃, α -CNPV-Cl y α -CNPV-H demostraron que a mayor Δ IP la transferencia electrónica estuvo más favorecida.

⁶⁰ MCCARLEY, T. D.; MCCARLEY, R. L.; LIMBACH, P. A., Op. Cit., p.4376–4379.

⁶¹ VASIL, Y. V; *et al.* Electron Transfer Reactivity in Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization (MALDI): Ionization Energy , Electron Affinity and Performance of the DCTB Matrix within the Thermochemical Framework. 2006, No. reaction 2, p.5967–5972.

COMPUESTO	9,10 DPA	Coronene	DCTB	NapthoP.	C60
α -CNPV – N(Ph) ₂	$\Delta(0.52\text{eV})$	$\Delta(0.48\text{eV})$	$\Delta(-0.77\text{eV})$	$\Delta(0.95\text{eV})$	$\Delta(-0.03\text{eV})$
α -CNPV – N(CH ₃) ₂	$\Delta(0.97\text{eV})$	$\Delta(0.93\text{eV})$	$\Delta(-0.32\text{eV})$	$\Delta(1.4\text{eV})$	$\Delta(0.42\text{eV})$
α -CNPV – OCH ₃	$\Delta(1.05\text{eV})$	$\Delta(1.01\text{eV})$	$\Delta(-0.24\text{eV})$	$\Delta(1.48\text{eV})$	$\Delta(0.5\text{eV})$
α -CNPV – CH ₃	$\Delta(1.17\text{eV})$	$\Delta(1.13\text{eV})$	$\Delta(-0.12\text{eV})$	$\Delta(1.6\text{eV})$	$\Delta(0.62\text{eV})$
α -CNPV – Cl	$\Delta(1.37\text{eV})$	$\Delta(1.33\text{eV})$	$\Delta(0.08\text{eV})$	$\Delta(1.8\text{eV})$	$\Delta(0.82\text{eV})$
α -CNPV – H	$\Delta(1.67\text{eV})$	$\Delta(1.63\text{eV})$	$\Delta(0.38\text{eV})$	$\Delta(2.1\text{eV})$	$\Delta(1.12\text{eV})$

Tabla 3. Diferencias entre los potenciales de ionización de los derivados y los analitos modelo.

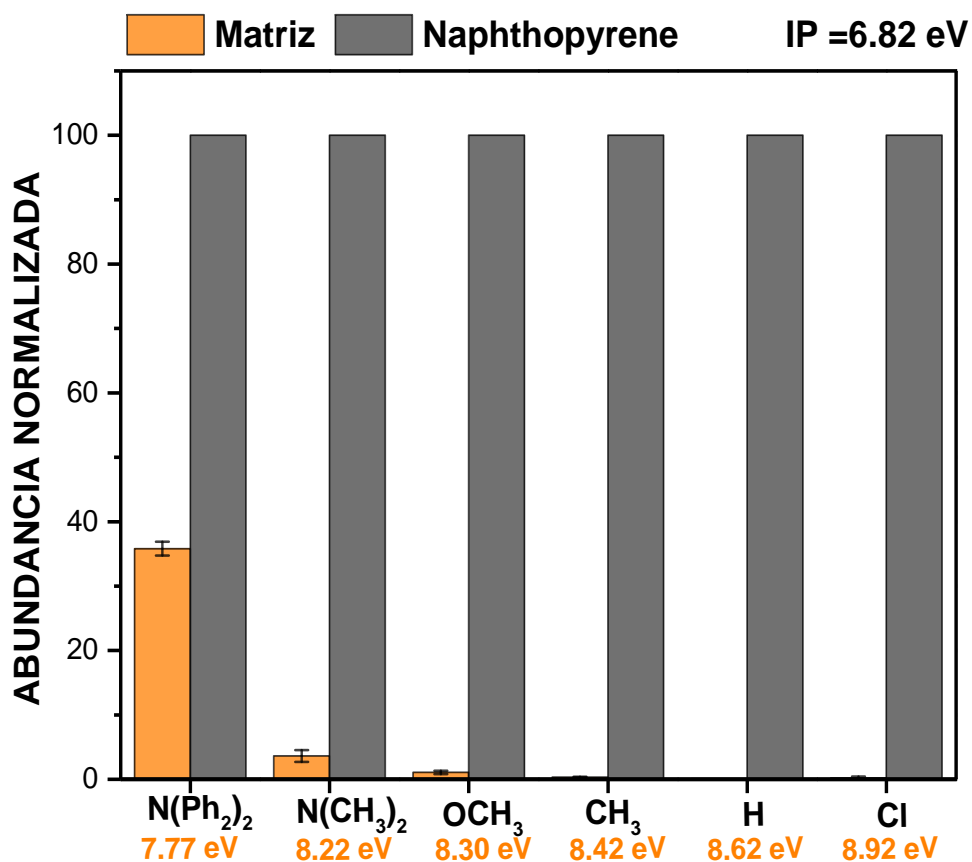


Figura 15. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Naftopireno.

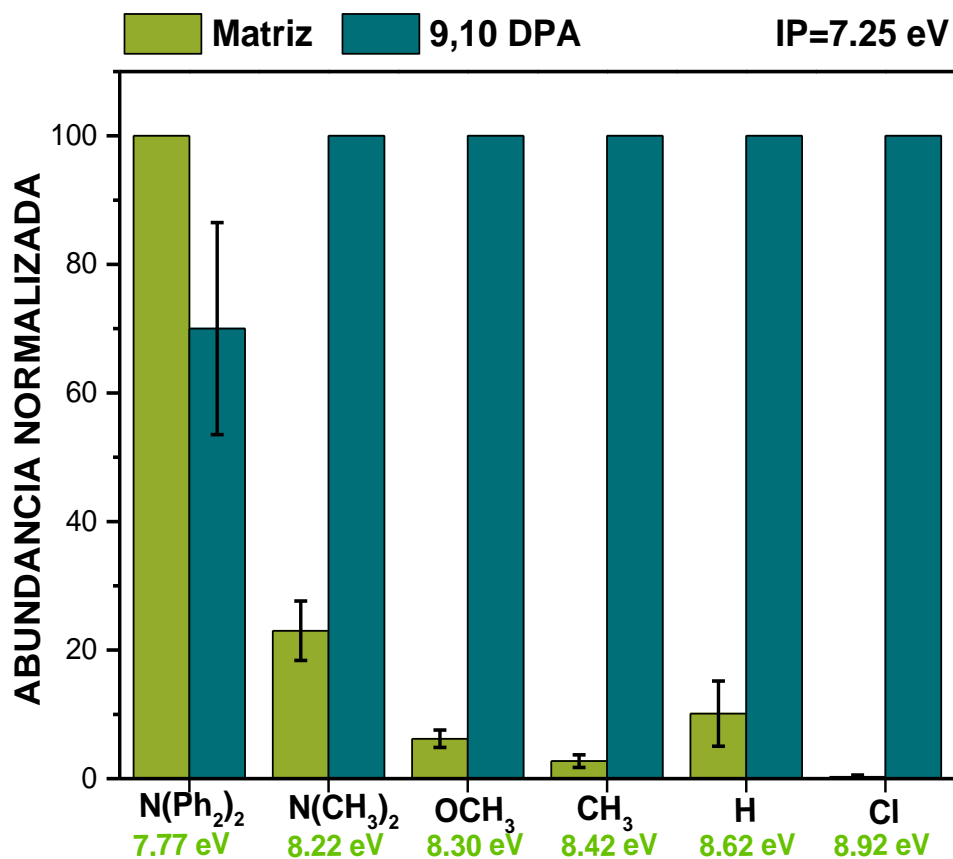


Figura 16. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con 9-10-difenilantraceno.

Cuando se empleó 9,10-DPA como analito (IP 7.25 eV), el marco termodinámico presentó un comportamiento similar (figura 16), las matrices de potencial de ionización más baja; α -CNPV- $N(Ph_2)_2$ y α -CNPV- $N(CH_3)_2$ exhibieron abundancias relativas de 100 y 23 respectivamente, mientras que el decaimiento de la señal de la matriz para α -CNPV- OCH_3 , α -CNPV- CH_3 , α -CNPV-Cl demostraron que a mayor ΔIP la transferencia electrónica estuvo favorecida evidenciándose el efecto de supresión de la matriz, mientras que α -CNPV-H mostró una abundancia relativa de 10 debido a que dicha matriz no cristaliza de forma homogénea con el analito 9,10-DPA.

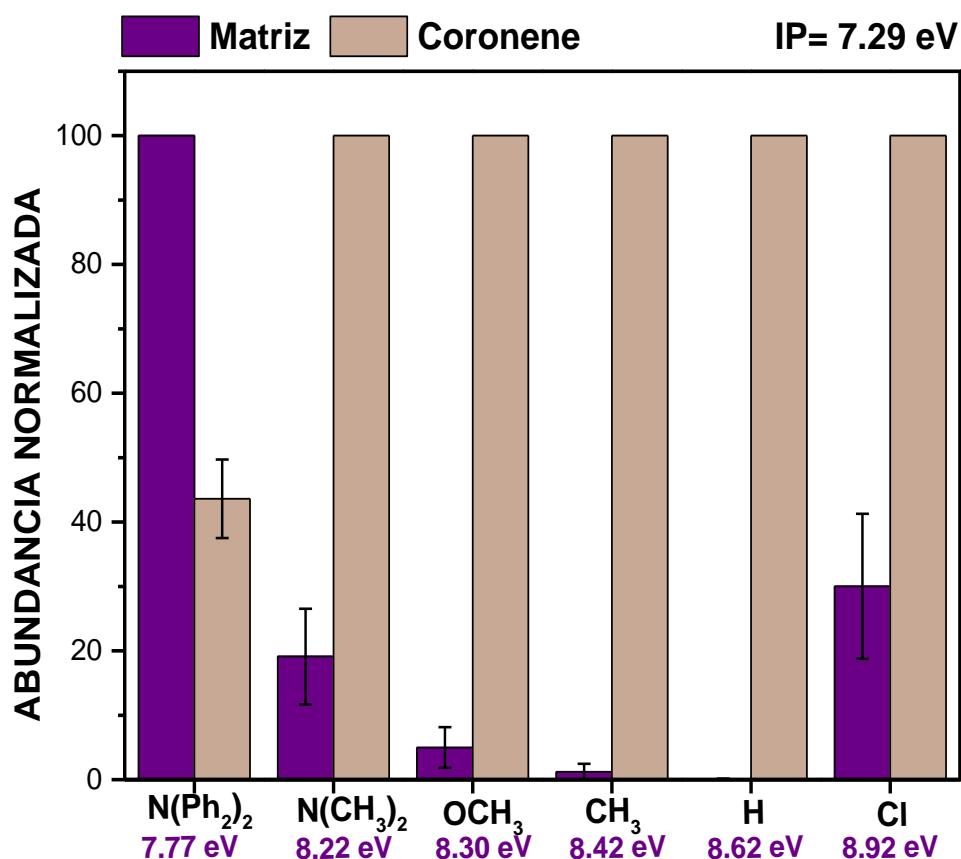


Figura 17. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Coroneno.

De manera análoga, cuando el coroneno (IP 7.29) se escogió como analito (figura 17), las matrices con potencial de ionización más bajo y Δ IP menor como α -CNPV- $N(Ph_2)_2$ y α -CNPV- $N(CH_3)_2$ exhibieron abundancias relativas de 100 y 19 respectivamente mientras que las matrices con mayor Δ IP como α -CNPV- OCH_3 , α -CNPV- CH_3 y α -CNPV-H con Δ IP 1.01, Δ IP 1.13 y Δ IP 1.33 favorecieron la transferencia electrónica, opuesto a la matriz α -CNPV-Cl que no co-cristalizó homogéneamente con el analito y presentó abundancia de 30.

