

**Reactividad en fase gaseosa de sistemas orgánicos Donor-Aceptor basados en trifenilamina  
en MALDI MS**

**Bryan David Hernández Baca**

**Trabajo de Grado para Optar al Título de Químico**

**Director**

**Julio Roberto Pinzón Joya**

**Químico, Ph.D.**

**Codirector**

**Luis Miguel Díaz Sánchez**

**Químico, M.Sc.**

**Universidad Industrial De Santander**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela de Química**

**Bucaramanga**

**2023**

## **Dedicatoria**

*A mi Dios, porque por él, y para él son todas las cosas.*

*A mis padres Patricia Baca y Albeiro Hernández, quienes con su amor y apoyo incondicional estuvieron conmigo en el transcurso de la carrera.*

*A mi hermana Briany Hernández, por creer en mí.*

### **Agradecimientos**

Agradezco primeramente a mi Dios, por su guía, su amor inconmensurable, y por darme fuerzas para seguir adelante. A mi familia, en especial mis padres Patricia y Albeiro por siempre estar presentes, a mi hermana Briany por su gran amor, a mi abuela Adela por sus oraciones, y a mi tía Alicia Woodal por ser parte de mi vida y por su apoyo incondicional en todo tiempo.

Agradezco a la Universidad Industrial de Santander por haberme permitido formarme profesionalmente y por ser la sede de todo el conocimiento adquirido en estos años. Asimismo, a mi director Julio pinzón por sus recomendaciones, a la profesora Marianny Combariza por su tiempo y orientación, a mi codirector Luis Miguel Díaz por su tiempo, acompañamiento, y por darme la oportunidad de ser parte de este proyecto, a Mauricio Cerón por sus consejos teóricos y prácticos. De igual manera, agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión (2815 UIS-VIE-2021), por el apoyo financiero para llevar a cabo el proyecto.

Agradezco a mi congregación Idelan Vida Nueva por ser fuente de alegría durante el transcurso de mi carrera.

Agradezco a mi amigo Juan Esteban por su ayuda incondicional, a Yesica y Tatiana por transmitirme de sus conocimientos prácticos, a Maicol Avellaneda y Laura Corredor por su gran compañía en el laboratorio. Asimismo, a mis amigos Gerson Orduz, Jorge Hereira, Andrea Martínez, Juliana Meza, Patricia Cuellar, Vanessa Zambrano, Daniela Rueda, Yenifer Martínez, por ser parte de mi vida y de este proceso.

Agradezco a las familias Camacho Pinzón, Gómez Rivera, y Pinzón Peña por ser aquello a lo que puedo llamar familia en estas tierras santandereanas.

A todos, muchas gracias

**Tabla de Contenido**

	<b>Pag.</b>
INTRODUCCIÓN .....	16
2. Objetivos.....	18
2.1 Objetivo general .....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. Marco Referencial .....	19
3.1 Espectrometría de masas .....	19
3.2 Ionización/Desorción Láser .....	20
3.3 Ionización/Desorción Láser Asistida por una Matriz.....	20
3.3.1 Ionización en MALDI .....	21
3.4 Matrices MALDI.....	23
3.5 Sistemas orgánicos Donor-Aceptor.....	26
3.5.1 Trifenilamina como sistema donador de electrones .....	30
3.6 Pigmentos de origen vegetal .....	32
4. Metodología .....	36
4.1 Síntesis de los sistemas orgánicos Donor-Aceptor .....	36
4.1.1 Síntesis de 4-difenilaminobenzaldehído mediante la reacción de Hartwig-Buchwald .....	37
4.1.2 Síntesis de difenilaminobenzaldehído mediante la reacción de Vilsmeier Haack .....	38
4.1.3 Síntesis de 4-(2,2-dicianovinil) trifenilamina .....	39
4.1.3 Síntesis del ácido propanodioico, 2-[[4-(difenilamino)fenil]metileno]-, éster 1,3-dimetil (ACI) .....	40
4.2 Determinación y caracterización de las propiedades espectroscópicas y optoelectrónicas de los sistemas D-A sintetizados .....	41

4.2.1 Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{H}$ .....	41
4.2.2 Espectroscopía UV-Vis. ....	41
4.2.3 Espectroscopía de Reflectancia difusa. ....	41
4.2.4 Espectroscopía de Fluorescencia.....	42
4.2.5 Espectrometría de masas LDI. ....	42
4.2.6 Cálculos de Energía de ionización. ....	44
4.2.7 Experimentos MALDI. ....	45
5. Discusión de resultados .....	47
5.1 Síntesis de sistemas orgánicos Donor-Aceptor.....	47
5.2 Determinación y caracterización de las propiedades espectroscópicas y optoelectrónicas de los sistemas D-A sintetizados. ....	54
5.2.1 Espectroscopía UV-Vis .....	54
5.2.2 Espectroscopía de reflectancia difusa (DRS).....	57
5.2.3 Espectroscopía de fluorescencia molecular .....	60
5.2.4 Espectrometría de masas LDI .....	63
5.2.5 Curvas de aparición de iones .....	71
5.2.6 Cálculos de Energía de ionización ( $E_i$ ) .....	76
5.3 Evaluación de los sistemas D-A como matrices MALDI de transferencia electrónica-ET. ...	77
5.3.1 Identificación de pigmentos derivados de clorofila .....	77
5.3.2 Identificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos .....	79
6. Conclusiones .....	84
7. Recomendaciones.....	85
Referencias bibliográficas .....	86

### Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Condiciones de la preparación de la muestra para el análisis MALDI de pigmentos de origen vegetal (derivados de clorofila), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y Ni-ftalocianina. ....	45
<b>Tabla 2.</b> Comparación de las abundancias relativas obtenidas de la TFA-CN en el ensayo LDI en modo positivo comparada con la abundancia relativa calculada en el programa <i>IsotopePattern</i> .....	64
<b>Tabla 3.</b> Identificación de compuestos D-A en LDI modo positivo y negativo con su fórmula molecular, masa experimental, masa calculada, exactitud de masa relativa y su relación S/N. ....	65
<b>Tabla 4.</b> Comparación de las abundancias relativas obtenidas de la TFA-COOCH <sub>3</sub> en el ensayo LDI en modo positivo comparada con la abundancia relativa calculada en el programa <i>IsotopePattern</i> .....	69
<b>Tabla 5.</b> Valores de la pendiente <b>m</b> para los compuestos D-A sintetizados (TFA-CN y TFA-COOCH <sub>3</sub> ), algunos compuestos basados en $\alpha$ -cianofenilenvinilenos, y una matriz comercial DCTB . ....	73
<b>Tabla 6.</b> Valores de E <sub>i</sub> calculados por el método HF para el DCTB, y los compuestos D-A basados en el núcleo de trifenilamina. ....	76
<b>Tabla 7.</b> Identificación de los derivados de la clorofila (mezcla de pigmentos) utilizando TFA-COOCH <sub>3</sub> como matriz de transferencia electrónica, con la masa molecular de cada especie, la masa experimental, masa calculada, y la relación S/N de la señal observada en el espectro de masas. ....	78

**Tabla 8.** Identificación de dos HAP y de Ni-Ftalocianina con TFA-COOCH<sub>3</sub> y DCTB como matrices de transferencia electrónica, y con uso de un 40 % de la energía del láser. ....81

**Tabla 9.** Comparación de relaciones S/N de los analitos analizados por MALDI en modo ion positivo utilizando DCTB y TFA-COOCH<sub>3</sub> como matrices de transferencia electrónica. Asimismo, se tomaron datos de análisis de estos compuestos con CNPV-CH<sub>3</sub> y CNPV-OCH<sub>3</sub> como matrices ET .....82

**Lista de figuras**

<b>Figura 1.</b> Cuatro principales etapas en la espectrometría de masas.....	20
<b>Figura 2.</b> Esquema de la ionización primaria en MALDI MS.....	22
<b>Figura 3.</b> Esquema de la fotoionización y las vías de reacción posteriores en MALDI MS.....	23
<b>Figura 4.</b> Estructura química de algunas matrices comerciales utilizadas para el análisis por MALDI MS. ....	25
<b>Figura 5.</b> Funcionamiento general de un sistema donor-aceptor.....	27
<b>Figura 6.</b> Diagrama de energía general de las posibles vías de transferencia de carga en un sistema Donor – Aceptor (D-A).....	28
<b>Figura 7.</b> Escala temporal en la espectrometría de masas. ....	29
<b>Figura 8.</b> A) Deslocalización del par de electrones en la molécula de Trifenilamina, B) Resonancia de TFA al extraer un electrón.....	31
<b>Figura 9.</b> Clasificación de clorofilas con su respectiva longitud de onda de absorción. ....	33
<b>Figura 10.</b> Estructura química de las clorofilas a ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ) y b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ) con su respectivo espectro de absorción UV-Vis. ....	34
<b>Figura 11.</b> Primer paso de reacción: síntesis del 4-difenilamino-benzaldehído por medio de una reacción de Hartwig-Buchwald.....	37
<b>Figura 12.</b> Primer paso de reacción: síntesis del 4-difenilamino-benzaldehído por medio de una reacción de Vilsmeier Haack. ....	38
<b>Figura 13.</b> Segundo paso de reacción: síntesis de 4-(2,2-dicianovinil) trifenilamina mediante condensación de Knoevenagel.....	39

<b>Figura 14.</b> Segundo paso de reacción: síntesis del ácido propanodioico, 2-[[4-(difenilamino)fenil]metileno]-, éster 1,3-dimetil (ACI) mediante condensación de Knoevenagel.....	40
<b>Figura 15.</b> Preparación de compuestos D-A sintetizados para su análisis LDI empleando una solución de TFA-COOCH <sub>3</sub> de 5 mM y otra solución de TFA-CN de 5 mM. ....	43
<b>Figura 16.</b> Etapas de los resultados obtenidos durante el proyecto de investigación. ....	47
<b>Figura 17.</b> Esquema de síntesis del 4-difenilaminobenzaldehído.....	47
<b>Figura 18.</b> Mecanismo de la reacción de Vilsmeier-Haack para la preparación del difenilaminobenzaldehído haciendo uso de oxiclورو de fósforo.....	48
<b>Figura 19.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H del DFA-BZO con sus respectivos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para cada una de las señales. ....	50
<b>Figura 20.</b> Esquema de la síntesis de TFA-CN y TFA-COOCH <sub>3</sub> mediante la condensación de Knoevenagel.....	51
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H de la TFA-CN .....	53
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H de la TFA-COOCH <sub>3</sub> .....	54
<b>Figura 24.</b> Espectro de absorción UV-Vis de la TFA, TFA-CN y TFA-COOCH <sub>3</sub> .....	55
<b>Figura 25.</b> Cálculo del coeficiente de absortividad molar para los sistemas D-A.....	56
<b>Figura 26.</b> Espectro de reflectancia difusa de los sistemas D-A sintetizados. ....	58
<b>Figura 27.</b> Representación gráfica simplificada de la estructura electrónica de bandas.....	59
<b>Figura 28.</b> Valores Band gap obtenidos por el método de Kubelka-Munk.....	60
<b>Figura 29.</b> Espectro de fluorescencia de los sistemas D-A sintetizados y del estándar utilizado (antraceno), a una longitud de onda de excitación de 355 nm. ....	61
<b>Figura 30.</b> $\Phi R$ y $\Phi NR$ para TFA-CN y TFA-COOCH <sub>3</sub> a 355 nm.....	62