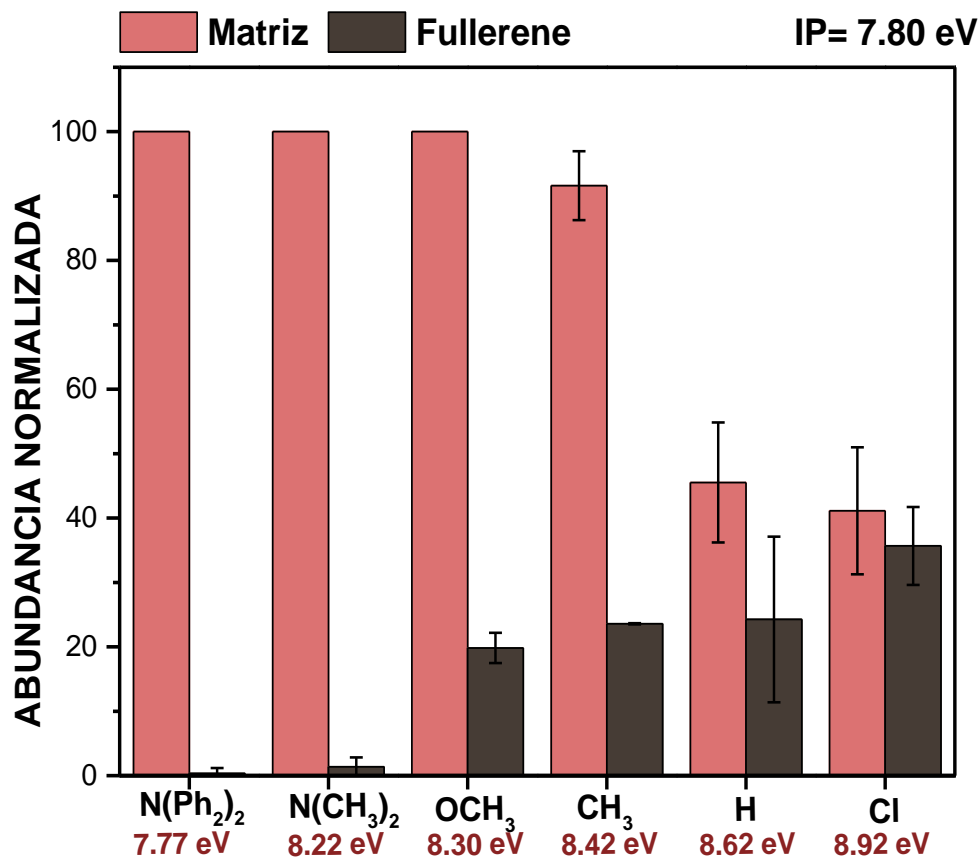


Figura 18. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con Fullerenos.

En el comportamiento termodinámico del fullereno con IP de 7.80 eV (figura 18) se observa que la matriz α -CNPV-N(Ph₂)₂ tiene un Δ IP negativo -0.03 con potencial de ionización 7.77, en este caso es posible que el fullereno medie la formación del catión-radical de la matriz $[\alpha\text{-CNPV-N(Ph}_2)_2]^+\bullet$, por el contrario, al aumentar Δ IP la abundancia relativa del analito aumenta y la abundancia relativa de la matriz disminuye.

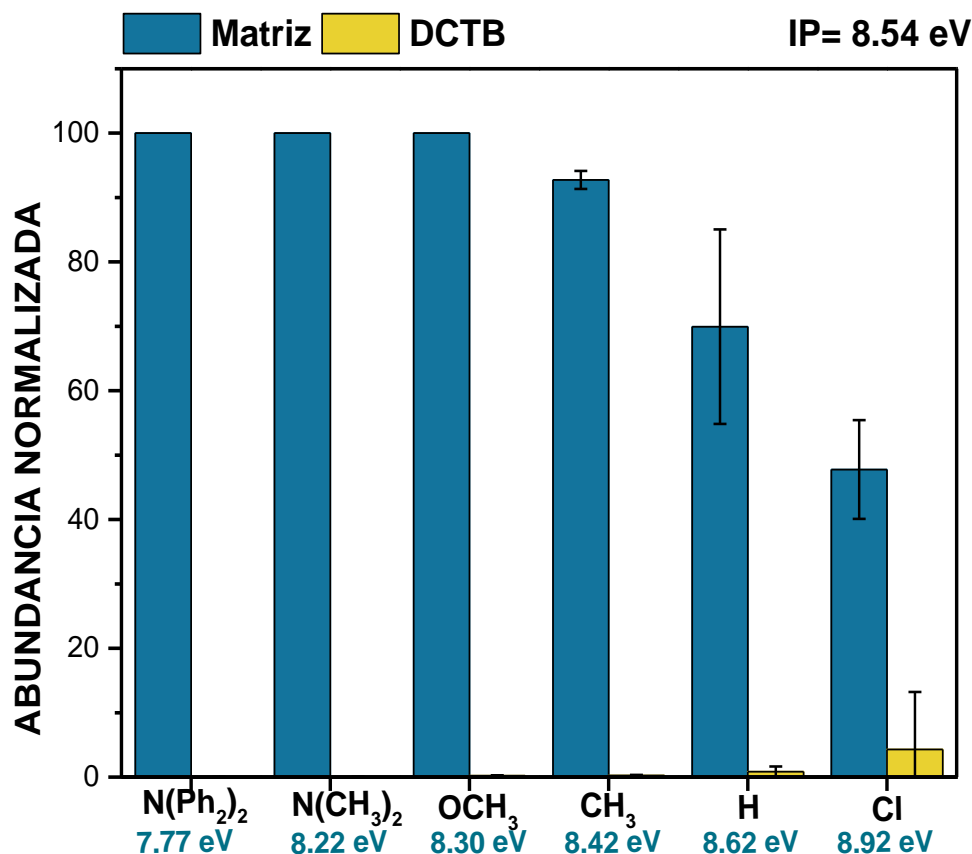


Figura 19. Comportamiento termodinámico de las matrices α -CNPVS con DCTB.

En la figura 19 donde el compuesto de referencia es el DCTB hay contribución de las abundancias relativas de 100, 100, 100 y 93 respectivamente para los derivados α -CNPV- $N(Ph_2)_2$, α -CNPV- $N(CH_3)_2$, α -CNPV- OCH_3 y α -CNPV- CH_3 . En vista de que estos presentan potenciales de ionización bajos, el papel de la matriz lo desempeña el DCTB acorde a la termodinámica de reacción; en que el potencial de ionización de la matriz debe ser mayor que el potencial de ionización del analito. Mientras que en derivados como α -CNPV-H y α -CNPV-Cl hay competencia puesto que sus potenciales de ionización son cercanos y están en una proporción molar 1:1.

Una vez efectuado los análisis, es factible elegir al derivado α -CNPV-CH₃ como posible matriz MALDI. Debido a sus buenas propiedades optoelectrónicas; absorbe en el rango de 355 nm (longitud de onda a la que opera el láser), presenta el coeficiente de absorción molar más alto, que permite vislumbrar la cantidad de fotones que puede absorber, además, tiene E_{gap} menor que la energía emitida por un solo fotón proveniente de la fuente de ionización. Lo que implica un excelente rendimiento en la formación primaria de iones, esto se puede comprobar al observar en la figura 14, con un rendimiento de iones ($m = 7.64$) superior al de la matriz comercial DCTB. Asimismo, α -CNPV-CH₃ tiene un potencial de ionización de 8.42 eV, lo cual abarca un rango amplio de analitos para analizar. En el estudio del marco termodinámico en fase gaseosa, exhibió el efecto de supresión de matriz más alto, y los espectros obtenidos no muestran formación de cluster ni señales a masas bajas, logrando obtener así espectros limpios.

4.3.1 Bracketing: En espectrometría de masas, el método de bracketing es una herramienta basada en el método cinético de Cooks que permite determinar propiedades fisicoquímicas en fase gaseosa como la afinidad protónica, afinidad catiónica, potencial de ionización, entre otras.^{62,63} Partiendo de reacciones bimoleculares de transferencia electrónica entre analitos con potencial de ionización conocida y absorción UV, se realizó el método indirecto del bracketing con el fin de predecir el potencial de ionización a través de espectrometría de masas MALDI. En este es posible correlacionar el logaritmo natural de las abundancias del analito modelo y la matriz vs los potenciales de ionización de los analitos modelos con el fin de obtener el potencial de ionización desconocido de la matriz al extrapolar en el eje x los valores de la recta obtenida.

⁶² WONG, P. S.; MA, S.; COOKS, R. G. Ionization Energy Determination by the Kinetic Method. *Anal. Chem.* 1996, 68 (23), p. 4254–4256.

⁶³ CHEN, Guodong; COOKS, G. JMS Letters. Estimation of Ionization Energies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using the Kinetic Method. *J. Mass Spectrom.* 1997, 31 (November 1996), p.1996–1998.

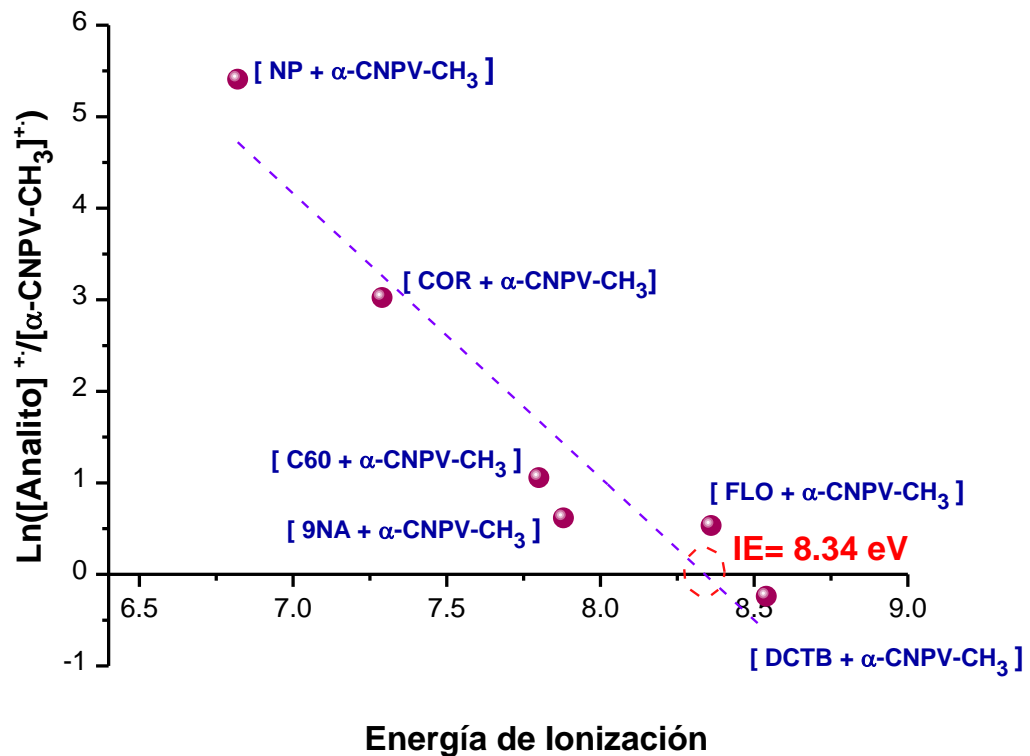


Figura 20. Método indirecto de Bracketing para el derivado α -CNPV-CH₃

A continuación, se escogieron diferentes analitos como Naftopireno, 9-nitroantraceno, fullereno (C₆₀), coroneno, DCTB y fluorenona, y se mezcló cada uno en una relación molar 1:1 con la matriz α -CNPV-CH₃ que exhibió el mejor desempeño termodinámico de transferencia electrónica, el potencial experimental encontrado es cercano al potencial de ionización calculado en UPS, la figura 20 muestra la regresión lineal con ecuación $y = 25.909 - 3.107x$ con un $R^2 = 0.906$ al extrapolar con el eje x el resultado es 8.34 eV que sería el potencial de ionización experimental, este resultado es sorprendente pues muestra un %error de 0.95 lo que permite concluir que es posible determinar el potencial de ionización en MALDI a través de un método indirecto.

4.3.2 Aplicación: Hasta la fecha, las aplicaciones de transferencia electrónica están limitadas. Debido a la elección de la matriz, lo cual depende, entre otras características, de la interacción con la fuente de radiación láser y la formación primaria de iones. Hasta este punto, la matriz α -CNPV-CH₃ ha demostrado un excelente desempeño y una buena correlación entre las propiedades optoelectrónicas y químicas con su funcionamiento como matriz de MALDI. Una de las aplicaciones que han sido previamente demostradas en el grupo de investigación GIFTEX, es la ionización de muestras enriquecidas con porfirinas de níquel y vanadio a partir de petróleo⁶⁴.

Una de las características del crudo es su complejidad y el número de componentes que se encuentran divididos en sub clases (e.g. saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos). En particular, las fracciones más pesadas contienen información valiosa sobre las características del crudo, madurez y génesis. Históricamente han requerido diferentes metodologías para su análisis incluyendo optimización en los procesos de fraccionamiento, aislamiento y purificación como también en los métodos de ionización. En la actualidad, el análisis directo de componentes específicos del petróleo se mantiene como un reto para la química analítica debido a la complejidad de la muestra. Sin embargo, la alta selectividad de la espectrometría de masas MALDI por transferencia electrónica puede ser una alternativa que conduzca al análisis direccionado de componentes de interés. Las petroporfirinas de níquel y vanadio en crudos, contienen información valiosa sobre su génesis y madurez. Así pues, conocer este tipo de información, mediante un análisis directo que no involucre el uso de solventes y cromatografía es posible gracias a la ionización eficiente ET-MALDI con una matriz adecuada.

⁶⁴ GIRALDO-DÁVILA, D.; CHACÓN-PATIÑO, M. L.; RAMIREZ-PRADILLA, J. S.; BLANCO-TIRADO, C. Selective Ionization by Electron-Transfer MALDI-MS of Vanadyl Porphyrins from Crude Oils. *Fuel* 2018, 226 (January), p. 103–111.

Para demostrar la hipótesis de ionización selectiva, se escogieron dos analitos aromáticos policíclicos con estructura análoga a los PAHs (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*) y un estándar de porfirina. Estos compuestos se mezclaron, debido a que muestras como el crudo, contiene este tipo de componentes.

En la figura 21 se observa el espectro de masas que exhibe señales en m/z 178 correspondiente al antraceno, el ion m/z 330 del 9,10-difenilantraceno con una abundancia de 3.0×10^5 y el ion correspondiente a la matriz en m/z 360; allí se comprueba la dependencia que tiene el potencial de ionización para la formación de cationes-radicales. Ya que la diferencia de potencial de ionización entre la matriz y 9,10 difenilantraceno es de 1.17 mientras que ΔIP de la matriz con antraceno es de 0.96. Por tanto, entre mayor ΔIP la formación de iones se ve favorecida, indicando la capacidad de la matriz α -CNPV-CH₃ para ionizar analitos aromáticos.

Cuando se realiza el dopaje de la mezcla de hidrocarburos aromáticos con una cantidad equimolar de porfirina de níquel, los resultados cambian sustancialmente. En la figura 22, el espectro de masas exhibe una señal m/z en 590 correspondiente a la porfirina de níquel (Nickel octaethylporphyrin 6.38 eV)⁶⁵ con una abundancia superior a 3.0×10^5 . En este caso, la ionización por transferencia electrónica de la porfirina de níquel es altamente favorecida debido a la diferencia entre los potenciales de ionización (ΔIE de 2.04 eV). Cabe resaltar que, 9,10-difenilantraceno y antraceno pueden mediar la ionización de la porfirina y promover competencia entre los diferentes potenciales, manifestándose de tal manera la supresión de los analitos. También el espectro muestra pérdidas sucesivas de 15 unidades de m/z (-CH₃) mientras que la señal del antraceno desaparece y se observa una supresión considerable de la matriz, también exhibe la señal m/z en 330 del 9,10-difenilantraceno.

⁶⁵ KITAGAWA, susumu; MORISHIMA, Isao; YONEZAWA, T. Photoelectron Spectroscopic Study on Metallooctaethylporphyrins. 1979, 18 (5), p.0–4.

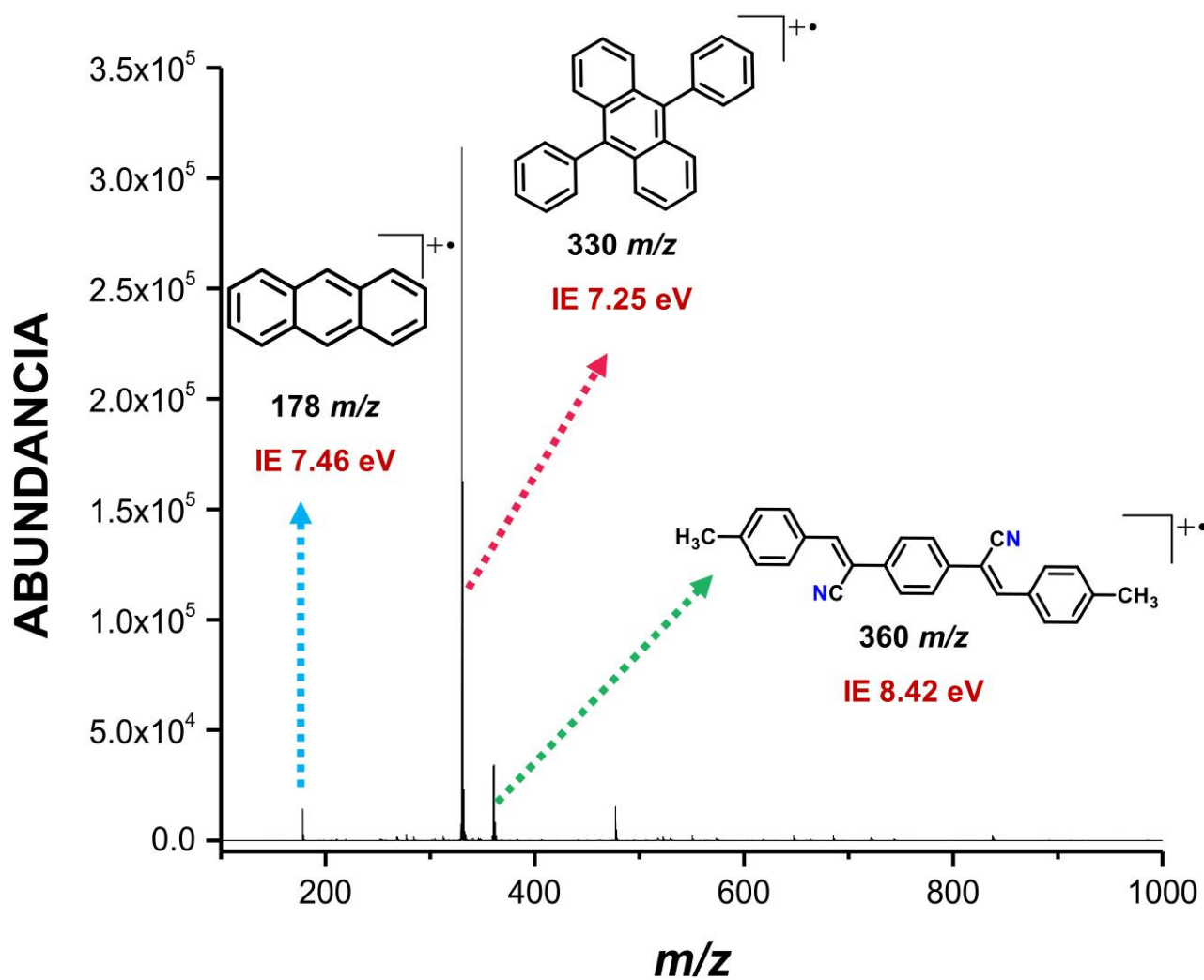


Figura 21. Espectro de masas MALDI con mezcla de analitos: Antraceno y 9,10-difenilantraceno.

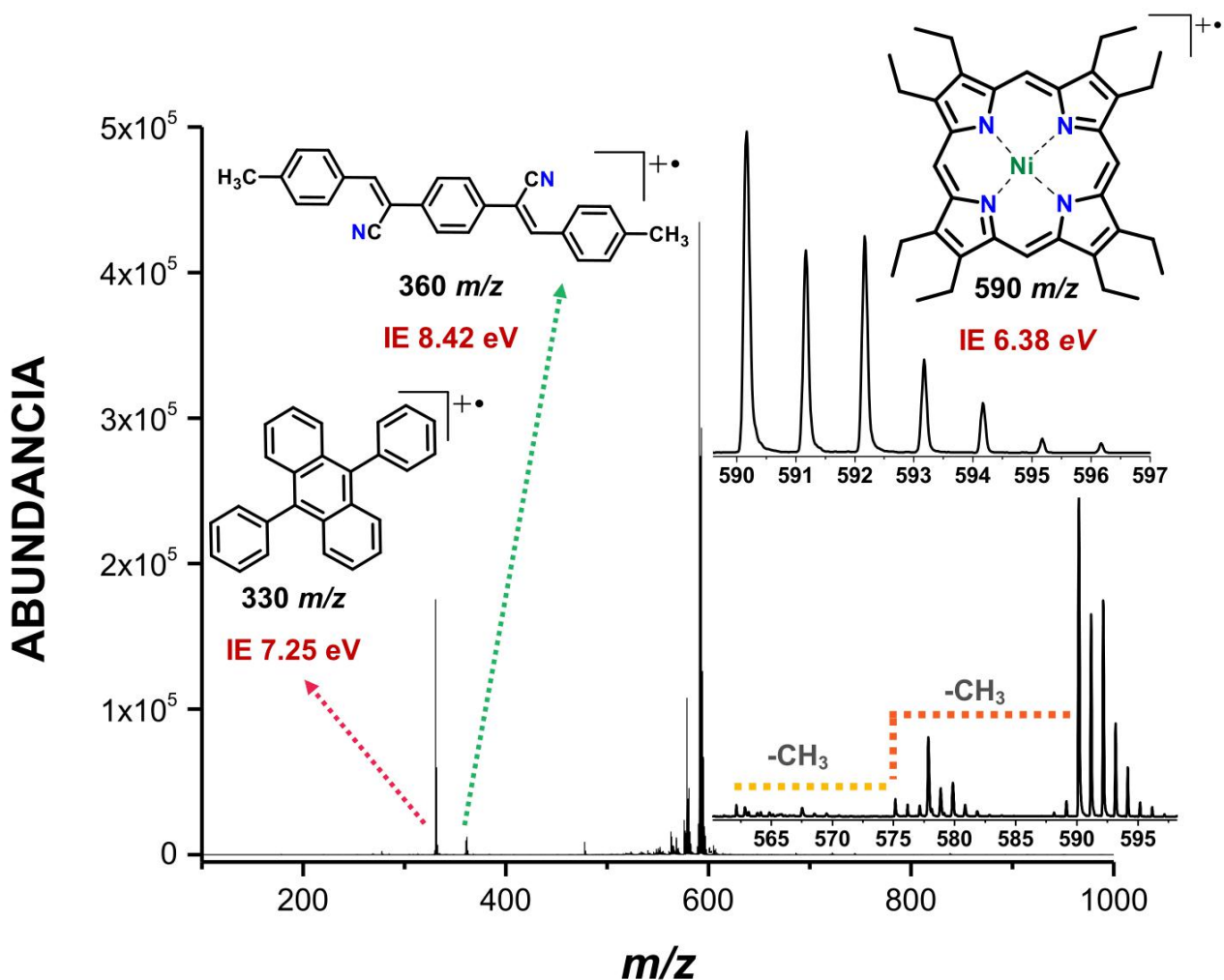


Figura 22. Espectro de masas MALDI con mezcla: Antraceno, 9,10-difenilantraceno y porfirina de níquel.