- Figura 32.** Espectro de masas LDI en modo iones positivo de la TFA-CN a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu\text{L}$  depositado sobre el portamuestras MALDI. ....65
- Figura 33.** Espectro de masas LDI en modo iones negativo de la TFA-CN a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu\text{L}$  depositado sobre el porta muestras MALDI. ....66
- Figura 34.** Espectro LDI de TFA-CN en modo ion positivo con variación del PIE a 0 ns, 200 ns, y 400 ns. Los espectros LDI a diferentes tiempos de extracción de iones muestran la aparición del ion con una relación  $m/z$  alrededor de 514,169. ....67
- Figura 35.** Comparación del patrón isotópico experimental y el calculado para el ion propuesto de relación  $m/z$  de 514,168. ....68
- Figura 36.** Espectro de masas LDI en modo iones positivo de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu\text{L}$  depositado sobre el porta muestras MALDI. ....69
- Figura 37.** Espectro de masas LDI en modo iones negativo de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu\text{L}$  depositado sobre el porta muestras MALDI. ....70
- Figura 38.** Curva de aparición de iones para la TFA-COOCH<sub>3</sub> (5 mM) y para la TFA-CN (5 mM) en modo ion positivo, teniendo como observable la abundancia de iones medida.....72
- Figura 39.** Espectros LDI de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a energías del láser de 0,25  $\mu\text{J}$ , 0,625  $\mu\text{J}$ , 1,6  $\mu\text{J}$  en modo ion positivo. El acercamiento corresponde a relaciones  $m/z$  de 200 a 400. ....74

- Figura 40.** Curva de aparición de iones para los sistemas D-A sintetizados evaluando los parámetros de relación Señal Ruido (S/N) y la resolución (R) en modo ion positivo. ....75
- Figura 41.** Espectro de masas MALDI del análisis de derivados de clorofila (mezcla de pigmentos) con TFA-COOCH<sub>3</sub> como matriz, en una relación de 1:1000 , 40% de la energía del láser, en modo ion positivo. ....78
- Figura 42.** Espectros de masas MALDI para el análisis de HAP, y Ni-ftalocianina con TFA-COOCH<sub>3</sub> y DCTB, con una relación A:M de 1:100, y usando un 40 % de la energía del láser en modo ion positivo. ....80
- Figura 43.** Propuesta de ionización de sistemas D-A basado en TFA hacia la molécula del analito (Clorofila).....83

**Abreviaturas y acrónimos**

CPCD	<i>Coupled physical chemical Dynamic</i>
D-A	Donor-Aceptor
DCTB	<i>trans-2-[3-(4-tert-butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene] malononitrile</i> (matriz MALDI 2-[(2E)-3-(4-terc-butilfenil)-2-metilprop-2-eniliden] malonitrilo)
DFA-BZO	4-(Difenilamino)benzaldehído
DFT	<i>Discrete Fourier transform</i> (Transformada de Fourier discreta)
DHB	<i>2,5-Dihydroxybenzoic acid</i> (matriz MALDI ácido 2,5-dihidroxibenzoico)
DMF	N,N-dimetilformamida
Eg	Energía de banda prohibida (Band Gap)
Ei	Energía de ionización
ET	Transferencia de electrones
FQY	<i>Fluorescence Quantum Yield</i> (Rendimiento cuántico de fluorescencia)
GIFTEX	Grupo de Investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
HF	Hartree-Fock
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> (Orbital Molecular ocupado más alto)
ICT	<i>Intramolecular Charge Transfer</i> (Transferencia de carga intramolecular)
LDI	<i>Laser Desorption/Ionization</i> (Ionización/desorción con láser)
LUMO	<i>Lowest unoccupied Occupied Molecular Orbital</i> (orbital molecular desocupado de menor energía)

<i>m/z</i>	Relación Masa/carga
MALDI	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization</i> (Ionización/desorción con láser asistida por matriz)
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas)
MeOH	Metanol
Nd:YAG	<i>Neodymium-Doped Yttrium Aluminum Garnet Laser</i>
R	Resolución
RMN	Resonancia Magnética nuclear
S/N	Relación Señal/Ruido
TFA	Trifenilamina
TFA-CN	4-(2,2-Dicianovinil) trifenilamina
TFA-COOCH <sub>3</sub>	Ácido propanodioico, 2-[[4-(difenilamino)fenil]metileno]-, éster 1,3-dimetil (ACI)
THF	Tetrahidrofurano
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i> (Cromatografía en capa fina)
TOF	<i>Time-of-flight</i> (Tiempo de vuelo)
UV-Vis	<i>Ultraviolet Visible Spectroscopy</i> (Espectroscopía Ultravioleta-Visible)

## Resumen

**Título:** Reactividad en fase gaseosa de sistemas orgánicos Donor-Aceptor basados en trifenilamina en MALDI MS\*.

**Autor:** Bryan David Hernández Baca\*\*

**Palabras Clave:** Sistemas donor-aceptor, trifenilamina, matriz, transferencia electrónica, MALDI

**Descripción:** Los sistemas orgánicos Donor-Aceptor-(D-A) forman estados separados de carga al ser irradiados con luz. En este trabajo, se sintetizaron sistemas D-A mediante la reacción de *Vilsmeier Haack* y la condensación de *Knoevenagel* utilizando el núcleo de trifenilamina como sistema donador de electrones y utilizando malononitrilo y dimetilmalonato como sistemas aceptores. Se midieron algunas propiedades optoelectrónicas de los compuestos sintetizados, tales como: coeficiente de absorptividad molar, rendimiento cuántico de fluorescencia, energía de banda, y energía de ionización. Los resultados obtenidos fueron comparables con matrices MALDI de uso comercial. En los espectros UV-Vis de los sistemas D-A se observaron bandas que corresponden a transferencias de carga intramolecular (ICT). Los espectros LDI de los sistemas D-A mostraron la formación del catión y anión radical con bajo o nulo *background* confirmando la transferencia de carga intramolecular en estos compuestos. Los valores teóricos de la energía de ionización ( $E_i$ ) para los sistemas D-A fluctúan entre 7,58 y 8,05 eV, un rango similar al de las matrices MALDI convencionales, como el DCTB (8,75 eV). Mediante experimentos MALDI utilizando como analitos derivados de la clorofila y algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos se confirmó la capacidad que tienen estos compuestos para promover procesos de ionización mediante transferencia de electrones.

---

\*Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Julio Roberto Pinzón Joya. Químico Ph.D. Codirector: Luis Miguel Díaz Sánchez. Químico, M.Sc.

### Abstract

**Title:** Gas-phase reactivity of triphenylamine-based organic Donor-Acceptor systems in MALDI MS\*.

**Author(s):** Bryan David Hernandez Baca\*\*

**Key Words:** Donor-acceptor systems, triphenylamine, matrix, electron transfer, MALDI

**Description:** Organic Donor-Acceptor-(D-A) systems form charge-separated states upon irradiation with light. In this work, D-A systems were synthesized by Vilsmeier Haack reaction and Knoevenagel condensation using triphenylamine nucleus as electron donor system and using malononitrile and dimethylmalonate as acceptor systems. Some optoelectronic properties of the synthesized compounds were measured, such as: molar absorptivity coefficient, fluorescence quantum yield, band energy, and ionization energy. The results obtained were comparable with commercially available MALDI arrays. Bands corresponding to intramolecular charge transfer (ICT) were observed in the UV-Vis spectra of the D-A systems. The LDI spectra of the D-A systems showed the formation of the radical cation and anion with low or no background confirming the intramolecular charge transfer in these compounds. The theoretical ionization energy ( $E_i$ ) values for the D-A systems ranged from 7.58 to 8.05 eV, a range similar to that of conventional MALDI arrays such as DCTB (8.75 eV). MALDI experiments using chlorophyll derivatives and some polycyclic aromatic hydrocarbons as analytes confirmed the ability of these compounds to promote ionization processes by electron transfer.

---

\*Degree Work

\*\*Faculty of science. Chemistry school. Advisor: Julio Roberto Pinzón Joya, Chemist, Ph.D.  
Co-advisor: Luis Miguel Díaz Sánchez. Chemist, M.Sc.

## INTRODUCCIÓN

La espectrometría de masas MALDI (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) es una técnica analítica ampliamente utilizada en múltiples aplicaciones en la ciencia, tales como: análisis de fármacos (Jeroen J. A. van Kampen, 2006), microbiología clínica (Croxatto et al., 2012), identificación de bacterias ambientales (Ashfaq et al., 2022), análisis de microalgas y fitoplancton (Luis M. Díaz-Sánchez, 2023). MALDI es una técnica de ionización suave que ha permitido el análisis de macromoléculas, tales como: proteínas (Andrew N. Krutchinsky, 2001), carbohidratos (Schmidt De Leon et al., 2019), fullerenos (Ramirez-Pradilla et al., 2019), hidrocarburos policíclicos aromáticos (Lu et al., 2017), entre otros. La versatilidad de MALDI radica en los diferentes tipos de matrices que se pueden emplear en el análisis, la cual interactúa con el analito y permite su desorción/ionización, presentando diferentes vías de ionización dependiendo de la molécula de interés. Sin embargo, se realizan constantes estudios enfocados en el desarrollo de matrices MALDI más selectivas y eficientes que permitan analizar diversos compuestos de interés analítico.

El grupo de investigación GIFTEX adscrito a la Escuela de Química de la UIS, ha reportado sistemas conjugados de núcleos del fenilenvinileno (FV), como matrices MALDI de transferencia electrónica (ET), con ventajas en comparación a matrices ET estándar como el DCTB. Los sistemas FV reportados presentan un bajo *background* en la región de masas bajas, eficiente producción de iones primarios a bajos umbrales de energía del láser, alta energía de ionización (> 8,5 eV), incremento de la sobrevivencia de los iones moleculares, entre otros. Actualmente, en búsqueda de nuevas matrices ET MALDI que permitan la ionización efectiva de moléculas de bajo y mediano peso molecular, el grupo de investigación GIFTEX ha propuesto la síntesis de moléculas orgánicas basadas en sistemas Donor-Aceptor.

Los espectros de masas LDI de los compuestos tipo D-A basados en TFA mostraron la formación de catión y anión radicales, lo cual confirma la transferencia de carga intramolecular que ocurren en estos tipos de sistemas *push-pull*. Así mismo, Las propiedades optoelectrónicas y espectroscópicas de estos compuestos basados en el núcleo de trifenilamina han demostrado ser comparables con otras matrices de transferencia electrónica tradicionales como DCTB.

En esta investigación se abre una ventana en el estudio del comportamiento en fase gaseosa de sistemas orgánicos Donor-Aceptor mediante espectrometría de masas MALDI y su aplicación como matrices MALDI de transferencia electrónica -ET-, para el análisis de compuestos lábiles y termoinestables de mediano y bajo peso molecular.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

Evaluar sistemas orgánicos Donor-Aceptor basados en trifenilamina como matrices MALDI de transferencia electrónica en el análisis de compuestos de mediano y bajo peso molecular.

### 2.2 Objetivos específicos

Sintetizar y caracterizar sistemas orgánicos Donor-Aceptor basados en trifenilamina mediante condensación de Knoevenagel.

Evaluar el desempeño de los sistemas sintetizados como matrices ET MALDI en el análisis de pigmentos de origen vegetal de mediano y bajo peso molecular.

### 3. Marco Referencial

#### 3.1 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica de análisis instrumental para compuestos orgánicos e inorgánicos con incontables aplicaciones que ha venido desarrollándose y mostrando su constante progreso en muchas áreas de la ciencia (Gross, 2017). La MS proporciona información acerca de: 1) composición elemental de la muestra; 2) estructura molecular; 3) composición cuantitativa y cualitativa en mezclas complejas; 4) estructura y composición de superficies sólidas, y 5) relaciones isotópicas de los átomos en la muestra (Skoog, et al., 2009).

El fundamento básico de la espectrometría de masas se basa en la generación de iones a partir de compuestos inorgánicos u orgánicos neutros. Las moléculas pueden ser ionizadas térmicamente (campos eléctricos, iones, fotones) para luego ser separadas por su relación masa-carga ( $m/z$ ), y finalmente ser analizados cualitativa y cuantitativamente mediante un espectro de masas que relaciona la abundancia de la señal con  $m/z$  (Stashenko. & Martínez., 2009). En principio, el análisis por espectrometría de masas consiste en la formación de iones gaseosos del analito, y dependiendo de la naturaleza de éste se elige el modo y la técnica de ionización (Skoog, et al., 2009). Principalmente existen dos categorías dependiendo del tipo de ionización: fuentes de fase gaseosa y fuentes de desorción, en las primeras la muestra se hace vapor y después se ioniza, y en las fuentes de desorción la muestra en estado líquido o sólido se transforma directamente en iones gaseosos (Skoog, et al., 2009). La **figura 1** muestra los principales procesos en la espectrometría de masas (Stashenko. & Martínez., 2009).



**Figura 1.** Cuatro principales etapas en la espectrometría de masas: Ionización de las moléculas, Analizador de iones por su relación masa/carga ( $m/z$ ), medición de las corrientes iónicas detectadas, y la construcción de los espectros de masas. Fuente: el autor.

### 3.2 Ionización/Desorción Láser

La ionización/desorción láser (LDI) fue introducida a finales de la década de los 60's (Gross, 2017). El desarrollo del láser como fuente de luz de alta intensidad, ha permitido la ionización y vaporización de diferentes clases de muestras sólidas, el haz del láser se enfoca sobre la muestra donde ocurre la desorción/ionización de una parte del analito (Fenner & Daly, 1966). Los investigadores han utilizado una gran variedad de láseres dependiendo de algunas consideraciones; 1) que la transferencia de energía a la muestra sea eficiente y controlable, esto con el fin de que la absorción de energía por parte de la molécula resuene con la longitud de onda del láser, 2) que la transferencia de energía sea en un tiempo corto, esto con el fin de evitar la descomposición térmica de las moléculas. Por tales razones, en espectrometría de masas de tiempo de vuelo (TOF) se ha venido utilizando el láser Nd:YAG, ya que su ancho de pulso está alrededor de los (1-100 ns) (Hillenkamp, 1991).

### 3.3 Ionización/Desorción Láser Asistida por una Matriz

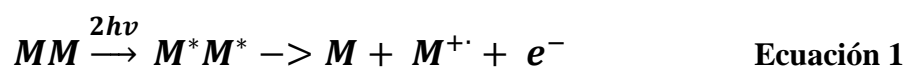
La técnica de ionización MALDI (*Matrix-assisted Laser Desorption/ionization*) fue desarrollada en los años 80's por los profesores Franz Hillenkamp y Michael Karas, Münster, Alemania, y Koichi Tanaka, Kyoto, Japón (Karas., 2000). MALDI se basa en la cocrystalización del analito con un compuesto orgánico de características fisicoquímicas conocidas denominado matriz (Gross, 2017). MALDI MS permite el análisis de moléculas lábiles, termoinestables, no

volátiles y de alto peso molecular, aunque en la última década ha despertado el interés en el análisis de compuestos de mediano y bajo peso molecular debido a que es una técnica de ionización suave que garantiza la sobrevivencia del ion molecular (Qiao & Lissel, 2021).

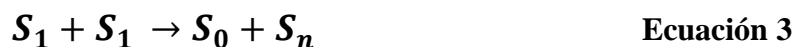
En MALDI MS se aprovecha la capacidad que tiene la matriz de absorber la energía proveniente de un láser pulsado (comúnmente de Nd:YAG,  $\lambda = 355$  nm), lo que provoca la ionización primaria de moléculas de la matriz. Seguidamente, las moléculas ionizadas de la matriz interactúan con los compuestos de interés para formar los iones de estos -ionización secundaria-. Dependiendo de la naturaleza de la matriz y del analito se pueden formar diferentes tipos de iones a causa de reacciones de transferencia de protones, cationes y/o electrones en fase gaseosa (Karas. & Bahr, 1991).

### 3.3.1 Ionización en MALDI

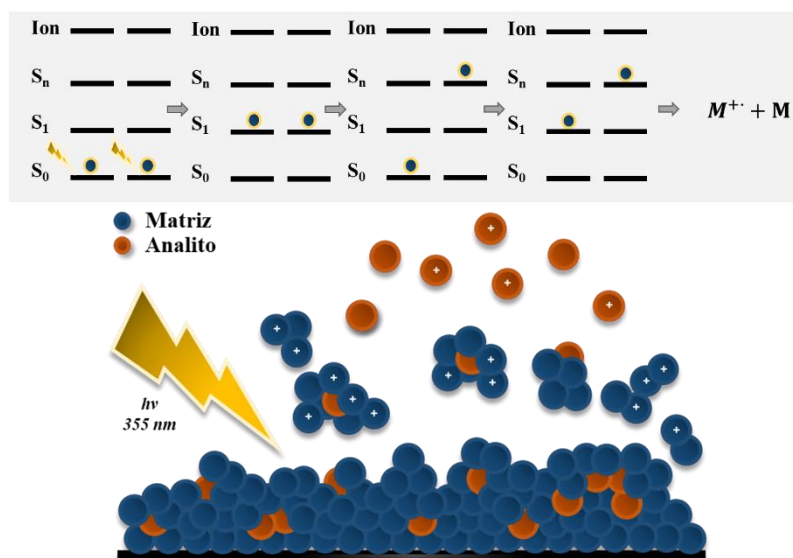
MALDI MS permite obtener información de interés analítico gracias a la formación de especies moleculares cargadas ( $[M]^{+\cdot}$ ,  $[M + H]^+$ ,  $[M - H]^-$ ,  $[M + X]^+$  X: Na, K). El modelo CPCD (*Coupled Physical and Chemical Dynamics*) ha sido establecido para la explicación de la ionización en MALDI, el cual involucra aspectos fotofísicos, cinéticos y termodinámicos, donde se proponen dos etapas para la ionización (Knochenmuss. & Zenobi., 2003). La primera etapa consiste en la formación de los iones primarios de la matriz, donde las múltiples moléculas de la matriz son excitadas electrónicamente ( $M^*$ ) a causa de la absorción directa de la fuente de láser. Seguidamente, se dan fenómenos de acumulación de energía ( $M^{**}$ ) para finalmente generar iones con número impar de electrones (catión radical -  $M^{+\cdot}$ )(**Ecuación 1**)(Molin et al., 2012).



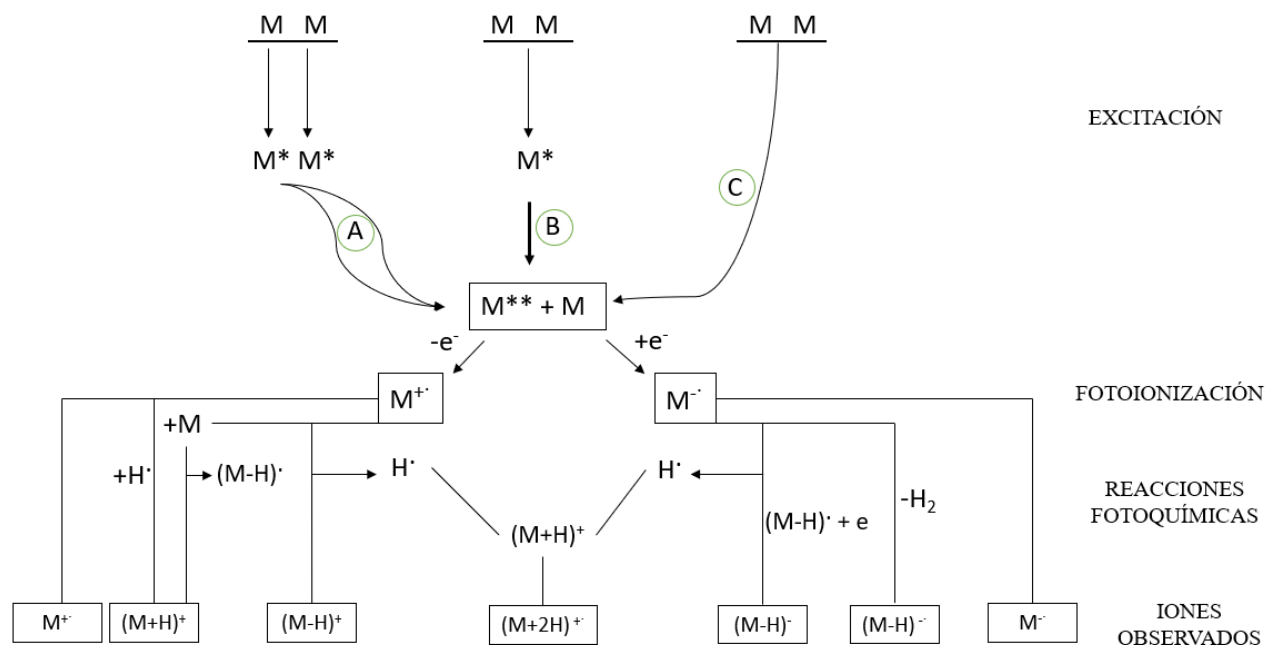
El modelo CPCD propone que un fotón interacciona con un electrón del estado electrónico básico ( $S_0$ ) de la matriz ( $M$ ), y este salta al primer estado electrónico excitado ( $S_1$ ) (**Ecuación 2**). Posteriormente, las moléculas de la matriz excitadas ( $M^*$ ) interacciona con otra molécula  $M^*$  con el fin de llevar esta molécula a un estado electrónico superior ( $S_n$ ) (**Ecuación 3**). Finalmente, una molécula de la matriz en un estado electrónico superior ( $S_n$ ) interacciona con otra en estado electrónico excitado ( $S_1$ ) para formar un ion (catión radical) (**Ecuación 4**) (Knochenmuss, 2016).



La segunda etapa de ionización consiste en la formación de iones secundarios del analito que puede tomar diferentes vías, dependiendo de las interacciones entre las moléculas cargadas de la matriz y las moléculas del analito, produciendo reacciones ya sea de transferencia catiónica, protónica o electrónica (ET) (Knochenmuss. & Zenobi., 2003) (Knochenmuss, 2016). **Las figuras 2 y 3**, muestran los diferentes mecanismos de ionización que se pueden presentar en MALDI MS.



**Figura 2.** Esquema de la ionización primaria en MALDI MS. Fuente: el autor.



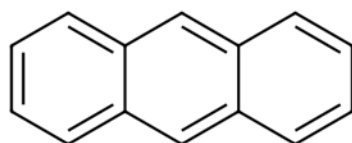
**Figura 3.** Esquema de la fotoionización y las vías de reacción posteriores en MALDI MS (Karas & Hillenkamp, 1992). Rutas de fotoexcitación: A (combinación de energía), B (excitación secuencial de dos fotones) y C (excitación simultánea de dos fotones). Imagen tomada y adaptada de Renato Zenobi and Richard Knochenmuss 1998.

### 3.4 Matrices MALDI

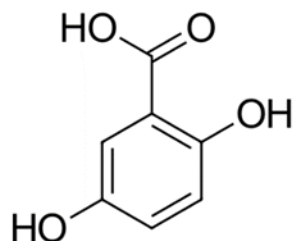
Una matriz MALDI es un compuesto orgánico con características fisicoquímicas conocidas, que le permiten promover la formación de iones secundarios del analito de interés en el proceso de la ionización MALDI. Además, para que ocurra la transferencia de carga de manera eficiente, la matriz debe aislar -diluir- las moléculas del analito. En la transferencia de carga en fase gaseosa la matriz funciona como mediador de la absorción de energía entre la fuente láser y el analito *target* (Gross, 2017). La elección y preparación adecuada de la matriz puede ser en gran medida la garantía del éxito en el análisis MALDI, las matrices pueden ser líquidas, sólidas, de

dos fases (líquida-sólida), líquidos iónicos y partículas/metales (Jackson & Woods, 2016). Se han diseñado diferentes clases de matrices MALDI para el análisis de múltiples analitos de interés, *e.g.*, se ha utilizado alcohol 3-nitrobenílico (NBA) como matriz UV-MALDI en análisis de péptidos y proteínas (Kaufmann, 1995). Asimismo, matrices con núcleo de ciano-fenilvinileno (CNPV-CH<sub>3</sub>) como matrices de transferencia electrónica en análisis de petroporfirinas (Giraldo-Dávila *et al.*, 2018); el glicerol utilizado como matriz líquida en IR-MALDI para el análisis de péptidos y proteínas, entre otras (STEFAN BERKENKAMP & FRANZ HILLENKAMPT, 1996). En la **figura 4**, se pueden apreciar algunas moléculas orgánicas utilizadas como matrices MALDI.