Una vez realizado estos estudios, se infiere que la matriz tiene mayor preferencia por compuestos cuyo delta de potencial de ionización sean mayores, en este caso las porfirinas, por tener potencial de ionización bajos. Tradicionalmente, el análisis de estas por espectrometría de masas se ha realizado después de purificaciones exhaustivas empleando HPLC, SPE o soxhlet-ciclografía. En la figura 23, se puede observar dos espectros MALDI-FT-ICR de alta resolución correspondientes a una fracción polar de crudo de petróleo empleando LDI y MALDI-FTICR con la matriz α -CNPV-CH₃. Donde una clara distribución correspondiente a las porfirinas

de níquel y vanadio se observó en un rango de masa de m/z 450 a 650 cuando se empleó la matriz. La diferencia significativa entre los espectros de LDI y MALDI radica en la termodinámica de las reacciones de ionización en fase gaseosa; por ejemplo, durante los experimentos de LDI, las moléculas interactúan indistintamente con los fotones provenientes del láser Nd:YAG. Por el contrario, con la presencia de la matriz, la cual se ioniza favorablemente debido a sus características optoelectrónicas, la termodinámica en la ionización de los componentes de la mezcla compleja está supeditada a la diferencia entre los potenciales de ionización.

Por consiguiente y como se mencionó en la discusión de las figuras 21 y 22. Las porfirinas de níquel y vanadio que están presentes en la mezcla compleja fueron selectivamente ionizadas durante los experimentos empleando la matriz α -CNPV-CH₃. Adicionalmente, una expansión a m/z 513 de los espectros, muestra las diferencias significativas en la ionización selectiva. Donde el espectro de LDI exhibe señales correspondientes a compuestos aromáticos de las familias N1, que pueden ser de naturaleza quinolínica o carbazólica con alta densidad electrónica lo cual permite que sean fácilmente ionizados por LDI. Contrariamente, la expansión correspondiente a los experimentos de ET-MALDI exhibe una baja contribución de estas especies aromáticas y la señal correspondiente a la porfirina de vanadio con fórmula C₃₀H₃₀N₄VO mostró un incremento significativo en la relación señal/ruido de 80 a 100.

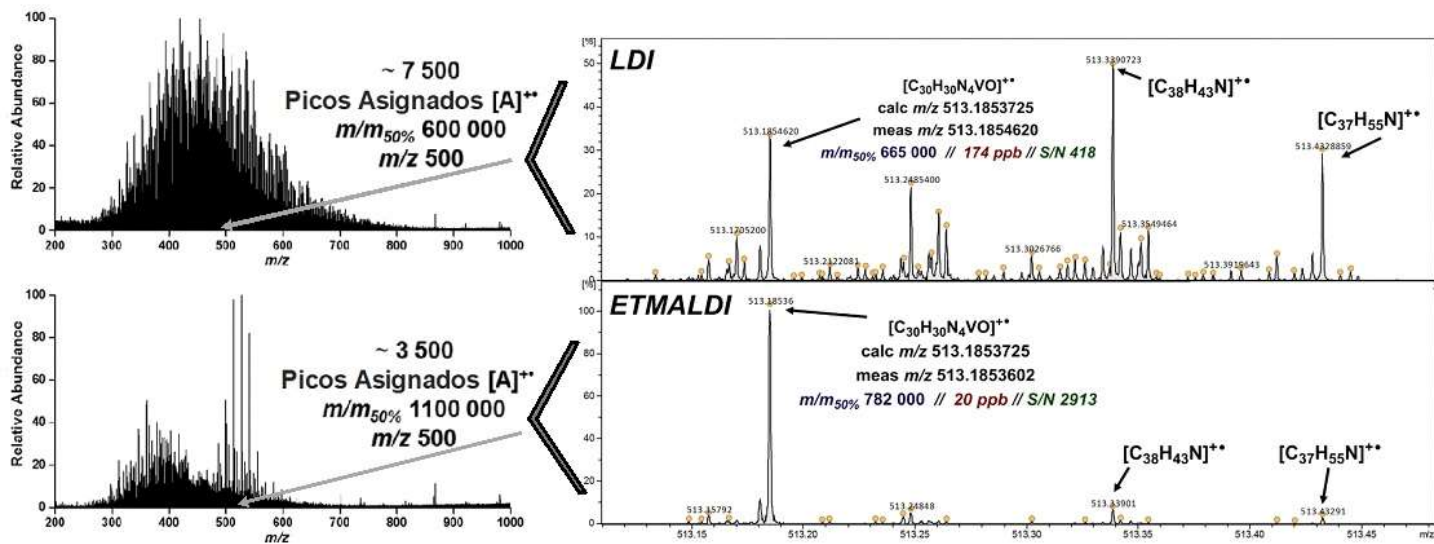


Figura 23. Espectros LDI y MALDI de alta resolución, de una fracción de crudo.

5. CONCLUSIONES

- Los compuestos sintetizados basados en sistemas fenilvinílicos absorben eficientemente los fotones UV a 355 nm con coeficientes de absorptividad mayores a 40000.
- Los derivados α -CNPVs exhibieron energías homo-lumo "Egap" entre 2.10 a 2.67 eV, lo que permite una mayor favorabilidad en la formación de especies excitadas involucradas en los procesos de formación primaria.
- El derivado α -CNPV-CH₃ exhibió una mayor eficiencia en la formación primaria de iones tipo catión radical.
- El desempeño termodinámico en las reacciones de transferencia electrónica con analitos modelo estableció la matriz α -CNPV-CH₃ como candidata para la ionización selectiva de analitos de bajo potencial de ionización.
- Se puede conocer el potencial de ionización experimental en espectrometría de masas MALDI, utilizando el método de *Bracketing* y empleando analitos modelo.

6. RECOMENDACIONES

- ❖ Analizar muestras complejas empleando la matriz α -CNPV-CH₃ teniendo en cuenta el estudio del marco termodinámico previamente realizado.

BIBLIOGRAFÍA

AMRUTHA, S. R.; JAYAKANNAN, M. Probing the Pi-Stacking Induced Molecular Aggregation in Pi-Conjugated Polymers, Oligomers, and Their Blends of P-Phenylenevinylenes. *J. Phys. Chem. B* 2008, 112 (4), 1119–1129.

BABA, M. S.; NARASIMHAN, T. S. L.; BALASUBRAMANIAN, R. Ionization and Fragmentation of An Electron Impact Ionization Study. 1995, 3020–3032.

BACH, S. B. H.; EYLER, J. R. Determination of Carbon Cluster Ionization Potentials via Charge Transfer Reactions. *J. Chem. Phys.* 1990, 92 (1), 358–363.

BELU, A. M.; *et al.* Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry for Polymer Characterization. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1996, 7 (1), 11–24.

CALVANO, C. D.; *et al.* Electron-Transfer Secondary Reaction Matrices for MALDI MS Analysis of Bacteriochlorophyll a in Rhodobacter Sphaeroides and Its Zinc and Copper Analogue Pigments. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2017, 28 (1), 125–135.

CASTELLANOS-GARCÍA, L. J.; *et al.* Oligo P-Phenylenevinylene Derivatives as Electron Transfer Matrices for UV-MALDI. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2017, 28 (12), 2548–2560.

CASTRO AGUDELO, B. A.; SIERRA AVILA, C. A. Sintesis de Sistemas Basados En Fenilenvinileno Con Potencial de Donar O Aceptar Protones, Y Su Posible Aplicacion Como Matrices Para MALDI / Brian Alejandro Castro Agudelo; Director, Cesar Augusto Sierra Avila.; 2014.

CHAURAND, P.; LUETZENKIRCHEN, F.; SPENGLER, B. Peptide and Protein Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI) and MALDI-Post-Source Decay Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1999, 10 (2), 91–103.

CHEN, G.; WONG, P.; COOKS, R. G. Estimation of Free Radical Ionization Energies by the Kinetic Method and the Relationship between the Kinetic Method and the Hammett Equation. *Anal. Chem.* 1997, 69 (17), 3641–3645.

CHEN, Guodong; COOKS, G. *JMS Letters*. Estimation of Ionization Energies of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using the Kinetic Method. *J. Mass Spectrom.* 1997, 31 (November 1996), 1996–1998.

CRISTANCHO GONZÁLEZ, L. M. *Diseño Racional Y Síntesis de Nuevas Matrices MALDI de Transferencia Electrónica Basada En 2,7-Dibromofluoreno*; 2016.

DE SOUZA, M. M.; *et al.* Theoretical and Experimental Study of Cyano- and Alkoxy-Substituted Phenylenevinylene Model Compounds. *Synth. Met.* 2000, 111, 539–543.

DREISEWERD, K. *The Desorption Process in MALDI*; 2003.

EHRING, H.; KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Role of Photoionization and Photochemistry in Ionization Processes of Organic Molecules and Relevance for Matrix-assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. *Org. Mass Spectrom.* 1992, 27 (4), 472–480.

FENNER, N. C.; DALY, N. R. Laser Used for Mass Analysis. *Rev. Sci. Instrum.* 1966, 37 (8), 1068–1070.

FITZGERALD, M. C.; SMITH, L. M. NUCLEIC ACIDS: The Promise of Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization (MALDI) Mass Spectrometry. *Instrumentation* 1995, 24, 40–117.

FUCHS, B.; SÜß, R.; SCHILLER, J. An Update of MALDI-TOF Mass Spectrometry in Lipid Research. *Prog. Lipid Res.* 2010, 49 (4), 450–475.

GROSS, J. H. *Mass Spectrometry*; 2000; Vol. 16.

HÜFNER, S. *Photoelectron Spectroscopy Principles and Applications*, 3rd ed.; Springer Berlin Heidelberg: Alemania, 1935.

JUHASZ, P.; COSTELLO, C. E. Generation of Large Radical Ions from Oligometallocenes by Matrix-assisted Laser Desorption Ionization. *Rapid Commun. mass ...* 1993, 7 (March), 343–351.

KARAS, M.; BACHMANN, D.; HILLENKAMP, F. Influence of the Wavelength in High-Irradiance Ultraviolet Laser Desorption Mass Spectrometry of Organic Molecules. *Anal. Chem.* 1985, 57 (14), 2935–2939.

KARAS, M.; HILLENKAMP, F. Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10,000 Daltons. *Anal. Chem.* 1988, 60 (20), 2299–2301.

KARAS, M.; KRÜGER, R. Ion Formation in MALDI: The Cluster Ionization Mechanism. *Chem. Rev.* 2003, 103 (2), 427–439.

KITAGAWA, susumu; MORISHIMA, Isao; YONEZAWA, T. Photoelectron Spectroscopic Study on Metallooctaethylporphyrins. 1979, 18 (5), 0–4.

KNOCHENMUSS, R. Ion Formation Mechanisms in UV-MALDI. *Analyst* 2006, 131 (9), 966–986.

KNOCHENMUSS, R. MALDI Mechanisms: Wavelength and Matrix Dependence of the Coupled Photophysical and Chemical Dynamics Model. *Analyst* 2014, 139 (1), 147–156.

KNOCHENMUSS, R. The Coupled Physical and Chemical Dynamics Model of MALDI. 2016, No. March 1–21.

KNOCHENMUSS, R.; ZENOBI, R. MALDI Ionization: The Role of in-Plume Processes. *Chem. Rev.* 2003, 103 (2), 441–452.

KOVAC, B.; SCHOOF, S.; GIISTEN, H. Photoelectron Spectroscopy of 9-Substituted Anthracenes. 1978, 51 (4), 307–315.

LI, C.; *et al.* Effect of Cyano-Substitution in Distyrylbenzene Derivatives on Their Fluorescence and Electroluminescence Properties. *J. Mater. Chem. C* 2016, 4 (31), 7478–7484.

LOPEZ, R.; GOMEZ, R. Band-Gap Energy Estimation from Diffuse Reflectance Measurements on Sol – Gel and Commercial TiO₂: A Comparative Study. 2012, 1–7.

MACHA, S. F.; MCCARLEY, T. D.; LIMBACH, P. A. Influence of Ionization Energy on Charge-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 1999, 397 (1–3), 235–245.

MCCARLEY, T. D.; MCCARLEY, R. L.; LIMBACH, P. A. Electron-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 1998, 70 (20), 4376–4379.

NAZIM BOUTAGHOU, M.; COLE, R. B. 9,10-Diphenylanthracene as a Matrix for MALDI-MS Electron Transfer Secondary Reactions. *J. Mass Spectrom.* 2012, 47 (8), 995–1003.

OVERBERG, A.; KARAS, M.; HIILENKAMP, F. Matrix-Assisted Laser Desorption of Large Biomolecules with a TEA-CO₂-Laser. 1991, 5 (3), 128–131.

POND, S. J. K.; *et al.* One- and Two-Photon Spectroscopy of Donor-Acceptor-Donor Distyrylbenzene Derivatives: Effect of Cyano Substitution and Distortion from Planarity. *J. Phys. Chem. A* 2002, 106 (47), 11470–11480.

QIAN, K.; *et al.* Measurement of Total Acid Number (TAN) and TAN Boiling Point Distribution in Petroleum Products by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2008, 80 (3), 849–855.

ROBERTSON, J. M.; SCHLOGL, R. Photoelectron Spectra of Polynuclear Aromatics. 6. Applications to Structural Elucidation: “Circumanthracene. 1991, 4617 (1974), 1320–1328.

ROHMER, M.; *et al.* 3-Aminoquinoline Acting as Matrix and Derivatizing Agent for Maldi Ms Analysis of Oligosaccharides. *Anal. Chem.* 2010, 82 (9), 3719–3726.

ROSALES SOLANO, H. F. A. Ensayo de Compuestos Con Núcleo de Fenilenvinileno Como Matrices MALDI; 2013.

SRINIVASA, N.; *et al.* Investigation of MALDI TOF Mass Spectrometry of Diverse Synthetic Metalloporphyrins, Phthalocyanines and Multiporpyrin Arrays. *J. Porphyr. Phthalocyanines* 1999, 3, 283–291.

STAHL, D.; MAQUIN, F. Charge-Stripping Mass Spectrometry of Molecular Ions from Polyacenes and Molecular Orbital Theory. *Chem. Phys. Lett.* 1984, 108 (6), 613–617.

STANKOVIC, A. RSC Advances Simultaneous Enhancement of Natural Sunlight- and Arti Fi Cial UV-Driven Photocatalytic Activity of a Mechanically Activated ZnO / SnO 2 Composite. 2017, 7, 42725–42737.

STUTZMAN, J. R.; MCLUCKEY, S. A. Ion/ion Reactions of MALDI-Derived Peptide Ions: Increased Sequence Coverage via Covalent and Electrostatic Modification upon Charge Inversion. *Anal. Chem.* 2012, 84 (24), 10679–10685.

TANAKA, K.; *et al.* Protein and Polymer Analyses up to M/z 100 000 by Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1988, 2 (8), 151–153.

TANDON, S.; Gupta, J. Measurement of Forbidden Energy Gap of Semiconductors by Diffuse Reflectance Technique. 1970, 363, 363–367.

ULMER, L.; *et al.* Letter: The Use of 2-[(2E)-3-(4-Tert-Butylphenyl)-2- Methylprop-2-Enylidene] malononitrile as a Matrix for Matrix-Assisted Laser Desorption/ionization Mass Spectrometry. *Eur. J. Mass Spectrom.* 2000, 6 (1), 49.

VANDERFORD, B. J.; *et al.* Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2003, 75 (22), 6265–6274.

VASIL, Y. V.; *et al.* Electron Transfer Reactivity in Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization (MALDI): Ionization Energy, Electron Affinity and Performance of the DCTB Matrix within the Thermochemical Framework. 2006, No. reaction 2, 5967–5972.

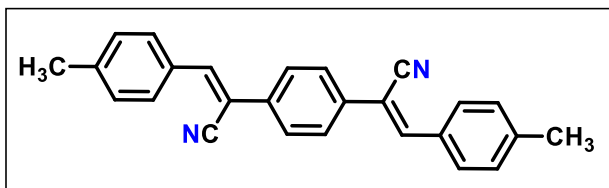
VASTOLA, F. J.; MUMMA, R. O.; PIRONE, A. J. Analysis of Organic Salts by Laser Ionization. *Org. Mass Spectrom.* 1970, 3 (1), 101–104.

WESTMACOTT, G.; *et al.* The Influence of Laser Fluence on Ion Yield in Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. 2002, 221, 67–81.

WONG, P. S.; MA, S.; COOKS, R. G. Ionization Energy Determination by the Kinetic Method. *Anal. Chem.* 1996, 68 (23), 4254–4256.