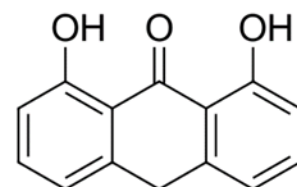
#### MATRICES UV-MALDI



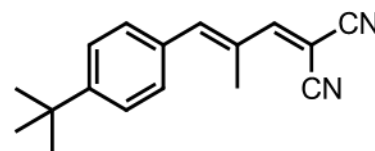
ANTRACENO



DHB

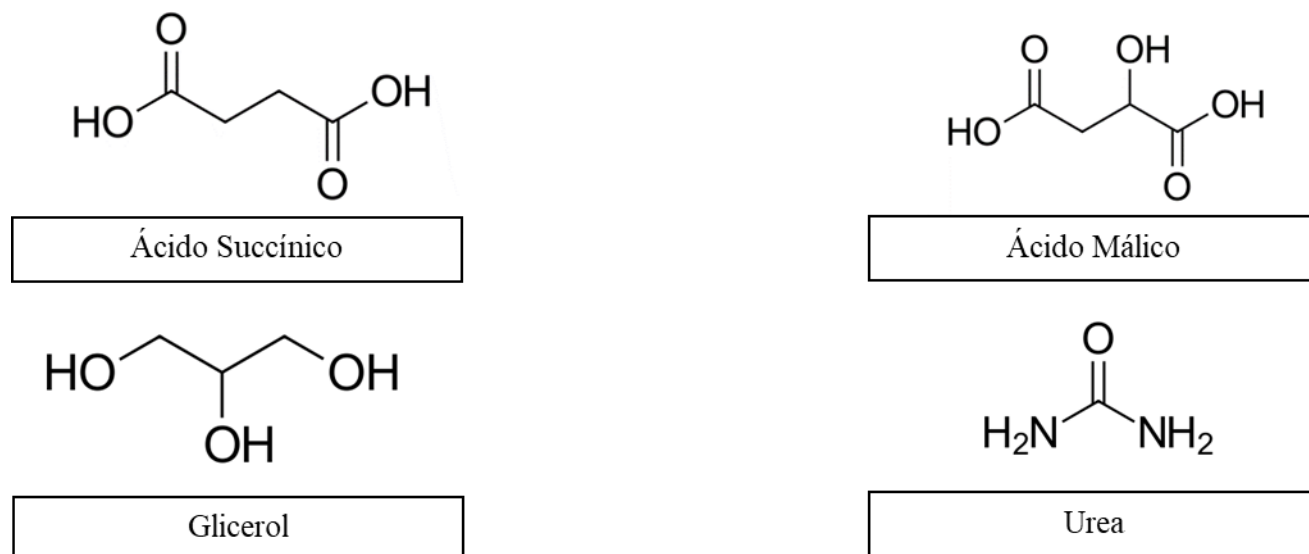


DITRANOL



DCTB

## MATRICES IR-MALDI

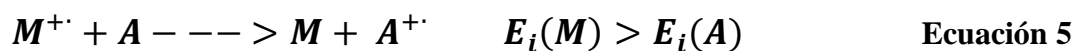


**Figura 4.** Estructura química de algunas matrices comerciales utilizadas para el análisis por MALDI MS.

Como se mencionó anteriormente, la selección de la matriz es fundamental en el proceso MALDI. Es así como el 2-[(2*E*)-3-(4-*ter*-butilfenil)-2-metilprop-2-enilideno]malonitrilo (DCTB) permite la transferencia electrónica (ET) en fase gaseosa para el análisis de fullerenos, pigmentos tipo clorofila, y xantofilas, entre otros (Yury V. Vasil'ev et al., 2006). Sin embargo, en otros tipos de analitos como biomoléculas con aminas secundarias, el DCTB es altamente reactivo, formando *clusters* con la muestra y generando señales adicionales en el espectro (Giraldo-Dávila et al., 2018). Razón por la cual, el diseño y la búsqueda de matrices MALDI es un área en constante estudio.

Las matrices de transferencia electrónica han permitido la ionización de diferentes compuestos en la ciencia de los materiales, tales como: fullerenos (Ramirez-Pradilla et al., 2019), polímeros (Randall Skelton et al., 2000), y complejos de coordinación (Wyatt, 2011), entre otros. Para que ocurra la transferencia electrónica en fase gaseosa, debe cumplirse que la energía de

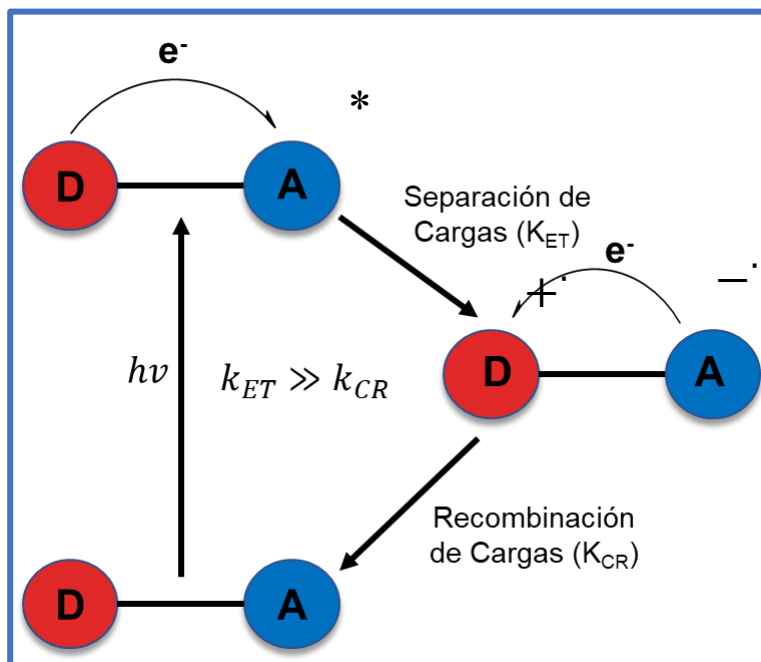
ionización ( $E_{iM}$ ) de la matriz sea mayor que la energía de ionización del analito ( $E_{iA}$ ) (**Ecuación 5**). Además, la matriz debe presentar buena cristalización, altos valores de absorptividad molar en estado sólido, baja tendencia a formar agregados moleculares, buenas propiedades de solubilidad y estabilidad (Castellanos-Garcia et al., 2017).



El grupo de investigación GIFTEX de la Universidad Industrial de Santander ha reportado durante los últimos años la síntesis y aplicación de matrices MALDI de transferencia electrónica basadas en núcleos de fluoreno (FL) y fenilvinileno (FV) con excelente desempeño analítico al ser comparadas con matrices comerciales como DCTB. Además, los autores han evaluado las matrices en el análisis de porfirinas (Ramirez-Pradilla et al., 2019), petroporfirinas (Ramírez-Pradilla et al., 2019), compuestos poliaromáticos (Ramirez-Pradilla et al., 2019), complejos metálicos, ftalocianinas (Castellanos-Garcia et al., 2017) y algunos colorantes a base de trifenilamina, e incluso algunos colorantes de origen vegetal como clorofilas y carotenoides (Sánchez, 2019a). En este proyecto de investigación, se sintetizan sistemas D-A basados en el núcleo de TFA y se evalúan sus propiedades optoelectrónicas y espectroscópicas para su aplicación en el campo de espectrometría de masas MALDI como matrices de transferencia electrónica.

### 3.5 Sistemas orgánicos Donor-Aceptor

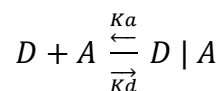
Los sistemas donor aceptor (D-A) son moléculas cuya estructura permite que ocurra una separación de cargas intramolecular. Estos sistemas conformados por un donador (D) y un aceptor (A) están unidos covalentemente por un puente (B) (**Figura 5**), que permite el transporte de electrones debido a su grado de deslocalización de cargas (Gilbert & Albinsson, 2015).



**Figura 5.** Funcionamiento general de un sistema donor-aceptor. Fuente: el autor.

Los sistemas D-A como mecanismos de transferencia electrónica (ET), han jugado un papel muy importante en diferentes áreas de la ciencia, *e.g.*, transporte biológico (Ann Magnuson et al., 2008), celdas solares (Allen J. Bard & Fox, 1995) y dispositivos optoelectrónicos (A. Prasanna de Silva et al., 1997), debido a su capacidad de transporte de electrones.

La teoría aceptada que explica el desarrollo del mecanismo de la transferencia de electrones en sistemas D-A es la teoría de Marcus (Marcus, 1993). Dicha teoría establece que, para una reacción de segundo orden, de transferencia electrónica, el proceso debe suceder en tres etapas, a saber: 1) difusión de D y A para formar un complejo precursor ( $D | A$ ) de la esfera externa (**Ecuación 6**); 2) reorganización del complejo precursor hacia un estado de transición donde tiene lugar la ET para formar un complejo precursor ( $D^+ | A^-$ ) (**Ecuación 7**); y 3) disociación del complejo sucesor para formar los iones productos ( $D^+ + A^-$ ) (**Ecuación 8**) (Bolton & Archer, 1991).



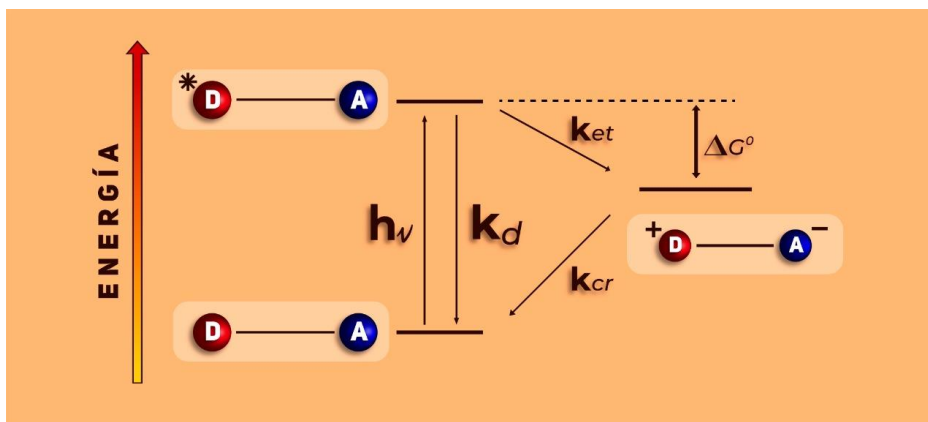
**Ecuación 6**



La transferencia de electrones puede ser descrita por la siguiente ecuación propuesta por Marcus:

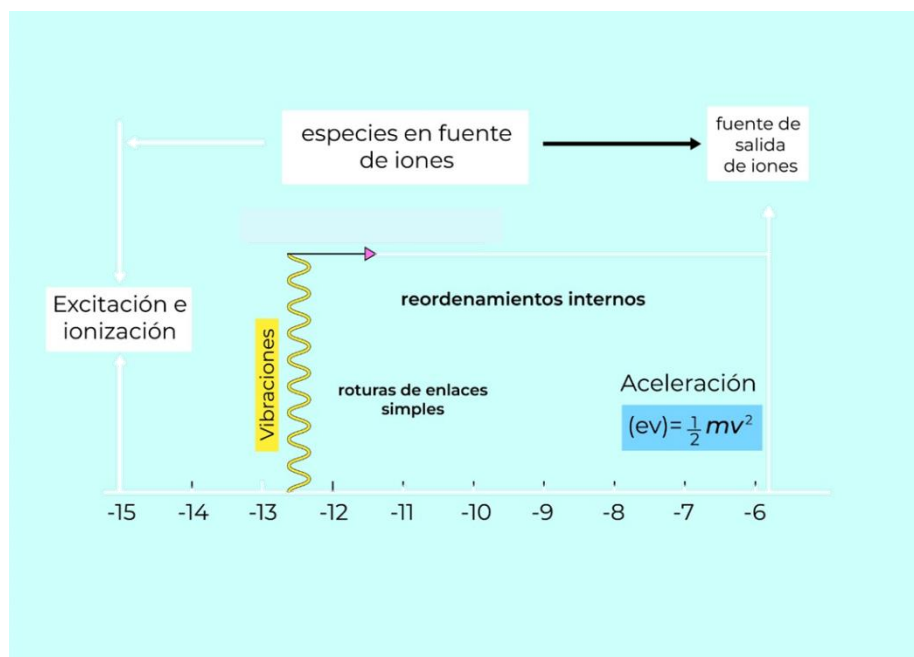
$$K_{ET} = \sqrt{\frac{\pi}{\hbar^2 k_B T \lambda}} V^2 \exp\left(\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}\right) \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde  $\lambda$  hace referencia a la energía de reorganización,  $\Delta G^0$  a la energía libre de reacción. La energía de reorganización es la diferencia de energía potencial entre el estado inicial y el estado final tras la excitación del sistema (Albinsson et al., 2007). Ahora, cabe resaltar que siempre que ocurra un estado de separación de cargas también existe la reacción de recombinación de cargas, dada la cercanía de sus cargas opuestas. Por lo tanto, existen dos constantes de velocidad; la primera,  $K_{ET}$ , corresponde al proceso de separación de cargas, y  $K_{cr}$ , al proceso de recombinación (**Figura 6**). En un sistema donor-aceptor el rendimiento cuántico de la separación de cargas del proceso debe ser lo más alto posible, significa que  $K_{cr} \ll K_{ET}$ , esto con el fin de que el tiempo de vida media del estado excitado del sistema sea lo suficientemente largo para que exista un trabajo químico (Katrina A. Jolliffe et al., 1999).



**Figura 6.** Diagrama de energía general de las posibles vías de transferencia de carga en un sistema Donor – Aceptor (D-A). Tomada y adaptada de (Katrina A. Jolliffe et al., 1999).

Los procesos de ionización y excitación en MALDI tienen una duración de aproximadamente  $10^{-15}$ s (**Figura 7**), y en la literatura se ha reportado que el tiempo de vida media de los sistemas cromóforos D-A tienen una duración de aproximadamente  $10^{-9}$ s (Katrina A. Jolliffe et al., 1999), lo que indica que esta clase de moléculas puede ionizar efectivamente las moléculas del analito.



**Figura 7.** Escala temporal en la espectrometría de masas. Tomado y adaptado de (Gross, 2017).

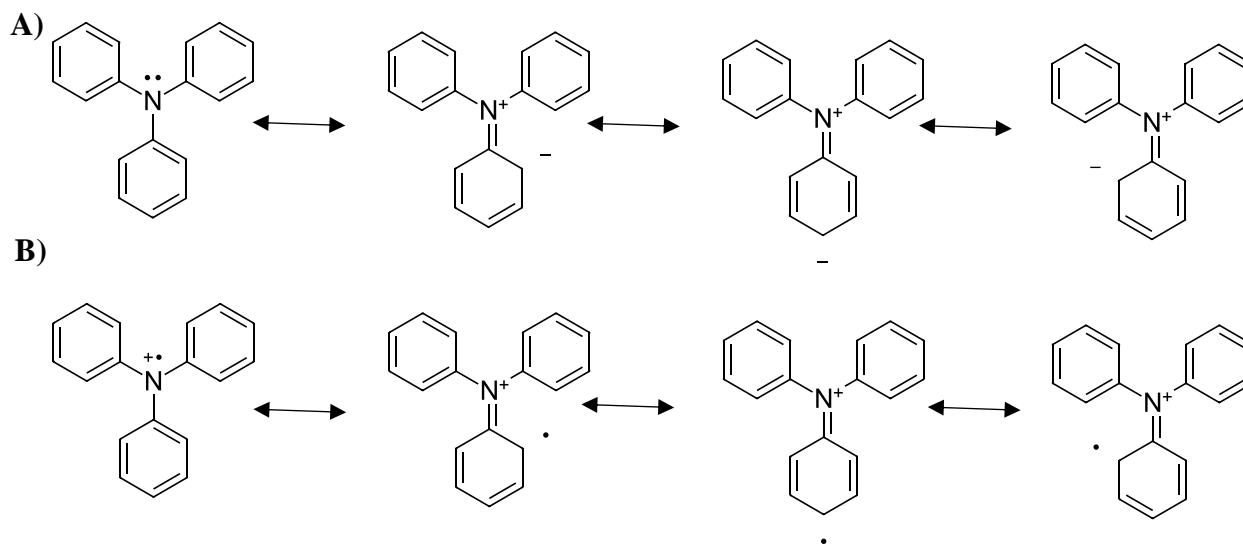
Para una eficiente transferencia de carga con sistemas orgánicos donador-aceptor, se deben utilizar moléculas rígidas cuya estructura no cambie demasiado cuando suceda el proceso de recombinación (Sun et al., 2019; Ye et al., 2019). En cuanto a los grupos funcionales presentes en la molécula, se requiere que la parte que se va a oxidar posea grupos electro-donores, *i.e.*, con una alta densidad electrónica. Asimismo, la parte electro-aceptora de la molécula debe presentar grupos que estabilicen el estado separado de carga una vez éste se haya formado (Marcus, 1956).

Por otra parte, los puentes o espaciadores que unen covalentemente la parte donora y aceptora de la molécula juegan un papel muy importante en la eficacia de los procesos de transferencia de carga del sistema. El puente que actúa como un “cable molecular” no se oxida ni se reduce, solamente permite la comunicación electrónica entre el grupo donante y el grupo aceptor (Gilbert & Albinsson, 2015). Se han usado diferentes clases de puentes en estos sistemas *push-pull*, e.g., puentes conjugados cruzados de tipo *m*-fenileno y lineales como 2,5-tiofeno (Leu et al., 2012), puentes tipo  $\pi$ -conjugados para la unión de heterociclos donantes-aceptores (Wurthner, 2016) puentes basados en porfirinas (Gilbert & Albinsson, 2015). Cabe señalar que para cada tipo de puente la constante de velocidad de transferencia de electrones es diferente (**Ecuación 9**). La eficacia de los puentes basados en sistemas  $\pi$ -conjugados se debe a la capacidad de mediar la transferencia de electrones (Gilbert & Albinsson, 2015).

El grupo de investigación GIFTEX ha centrado su atención en estos sistemas orgánicos donor-aceptor, ya que al formar estados de separación de carga pueden ser capaces de ionizar moléculas tanto en modo positivo como negativo.

### 3.5.1 Trifenilamina como sistema donador de electrones

La trifenilamina (TFA) es un compuesto orgánico con un átomo de nitrógeno unido a tres grupos fenilo. La basicidad de la TFA es muy baja ( $K_B \leq 10^{-10}$ ) debido a la deslocalización de su par de electrones deslocalizados en toda su estructura (**Figura 8**) (Touraj Manifar, 2004).



**Figura 8.** A) Deslocalización del par de electrones en la molécula de Trifenilamina, B) Resonancia de TFA al extraer un electrón. Fuente: Autor.

Las excelentes propiedades optoelectrónicas de la TFA, han permitido la aplicación de sus derivados en diferentes campos: como diodos orgánicos emisores de luz (OLED)(Ha, 2001), celdas fotovoltaicas (Lin, 2009), fotoconductores (Holroyd, 1984), y también se han utilizado en células solares sensibilizadas por colorantes (DSSC) para la conversión fotovoltaica de la luz solar en electricidad (Qin, 2012; Yum, 2011). De igual manera, cabe resaltar el uso de compuestos basados en TFA como sistemas donantes de electrones, para aumentar la conversión fotoenergética en sistemas que buscan imitar el proceso de separación cargas en fotosíntesis artificial (Hara, 2005; Zhang, 2010).

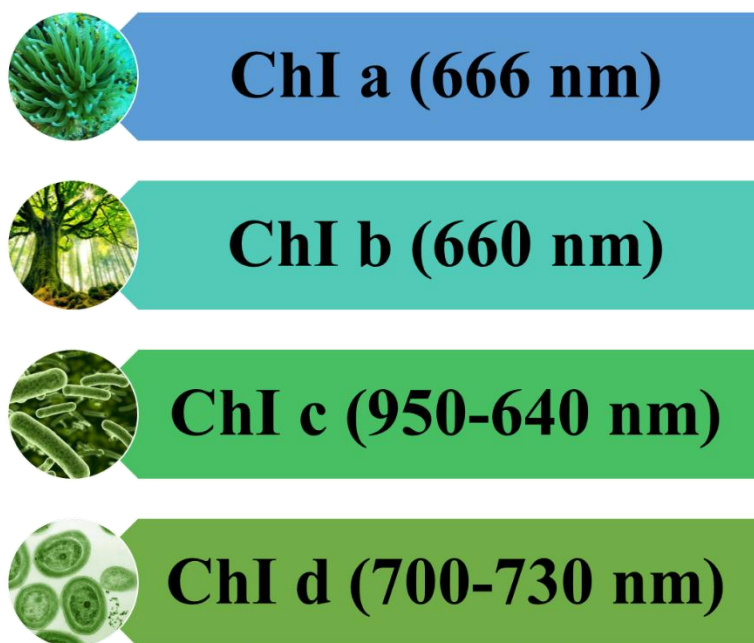
Mediante espectroscopía vibracional en fase gaseosa se ha caracterizado la existencia del catión radical de la molécula de la TFA al ser excitada con un láser infrarrojo de electrones libres (**Figura 8**) (Munshi et al., 2017). Las propiedades fisicoquímicas de la TFA han permitido que se pueda utilizar como donador de electrones para formar sistemas *Push-Pull* (M. Belieres, 2018).

Por tales razones, el grupo de investigación GIFTEX ha propuesto la síntesis de compuestos orgánicos de tipo Donor-Aceptor basados en el núcleo de la TFA para ser aplicados en el campo de espectrometría de masas MALDI como matrices de transferencia electrónica (ET).