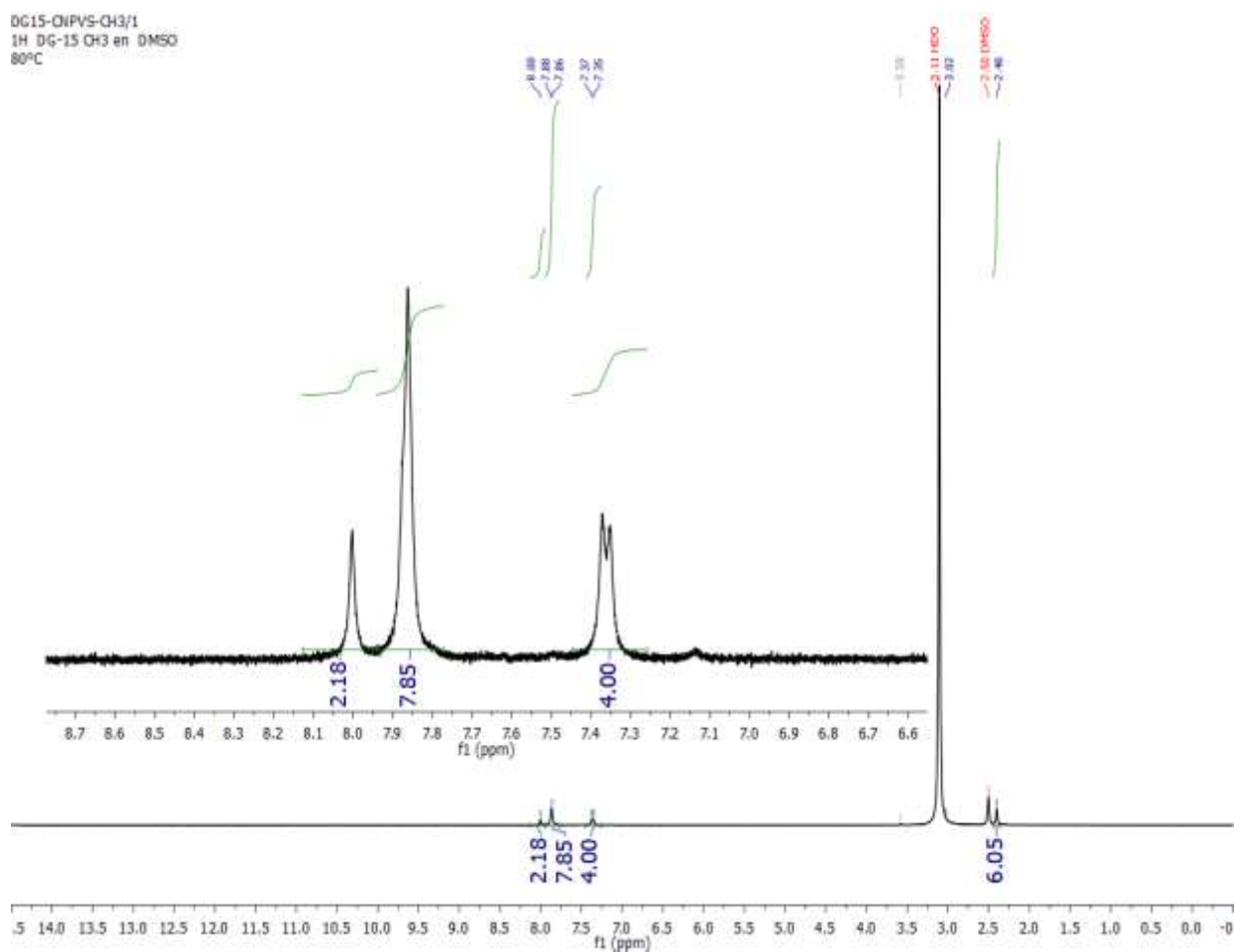
ANEXOS

ANEXO A: Espectro RMN-¹H del derivado α-CNPV-CH₃

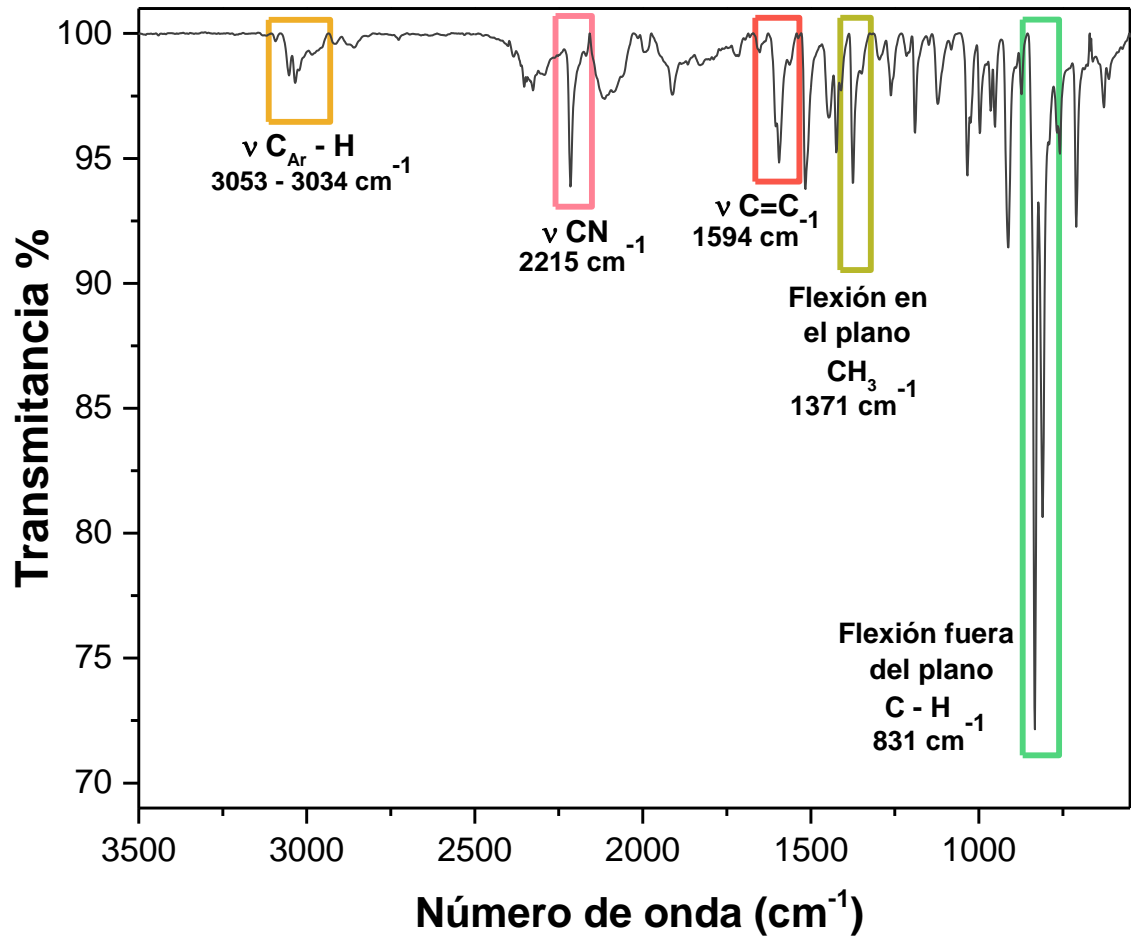


RMN-¹H (400 MHz, DMSO) : δ
2.40 (s, *J* = 6.05 Hz, 6H), 7.85
(d, *J* = 7.85 Hz, 4H), 8.00 (s, *J*
= 2.18 Hz, 2H), 7.37 (d, *J* =
4.00 Hz, 4H)

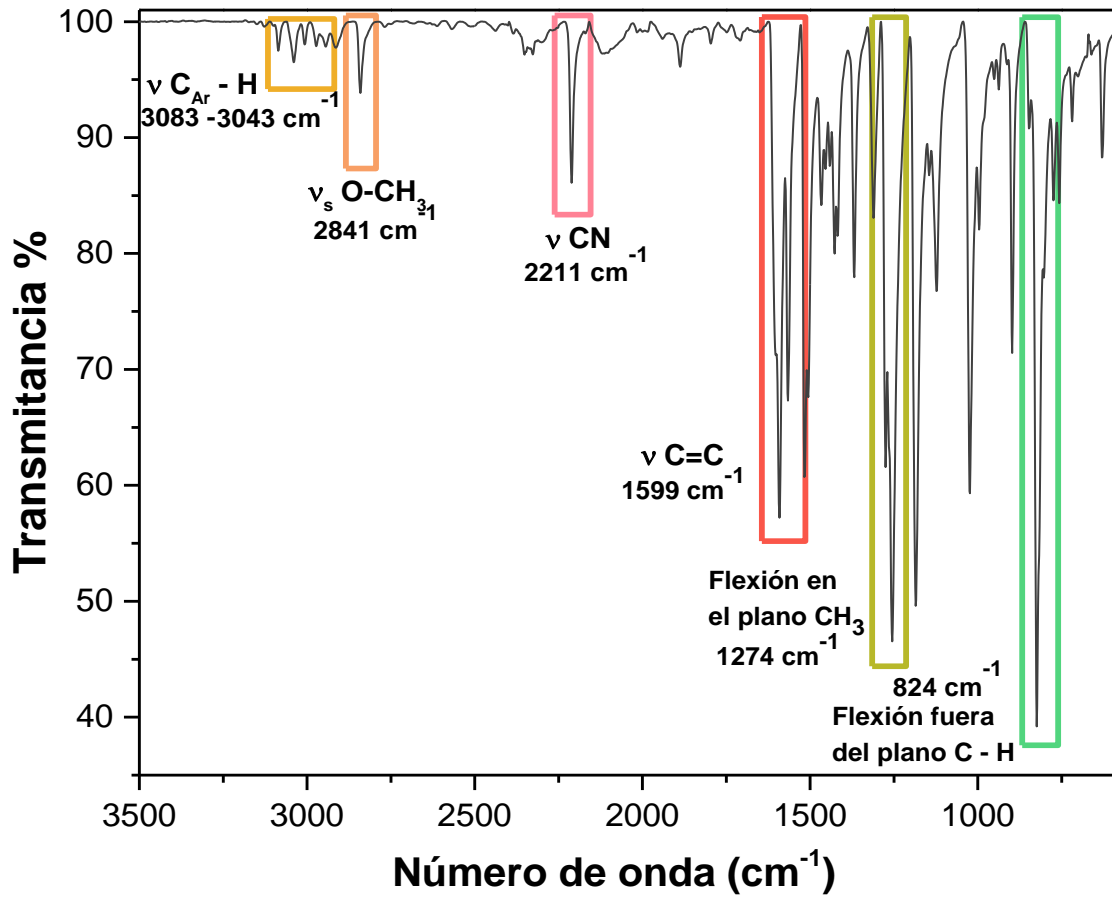
DG15-ONPVS-CH3/1
1H DG-15 CH3 en DMSO
80°C



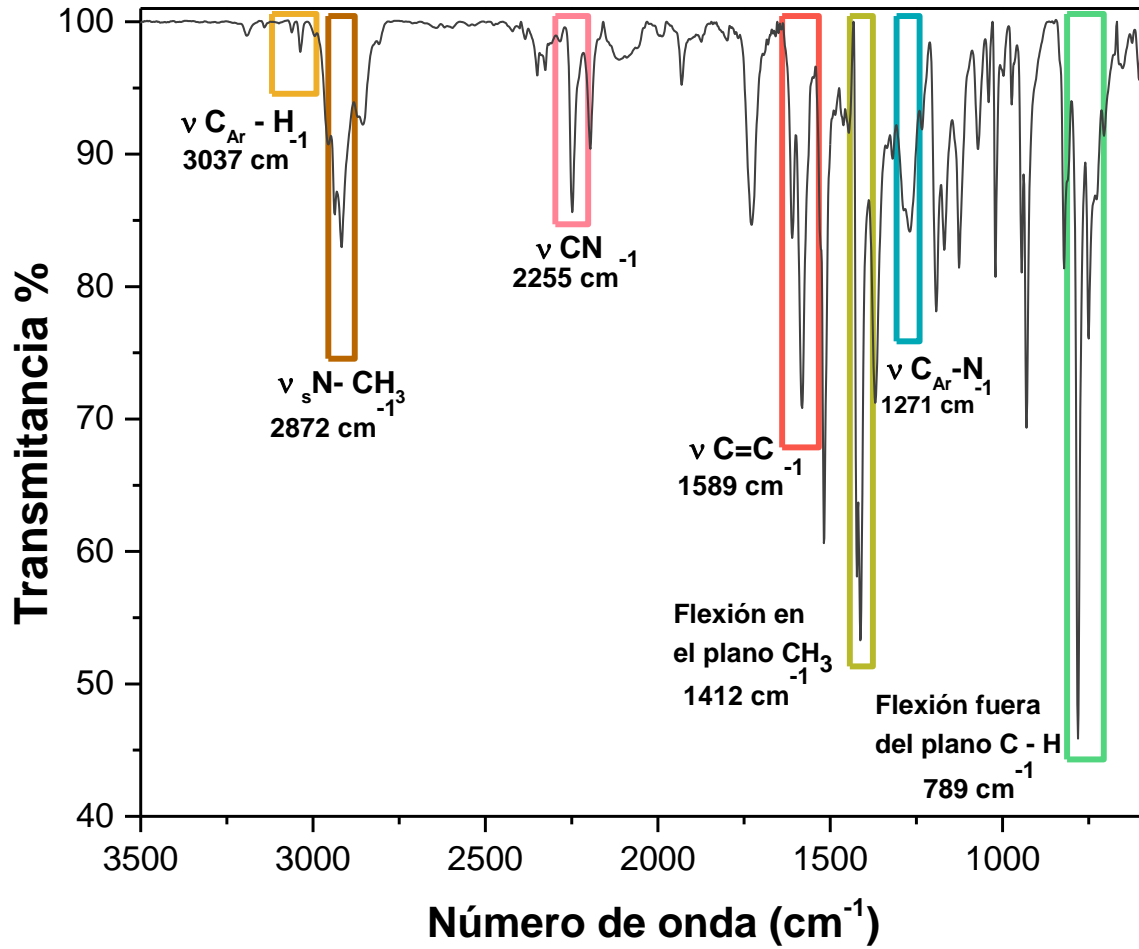
ANEXO B: Espectro de infrarrojo del α -CNPV-CH₃



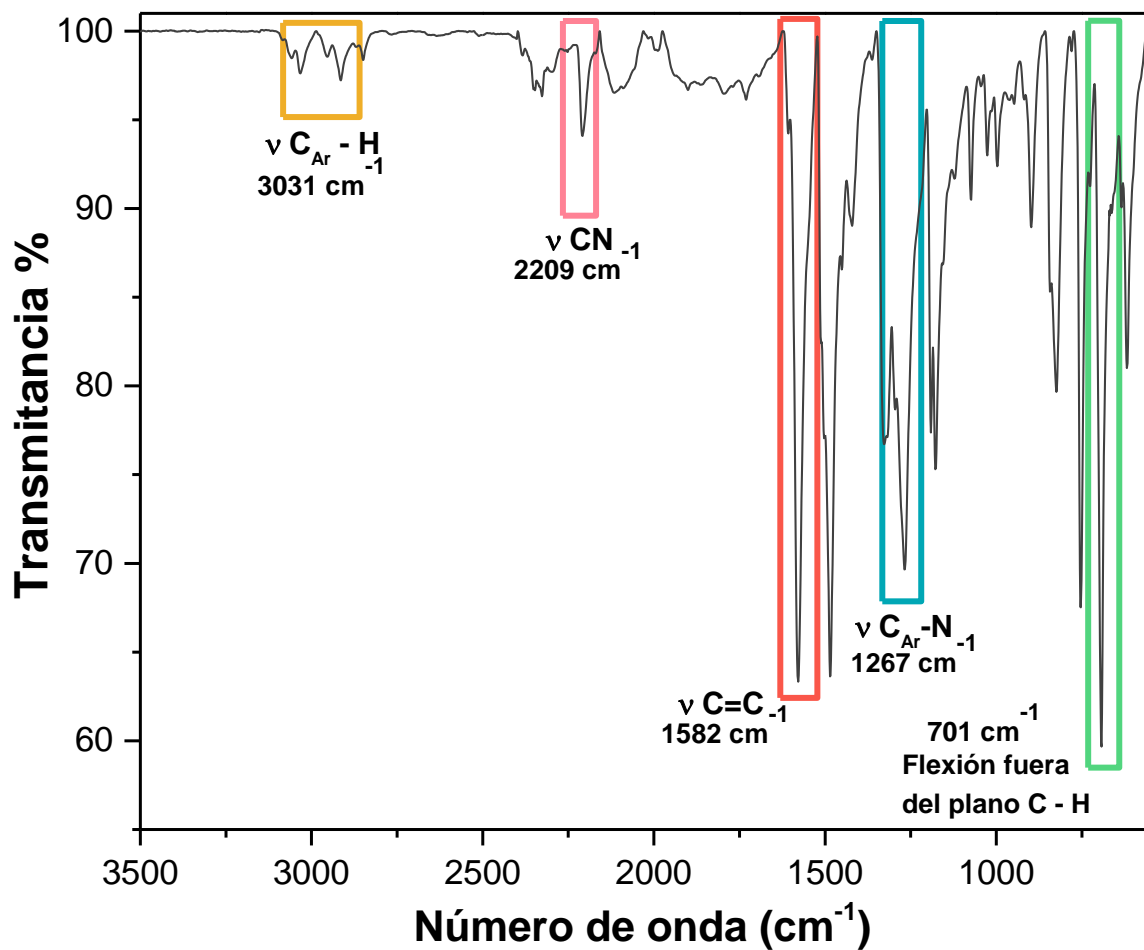
ANEXO C: Espectro de infrarrojo del α -CNPV- OCH₃



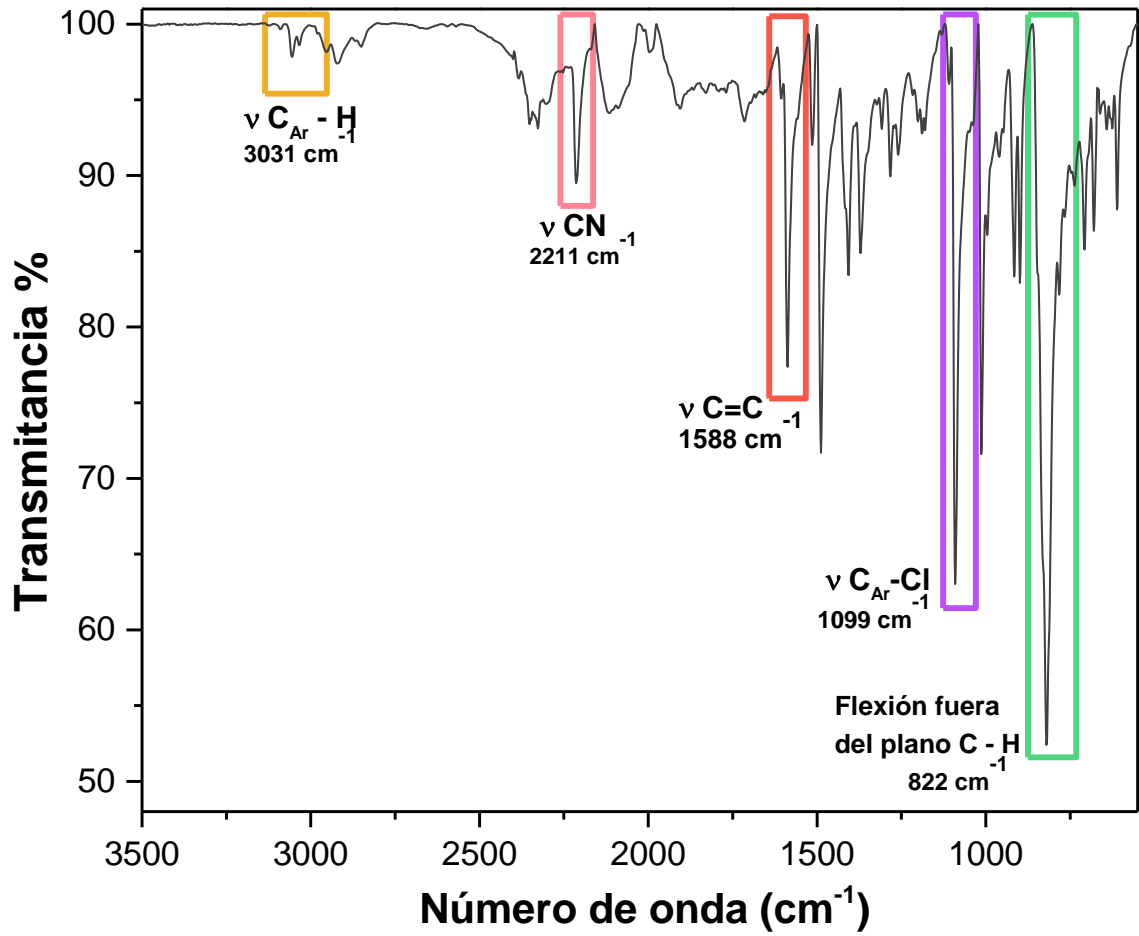
ANEXO D: Espectro de infrarrojo del α -CNPV- N(CH₃)₂



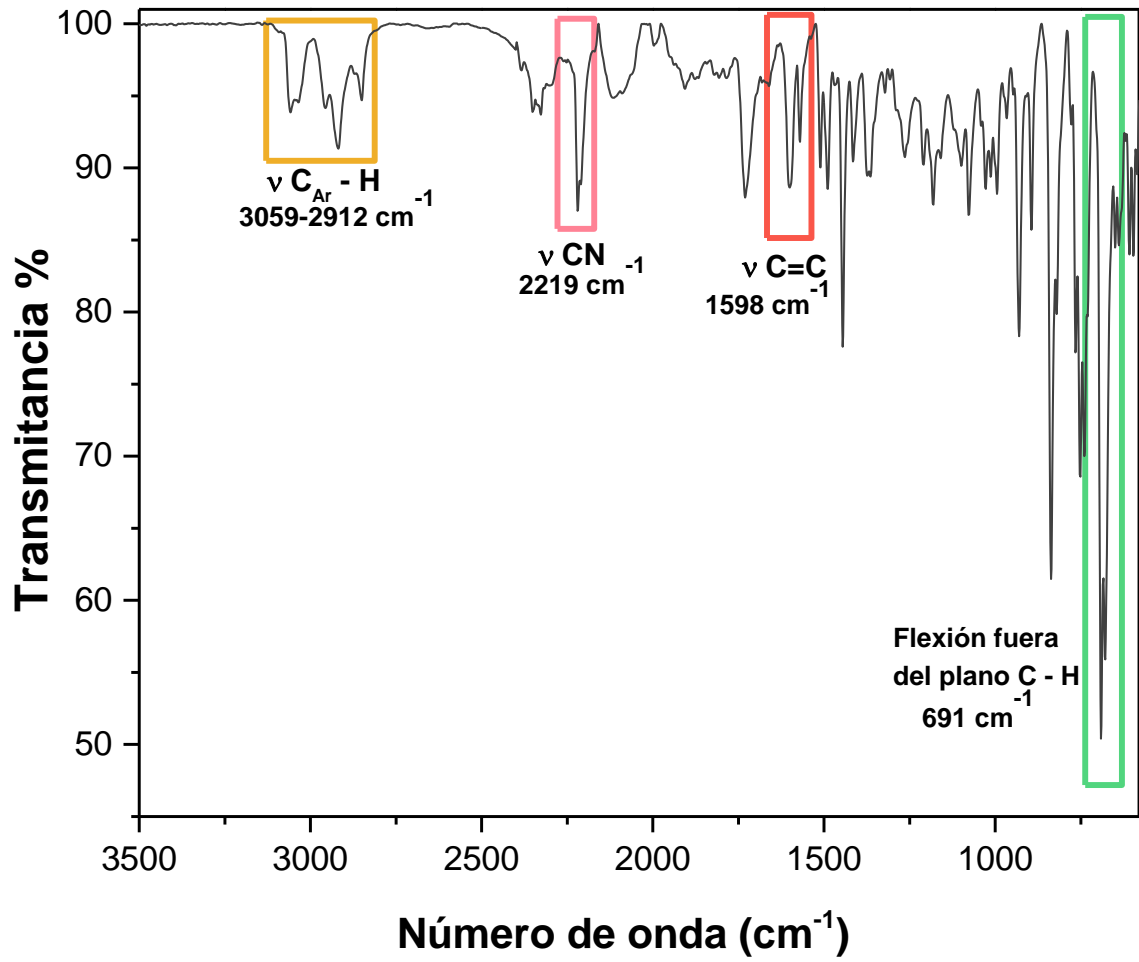
ANEXO E: Espectro de infrarrojo del α -CNPV- N(Ph)₂



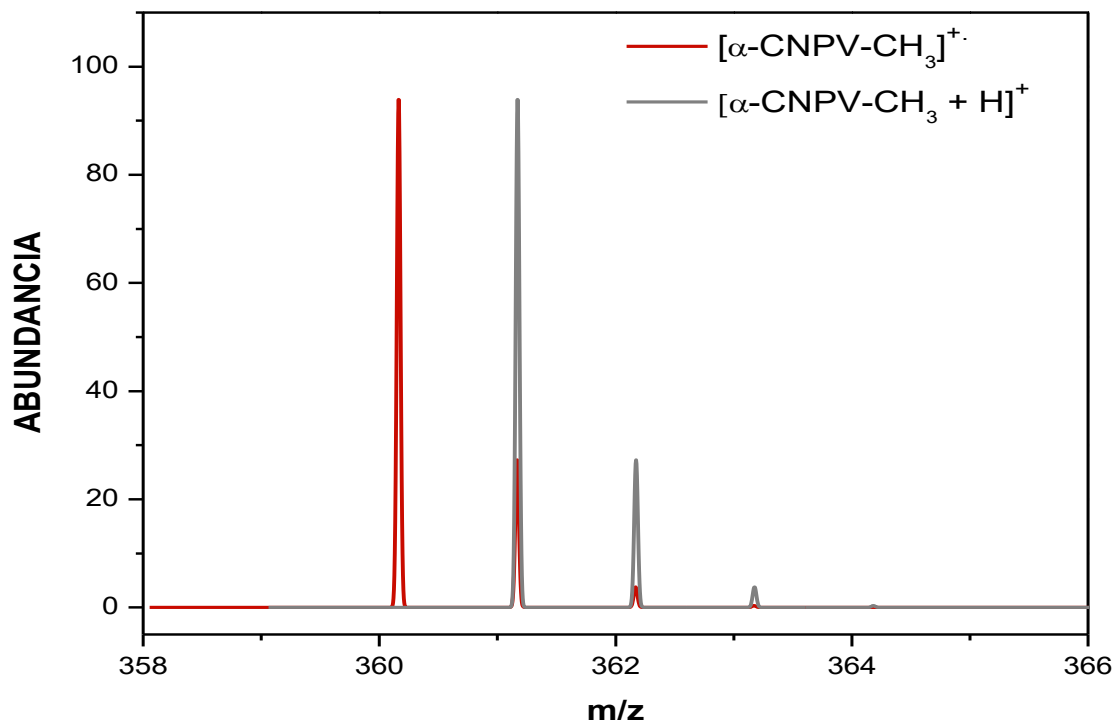
ANEXO F: Espectro de infrarrojo del α -CNPV- Cl