### 3.6 Pigmentos de origen vegetal

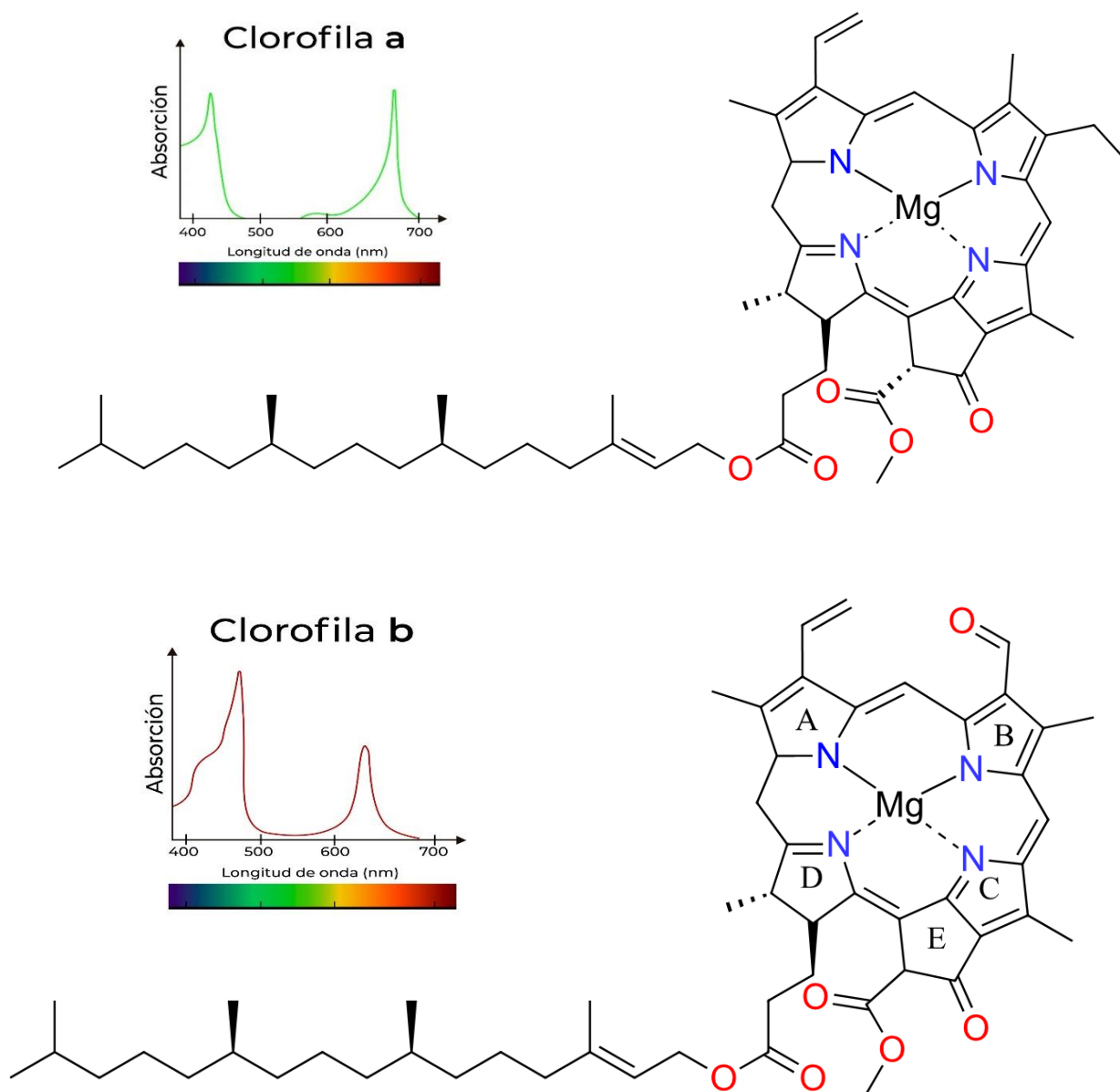
Los pigmentos de origen vegetal son ampliamente conocidos por sus excelentes propiedades biológicas, *e.g.*, antioxidantes, antimicrobianas, hipolipemiantes y neuroprotectoras, entre otras, por lo que típicamente son incorporados en los productos alimenticios por adición directa o indirecta (A. Schieber et al., 2001; Sharma et al., 2021). Las diferentes tonalidades de diferentes productos se deben principalmente a cuatro grupos de compuestos: clorofilas (verde), carotenoides (amarillo, naranja, rojo), flavonoides, *e.g.*, las antocianinas (rojo, azul, púrpura), y betalainas (rojo).

Las clorofilas (Chl) son pigmentos naturales presentes en las plantas, algas y otros organismos fotosintéticos que pueden absorber la luz solar para producir dióxido de carbono y agua por medio del proceso denominado fotosíntesis (Viera et al., 2022). Existen diferentes clases de clorofilas de acuerdo con su estructura; La Chl a, que se encuentra en plantas superiores, algas, y cianobacterias, la Chl b, que se encuentra en algas y árboles, la Chl c, que se encuentra en microbios y algas, y la Chl d, que está presente en cianobacterias donde hay escases de luz solar. Cada una de este tipo de clorofilas absorbe luz a diferentes longitudes de onda (**Figura 9**) (Singh et al., 2020).



**Figura 9.** Clasificación de clorofilas con su respectiva longitud de onda de absorción. Fuente: el autor.

Todas las clorofilas naturales son complejos de coordinación de magnesio (Mg) con tetrapirroles cíclicos conjugados con un quinto anillo de ciclopentanona y, a menudo, un alcohol de cadena larga esterificado (Wright & Jeffrey, 2006). La clorofila a y sus derivados presentan un anillo de clorina en su estructura, que por definición son dihidroporfirinas. En la **Figura 10** se muestra la estructura de la clorofila a, ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ), que es una 17,18-dihidroporfirina, con cuatro anillos (A–D) del macrociclo tetrapirrol, un anillo de ciclopentanona (E) junto con el anillo C y una cadena lateral de ácido propiónico, esterificado al alcohol, denominado fitol, también se muestra la estructura de la clorofila b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ) (Wright & Jeffrey, 2006)



**Figura 10.** Estructura química de las clorofilas a ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ) y b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ) con su respectivo espectro de absorción UV-Vis. Tomado y adaptado de (Makarska-Bialokoz & Kaczor, 2013).

Los pigmentos de origen vegetal están constituidos casi en su mayoría por moléculas lábiles y termoinestables (Sánchez, 2019a), por lo que para su análisis se deben emplear técnicas suaves como la técnica Desorción/Ionización Láser Asistida por una Matriz (MALDI, por sus siglas en

inglés). MALDI al ser una técnica de ionización suave, permite la sobrevivencia del ion molecular de los pigmentos de origen vegetal.

Ahora bien, la caracterización química de los pigmentos de origen vegetal se hace por medio de la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), ya que es la técnica analítica estándar para el análisis de estos tipos de analitos. Sin embargo, mediante HPLC se pueden determinar y utilizar como marcadores quimiotaxonómicos solo algunos pigmentos, tales como: la Neoxantina, Violaxantina, Luteína, Crocoxantina, entre otros. Otros pigmentos mayoritarios de tipo clorofila y carotenoide que no se pueden identificar debido a su baja abundancia, pero según Serive, *et. al* reportan que esta clases de pigmentos, probablemente son los que corresponden a biomarcadores robustos (Laurie Van Heukelem, 1994). Por tales razones se buscan técnicas analíticas que permitan el análisis de esta clase de compuestos de una manera rápida, sencilla y confiable, ya que el monitoreo de biomarcadores taxonómicos pueden dar información interesante sobre géneros o clases de microorganismos (Sánchez, 2019b; Serive B, 2017).

Los pigmentos de origen vegetal se consideran analitos de bajo y mediano peso molecular ( $m/z < 1000$  Da), por ende, este proyecto buscó analizar este tipo de compuestos de interés analítico mediante el uso de sistemas de tipo Donor-Aceptor basados en TFA como matrices ET.

## 4. Metodología

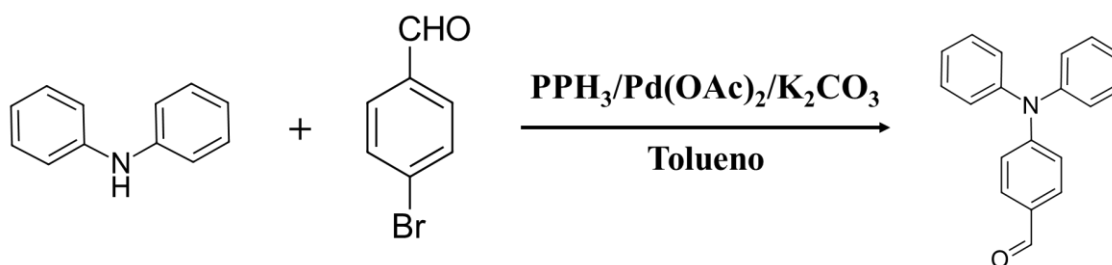
Este trabajo de investigación se llevó a cabo con el objetivo de sintetizar moléculas propuestas como sistemas Donor-Aceptor basadas en el núcleo de trifenilamina, medir algunas de sus propiedades fisicoquímicas, analizar su comportamiento en fase gaseosa en MALDI, y evaluarlas como matrices ET MALDI. En la primera etapa, se sintetizaron los compuestos propuestos mediante dos etapas de síntesis, para la primera se emplearon dos rutas: reacción de *Hartwig-Buchwald* y la reacción de *Vilsmeier Haack*, y la segunda una condensación de *Knoevenagel*, seguidamente los compuestos obtenidos se purificaron por cromatografía *Flash*. En la segunda etapa, los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía ultravioleta visible, espectroscopía de reflectancia difusa, resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y espectrometría de masas LDI. Asimismo, se calculó el coeficiente de absorptividad molar y se determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia. Finalmente, en la tercera etapa del proyecto de investigación, se estableció el comportamiento de los sistemas Donor-Aceptor en fase gaseosa bajo condiciones MALDI. El comportamiento de estos sistemas se comparó con otras matrices comerciales como el DCTB que funcionan como matrices de transferencia electrónica.

### 4.1 Síntesis de los sistemas orgánicos Donor-Aceptor

Se sintetizaron compuestos basados en trifenilamina, como sistemas donores debido a que estabilizan de manera efectiva los cationes radicales. Como sistemas aceptores se utilizó malononitrilo y dimetilmalonato, los cuales estabilizan aniones radicales. Finalmente, como puentes o sistemas de conexión se utilizaron sistemas conjugados. Para la síntesis de los sistemas orgánicos D-A, se utilizaron las metodologías propuestas por Fu et al., y Wang et al., con algunas modificaciones (Fu et al., 2020; Wang et al., 2015). Los reactivos y disolventes utilizados fueron

de grado de pureza para síntesis, de las marcas Merck, Sigma-Aldrich, y fueron usados sin previa purificación. Los disolventes utilizados en las síntesis como el tetrahidrofurano (THF) y el tolueno fueron secados previamente sobre sodio. El avance de cada una de las reacciones se controló por cromatografía en capa fina (TLC), sobre cromatoplasmas Merck AL TLC de sílica gel 60 F<sub>254</sub>.

#### 4.1.1 Síntesis de 4-difenilaminobenzaldehído mediante la reacción de Hartwig-Buchwald

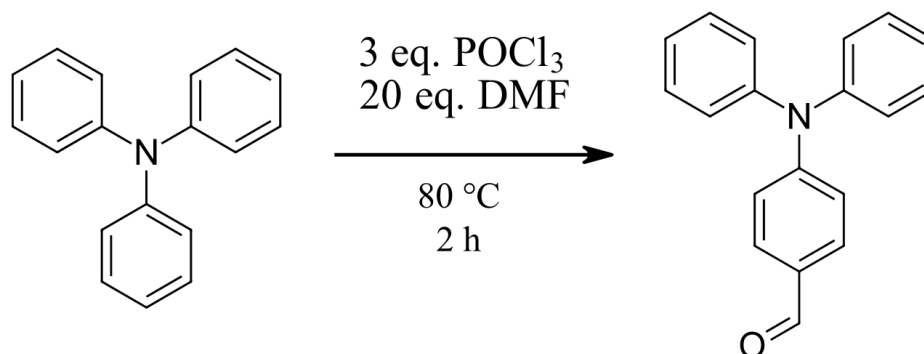


**Figura 11.** Primer paso de reacción: síntesis del 4-difenilamino-benzaldehído por medio de una reacción de Hartwig-Buchwald.

En un matraz de 50 mL, se disolvieron 1,5 mmoles de difenilamina (750 mg), y 1,46 mmoles de 4-bromobenzaldehído (812,13 mg) en 20 mL de tolueno seco. Luego, se añadió a la mezcla  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0,019 mmoles, 12,89 mg),  $\text{PPh}_3$  (0,064 mmoles, 50,025 mg), y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4 mmoles, 1,617 g) y se calentó el sistema hasta una temperatura de 110 °C bajo atmosfera de Ar, en agitación constante, durante 24 h (véase **Figura 11**). Una vez el sistema alcanzó la temperatura ambiente, se vertió en 50 mL de salmuera y el producto de interés se extrajo con acetato de etilo (25 mL, tres veces), luego el producto fue concentrado mediante rotoevaporación. El residuo obtenido fue purificado utilizando cromatografía en columna sobre sílica gel, con fase móvil de hexano/diclorometano 7:3 (v:v) (Wang et al., 2015). El producto obtenido fue un compuesto sólido de color amarillo claro. Rendimiento de la reacción: 10%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, TMS)  $\delta$ : 9,81 (s, 1H), 7,68 (d,  $J=8,4$  Hz, 2H), 7,36-7,17 (m, 10H), 7,02 (d,  $J=8,4$  Hz, 2H).