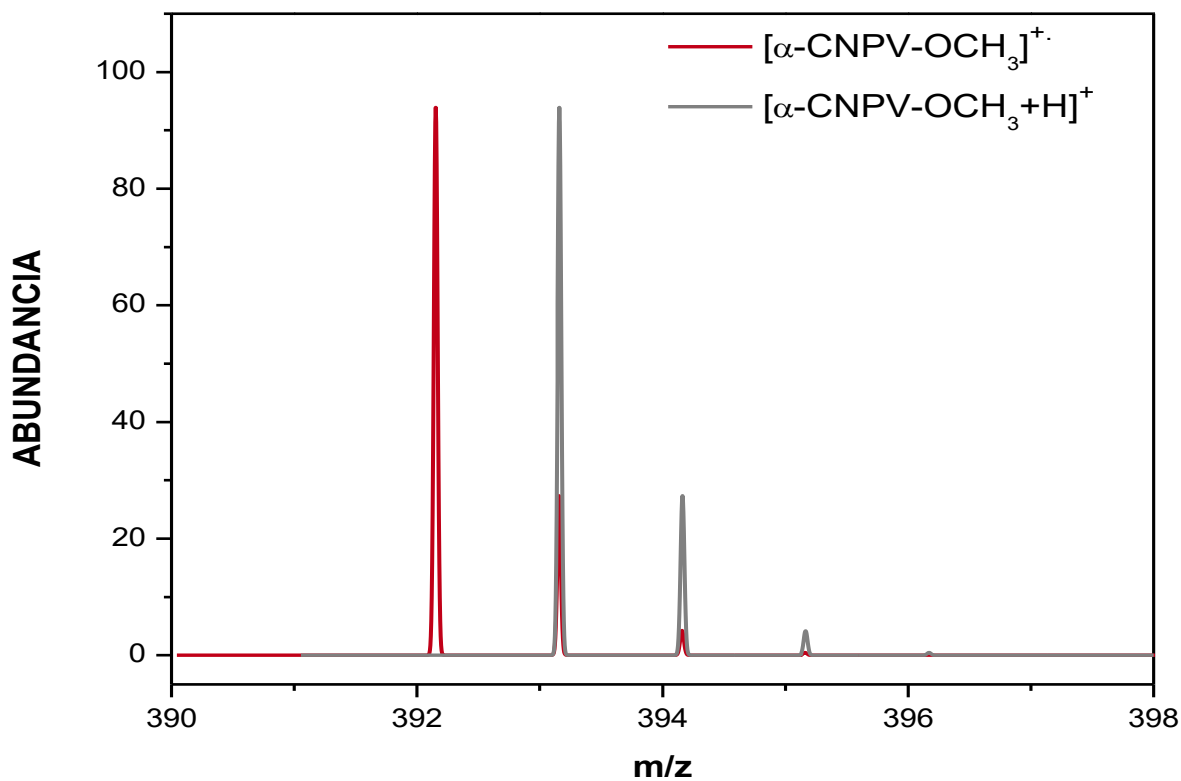
ANEXO G: Espectro de infrarrojo del α -CNPV-H



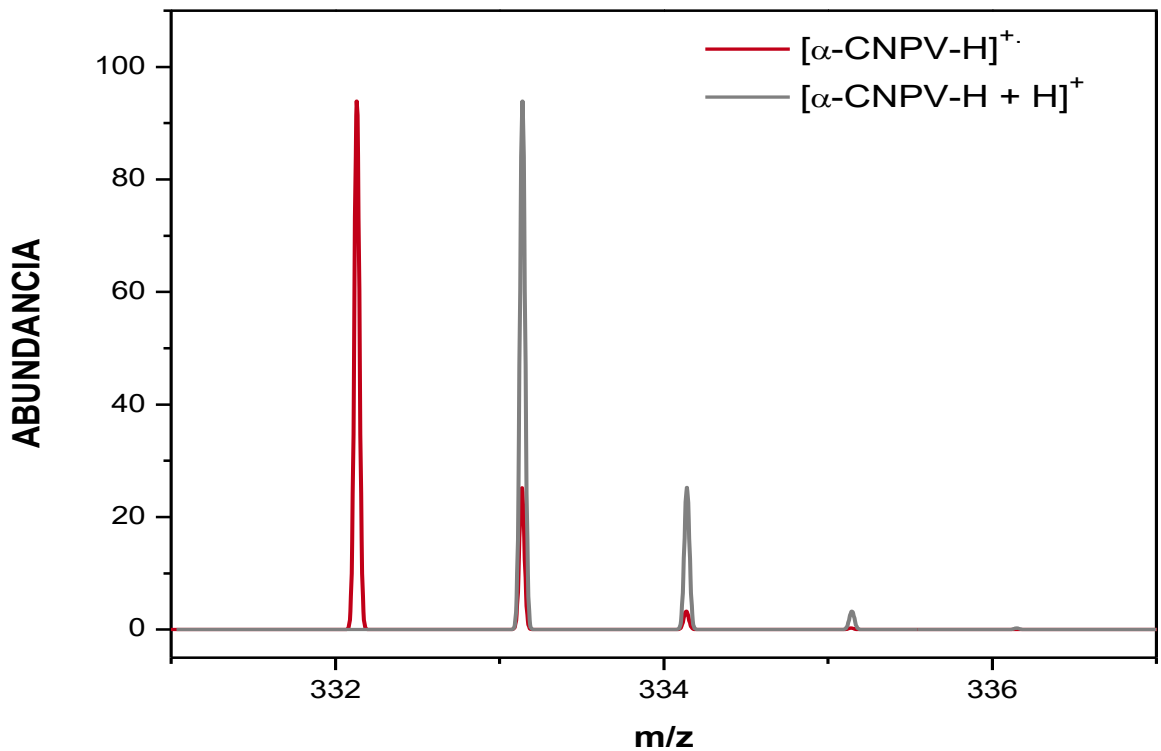
ANEXO H: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV-CH₃



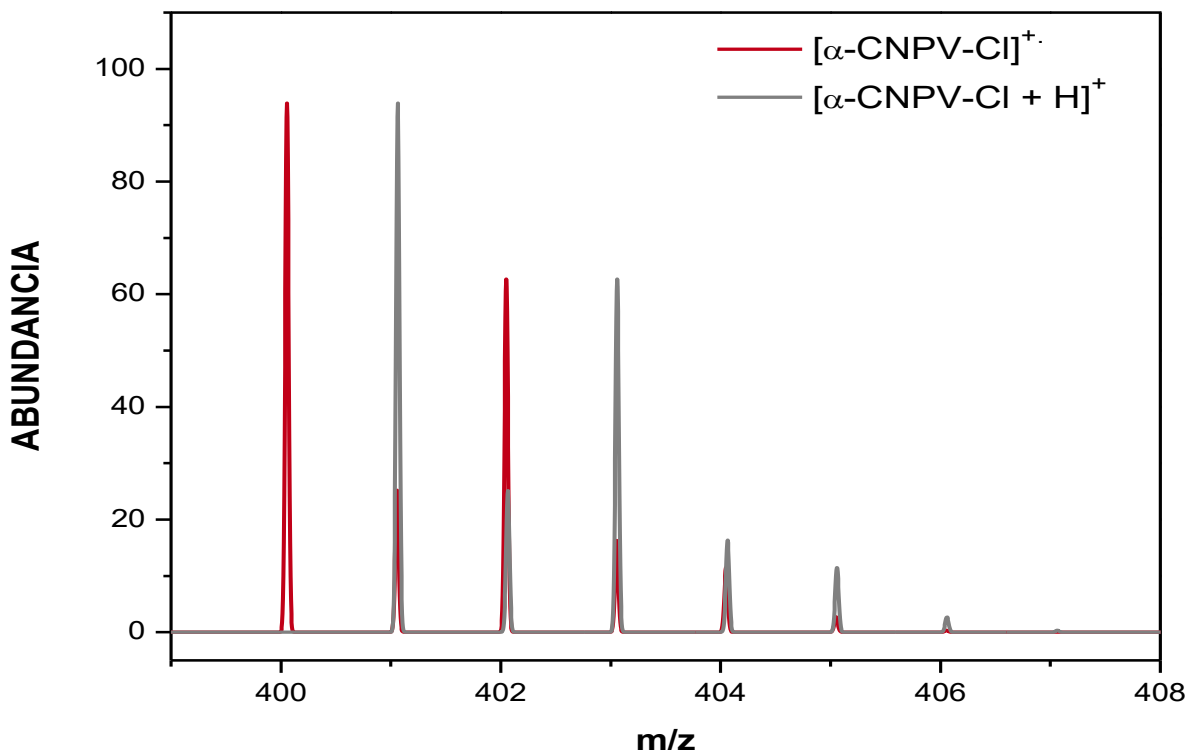
ANEXO I: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV-OCH₃



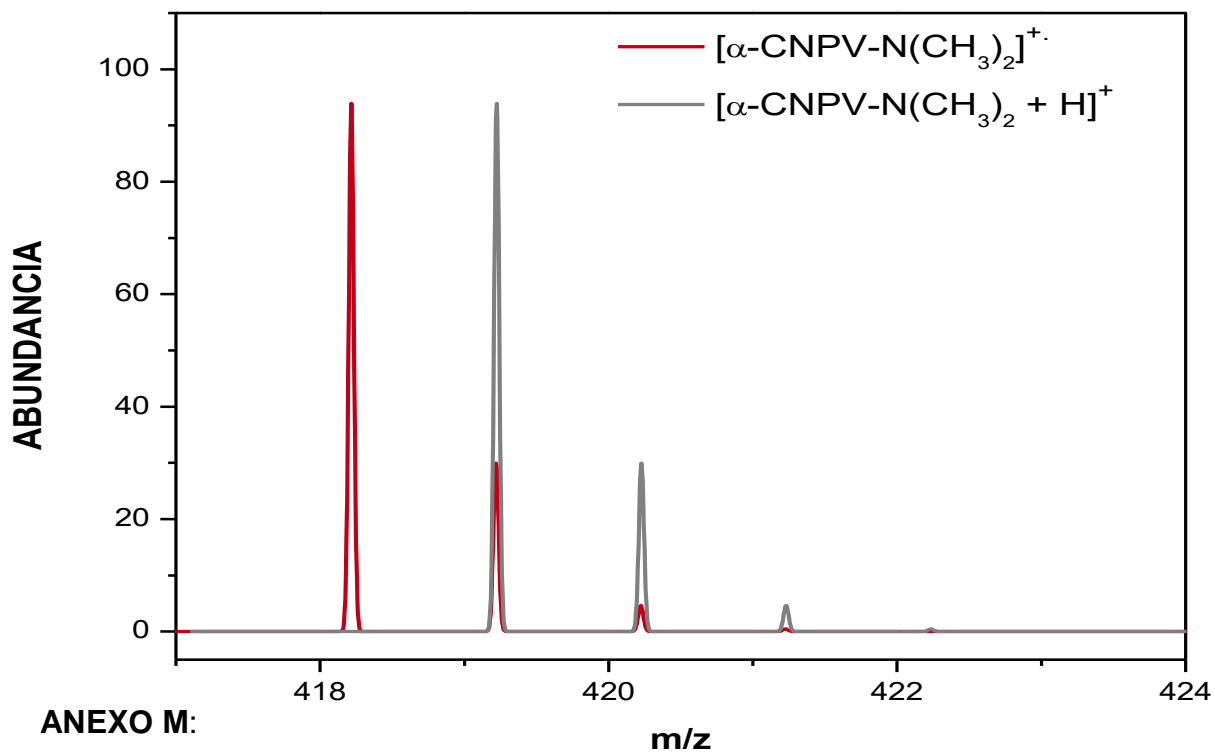
ANEXO J: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV-H



ANEXO K: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV-Cl



ANEXO L: Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV- $N(CH_3)_2$



ANEXO M:

Espectro simulado del ion catión radical e ion protonado α -CNPV- $N(Ph_2)_2$