Asimismo, y debido al bajo rendimiento obtenido mediante la reacción Hartwig-Buchwald, se exploró utilizar la reacción de Vilsmeier Haack, a partir de trifenilamina, para la obtención del 4-difenilamino-benzaldehído, como se muestra a continuación.

#### 4.1.2 Síntesis de difenilaminobenzaldehído mediante la reacción de Vilsmeier Haack

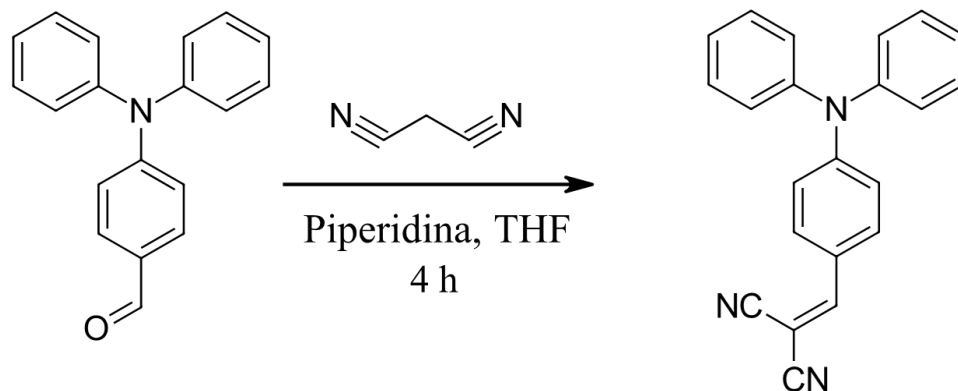


**Figura 12.** Primer paso de reacción: síntesis del 4-difenilaminobenzaldehído por medio de una reacción de Vilsmeier Haack.

En un matraz de dos bocas de 50 mL, en un baño de hielo, se disolvieron 16 mmoles de DMF y 12 mmoles de POCl<sub>3</sub>. Seguidamente, y bajo continua agitación se agregaron 4,1 mmoles (1,0 g) de trifenilamina, se dejó que el sistema alcanzara la temperatura ambiente y luego se aumentó la temperatura hasta alcanzar 80 °C, a reflujo, durante 2 horas (Véase **figura 12**). Posteriormente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría, y se llevó a pH=7 con una solución de NaOH 2 M. El producto de reacción se filtró obteniendo un compuesto sólido de color amarillo claro, que se purificó por cromatografía en columna sobre sílica gel, utilizando como fase móvil una mezcla hexano/diclorometano 6:4 (v:v) (Fu et al., 2020). El rendimiento de la reacción fue de 90%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, TMS) δ: 9,81 (s, 1H), 7,68 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,36-7,17 (m, 10H), 7,02 (d, J=8,4 Hz, 2H).

Seguidamente, se realizó el paso dos de la síntesis propuesta mediante condensación de Knoevenagel, como se muestra a continuación.

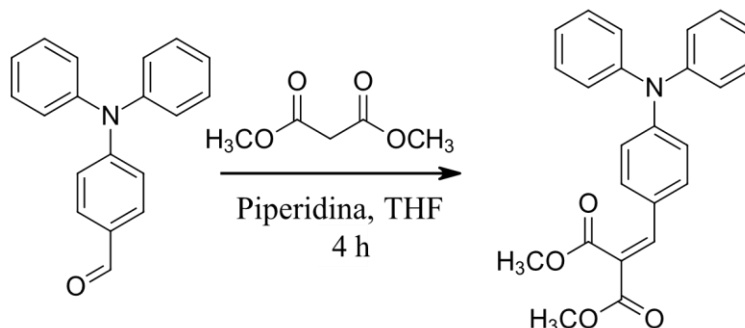
#### 4.1.3 Síntesis de 4-(2,2-dicianovinil) trifenilamina



**Figura 13.** Segundo paso de reacción: síntesis de 4-(2,2-dicianovinil) trifenilamina mediante condensación de Knoevenagel.

En un matraz de 50 mL, se colocaron 1,1 milimoles de 4-difenilaminobenzaldehído y 0,6 mmoles de malononitrilo en 35 mL de THF, y se agregó 8 gotas de piperidina. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 4 horas (Véase **figura 13**). Finalmente, la mezcla de reacción se agregó en 50 mL de agua, se filtró y se lavó. El producto obtenido fue un sólido de color rojo-anaranjado, el cual se purificó por cromatografía *flash* utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 7:3 (v:v) como fase móvil (Wang et al., 2015). Rendimiento: 80%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, TMS) δ: 7,73 (d, J=9,2 Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 5H), 7,23-7,18 (m, 5H), 6,94 (d, 2H).

#### 4.1.3 Síntesis del ácido propanodioico, 2-[[4-(difenilamino)fenil]metileno]-, éster 1,3-dimetil (ACI)



**Figura 14.** Segundo paso de reacción: síntesis del ácido propanodioico, 2-[[4-(difenilamino)fenil]metileno]-, éster 1,3-dimetil (ACI) mediante condensación de Knoevenagel.

En un matraz de 50 mL, se colocaron 1,1 mmoles de difenilaminobenzaldehído y 0,55 mmoles de dimetilmalonato en 35 mL de THF, y se agregó 8 gotas de piperidina. La reacción se dejó a temperatura ambiente durante 4 horas (Véase **figura 14**). Finalmente, la mezcla de reacción se agregó en 50 mL de salmuera, y el producto obtenido se extrajo con diclorometano. Luego de la extracción, se obtuvo un sólido de color amarillo, el cual se purificó por cromatografía de gravedad utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 8:2 (v:v), como fase móvil (Wang et al., 2015). Rendimiento de la reacción: 60%.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, TMS)  $\delta$ : 7,58 (s, 1H), 3,77 (m, 13H), 6,88 (d, 2H), 7.23-7.18 (m, 5H), 3,88 (s, 3H), 3,85 (s, 3H).

## 4.2 Determinación y caracterización de las propiedades espectroscópicas y optoelectrónicas de los sistemas D-A sintetizados

### 4.2.1 Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{H}$ .

La toma de espectros de RMN se realizó en un espectrofotómetro Bruker TopSpin 400 MHz utilizando cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como solvente. Para ello, se tomaron 10 mg de cada compuesto sintetizado, se agregó en un tubo de RMN de la marca SIGMA-ALDRICH con un diámetro de 5 mm, y se disolvió en 6 mL de  $\text{CDCl}_3$  (Energy, 2021).

### 4.2.2 Espectroscopía UV-Vis

Las mediciones de UV-Vis de cada una de las moléculas sintetizadas se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-VIS, en un rango de 300-600 nm utilizando una celda de cuarzo con un paso óptico de 1 cm, y THF como blanco en la celda de referencia. A partir de la pendiente de la curva absorbancia Vs concentración, se determinó el coeficiente de absortividad molar utilizando la ecuación de Lambert-Beer para soluciones diluidas (**Ver ecuación 10**). Donde; A, corresponde a la absorbancia medida de la solución; b, el paso óptico de la celda utilizada; C, la concentración molar de la solución; y  $\epsilon$ , el coeficiente de absortividad molar a la longitud de onda específica (Jaimes, 2022).

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad \text{Ecuación 10}$$

Para ello, se prepararon 5 soluciones en el rango de 10 a 30  $\mu\text{M}$  en THF, la absorbancia de cada solución se midió a la longitud de onda específica de  $\lambda=355$  nm.

### 4.2.3 Espectroscopía de Reflectancia difusa

Se midió el espectro de reflectancia difusa para conocer la absorción en estado sólido de cada una de las moléculas sintetizadas utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-2401PC con esfera de integración. Para ello, se depositaron las muestras en un porta muestras, y se midió en un

barrido espectral de 200 hasta 900 nm, con un *slit* de 0,5 nm. Para la medición del blanco se realizó con un porta muestras limpio. El *band gap* de los compuestos sintetizados fueron hallados mediante el método de Kubelka Munk (Miranda, 2019).

#### 4.2.4 Espectroscopía de Fluorescencia

La toma de espectros de fluorescencia se realizó en un espectrofluorímetro Quanta Master PTI a una longitud de onda de excitación de 355 nm, en un rango de 400 a 700 nm y un ancho de hendidura de 1 mm para la excitación y emisión. Para ello, se prepararon 5 soluciones en diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de cada uno de los compuestos sintetizados en un rango de 0,3 a 3,0 μM. La absorbancia de cada una de las soluciones se tomó en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-VIS a una longitud de onda específica λ=355 nm en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. El rendimiento cuántico de fluorescencia se calculó utilizando la **ecuación 11**, con el fin de conocer la probabilidad de desactivación de las moléculas sintetizadas de un estado excitado por mecanismo radiativo (fluorescencia), o no radiativo (García, 2015).

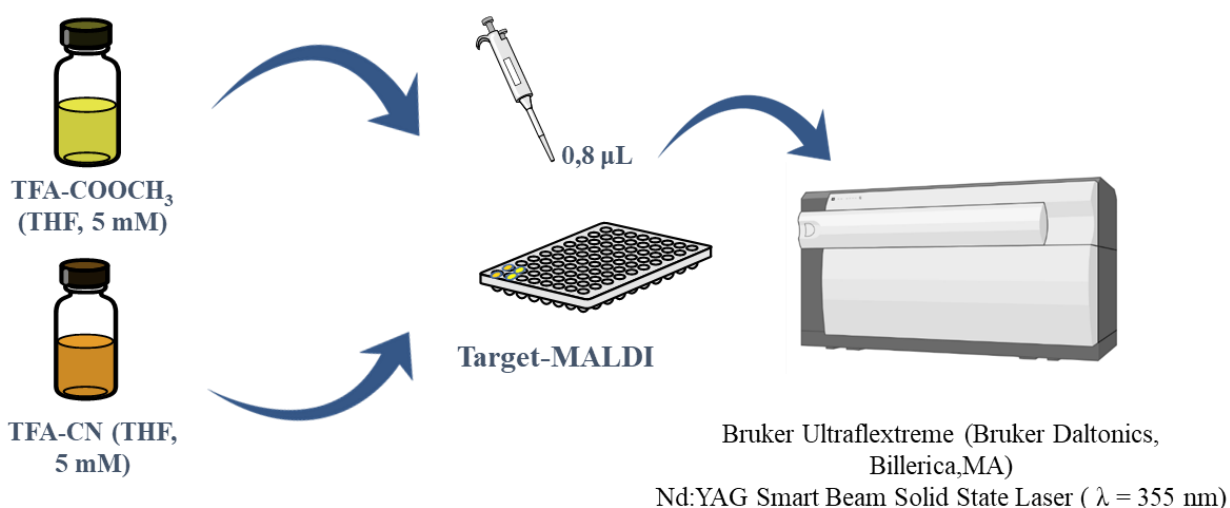
$$\Phi_X = \Phi_{ST} \left( \frac{m_X}{m_{ST}} \right) \left( \frac{n_X^2}{n_{ST}^2} \right) \quad \text{Ecuación 11}$$

Los subíndices x y ST corresponden a la muestra y el estándar, respectivamente;  $\Phi$ , corresponde al rendimiento cuántico de fluorescencia;  $m$ , a la pendiente luego de graficar área de emisión fluorescente Vs absorbancia y;  $n$ , al índice de refracción del solvente usado para la prepararon de las muestras. El rendimiento cuántico de fluorescencia del antraceno (estándar) se tomó de la literatura con un valor de 0,29 (Barros, 2019).

#### 4.2.5 Espectrometría de masas LDI

Los ensayos LDI MS (**Figura 15**) se realizaron en un espectrómetro de masas MALDI-TOF/TOF Bruker Ultraflex extreme – Bruker Daltonics, Billerica, MA. Equipado con un láser *Smart*

*Beam* de Nd:YAG ( $\lambda = 355$  nm) con frecuencia de 1 kHz y salida máxima de energía de 85  $\mu$ J aproximadamente por disparo y un pulso de duración de 6 ns con ancho de spot 10 – 100  $\mu$ m de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La obtención de los espectros de masas se realizó en un rango de  $m/z$  200 a 600 en modo reflectrón positivo y negativo usando un voltaje de aceleración de 25 Kv con PIE (*pulsed ion extraction*) de 100 ns. Asimismo, se realizaron ensayos LDI a diferentes energías del láser (10 a 100% de atenuación de la intensidad del láser), y a diferentes tiempos de extracción de iones (PIE) (0-250 ns), con el fin de analizar el comportamiento de las moléculas sintetizadas en fase gaseosa.



**Figura 15.** Preparación de compuestos D-A sintetizados para su análisis LDI empleando una solución de TFA-COOCH<sub>3</sub> de 5 mM y otra solución de TFA-CN de 5 mM. Se agregaron 0,8  $\mu$ L de cada una al portamuestra de MALDI.

De igual manera se realizaron ensayos de cationización para los compuestos D-A, para esto, se prepararon soluciones de NaCl y KCl a concentraciones entre 10 y 50 mM en MeOH, se mezclaron en volúmenes iguales con soluciones de TFA -CN (5mM en MeOH) y de TFA-COOCH<sub>3</sub> (5mM en MeOH). Se tomó una alícuota de 1  $\mu$ L y se sembró sobre el portamuestras MALDI (Jaimes, 2022).

Asimismo, se realizaron ensayos de protonación para los compuestos D-A, para esto, se preparó una solución de ácido fórmico en ACN:H<sub>2</sub>O (2:1, v/v) con concentraciones del 10 y 30 %, y se mezclaron en volúmenes iguales con soluciones de TFA -CN (5mM en THF) y de TFA-COOCH<sub>3</sub> (5mM en THF). Se tomó una alícuota de 1 μL y se sembró sobre el portamuestras MALDI (García, 2015).

#### 4.2.6 Cálculos de Energía de ionización

Para los cálculos de energía de ionización se hizo uso del programa en química cuántica ORCA utilizando las instalaciones de alto rendimiento [INKARI](#), ubicado en el "Instituto Astronómico y Aeroespacial Pedro Paulet", Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú. Las  $E_i$  se calcularon utilizando el teorema de Koopmans que establece que en la teoría de Hartree-Fock (HF), para sistemas de capa cerrada (*Closed-Shell*), la energía de ionización es igual al valor negativo de la energía orbital de frontera HOMO (Padilla Jaramillo et al., 2021). La representación matemática del teorema de Koopmans se representa en las **ecuaciones 12 y 13**.

$$\epsilon_N - \epsilon_{N-1} = h_k + \frac{1}{2} \sum_i = 1^{N \text{ elec}}(J_{ik}) - K_{ik} + \sum_j = 1^{N \text{ elec}}(J_{ij}) - K_{ij} \quad \text{Ecuación 12}$$

$$\epsilon_N - \epsilon_{N-1} = h_k + \frac{1}{2} \sum_i = 1^{N \text{ elec}}(J_{ik}) - K_{ik} = \epsilon_k \quad \text{Ecuación 13}$$

Donde  $\epsilon_k$  hace referencia a la energía del orbital HOMO. Esta energía  $\epsilon_k$  es el mismo valor hallado por la ecuación HF (**Ecuación 14**), donde  $\hat{F}_i$  es el operador Fock,  $\phi'_i$  es la longitud de onda, y  $\hat{\epsilon}_i$  es la energía (EG, 2011).

$$\hat{F}_i \phi'_i = \hat{\epsilon}_i \phi'_i \quad \text{Ecuación 14}$$

#### 4.2.7 Experimentos MALDI

Para evaluar el desempeño de los sistemas sintetizados como matrices MALDI de transferencia electrónica se prepararon diferentes soluciones de analitos y matrices (**Tabla 1**). Inicialmente, se preparó una solución de  $7,4 \times 10^{-4}$  mM de una mezcla de pigmentos de origen vegetal (derivados de clorofila en MeOH) y soluciones 3 mM de los compuestos TFA-CN, TFA-COOCH<sub>3</sub> y DCTB -matriz estándar- en MeOH con el fin de comparar los descriptores analíticos de las matrices bajo condiciones MALDI. Finalmente, se mezclaron las soluciones preparadas a diferentes relaciones A:M (1:1, 1:10, 1:100) y se depositó 1  $\mu$ L de la mezcla sobre el porta muestras de MALDI.

Asimismo, se realizaron ensayos MALDI para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), para esto se preparó una solución 1 mM en THF de dos HAP (coroneno, 1,9-difenilantraceno y hexafenilbenceno) junto con Ni-ftalocianina. Las matrices fueron preparadas en THF, 3 mM, y el desempeño analítico fue comparado con el de la matriz comercial DCTB.

**Tabla 1.** Condiciones de la preparación de la muestra para el análisis MALDI de pigmentos de origen vegetal (derivados de clorofila), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y Ni-ftalocianina.

ENSAYO	RELACIÓN ANALITO: MATRIZ (A:M)	
<b>Identificación de derivados de la clorofila (mezcla de pigmentos)</b>	1:10, 1:100, 1:1000 ~	TFA-CN
	1:10, 1:100, 1:1000 ~	DCTB
	1:10, 1:100, 1:1000 ~	TFA-COOCH <sub>3</sub>
<b>Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y Ni-ftalocianina</b>	1:10, 1:100, 1:1000 ~	TFA-CN
	1:10, 1:100, 1:1000 ~	DCTB
	1:10, 1:100, 1:1000 ~	TFA-COOCH <sub>3</sub>

La calibración del equipo MALDI se realizó utilizando una mezcla de bradiquidina, sustrato de renina, bombesina y leu-enkefalina y  $\alpha$ -CHCA como matriz MALDI (Signor & Boeri Erba, 2013). La preparación de las muestras para MALDI se realizó con el método *driep doplet*, las soluciones preparadas se agitaron por 30 segundos a 1500 rpm, y se depositó 1  $\mu$ L en el portamuestras MALDI, por triplicado.

## 5. Discusión de resultados

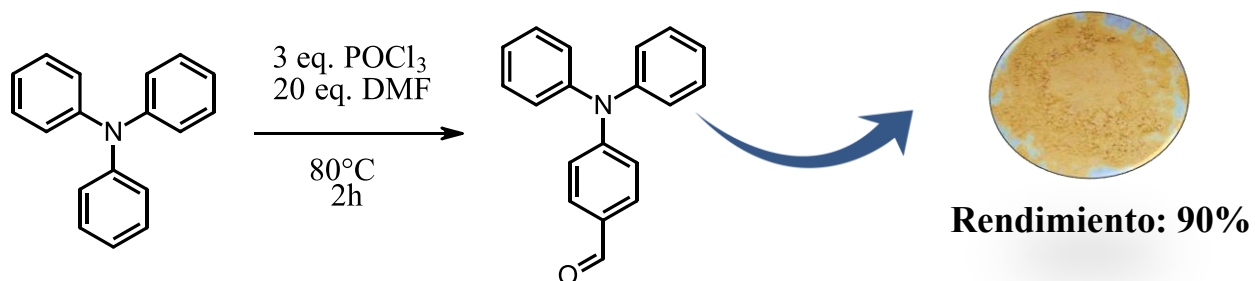
A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la investigación, los cuales se dividieron en tres etapas (**figura 16**).



**Figura 16.** Etapas de los resultados obtenidos durante el proyecto de investigación.

### 5.1 Síntesis de sistemas orgánicos Donor-Aceptor

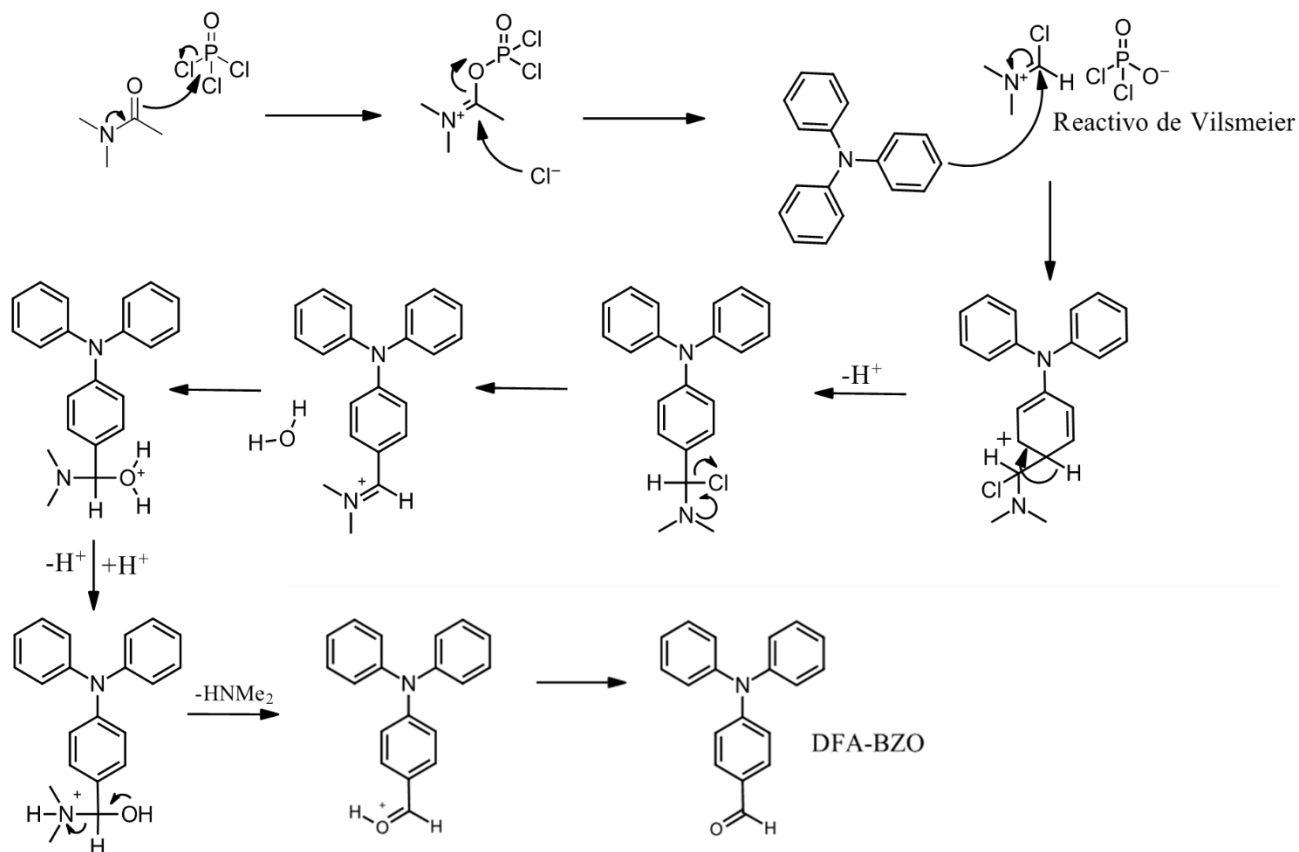
A continuación, se muestra el esquema de reacción para la obtención del 4-difenilaminobenzaldehído, el cual ha sido reportado previamente por otros autores en la literatura (Fu et al., 2020; Wang et al., 2015).



**Figura 17.** Esquema de síntesis del 4-difenilaminobenzaldehído utilizando la reacción de Vilsmeier con un rendimiento del 90 %.

La síntesis del compuesto 4-difenilaminobenzaldehído (DFA-BZO) se realizó mediante la reacción de Vilsmeier-Haack (**Figura 17**), la cual convierte un anillo aromático de alta densidad electrónica en un aldehído de arilo. La reacción se llevó a cabo en fase acuosa utilizando DMF y

un cloruro de ácido como el  $\text{POCl}_3$ . El mecanismo (**Figura 18**) comienza con la formación del reactivo de Vilsmeier, una sal de iminio que se forma por la reacción entre la DMF y el oxiclورو de fósforo.

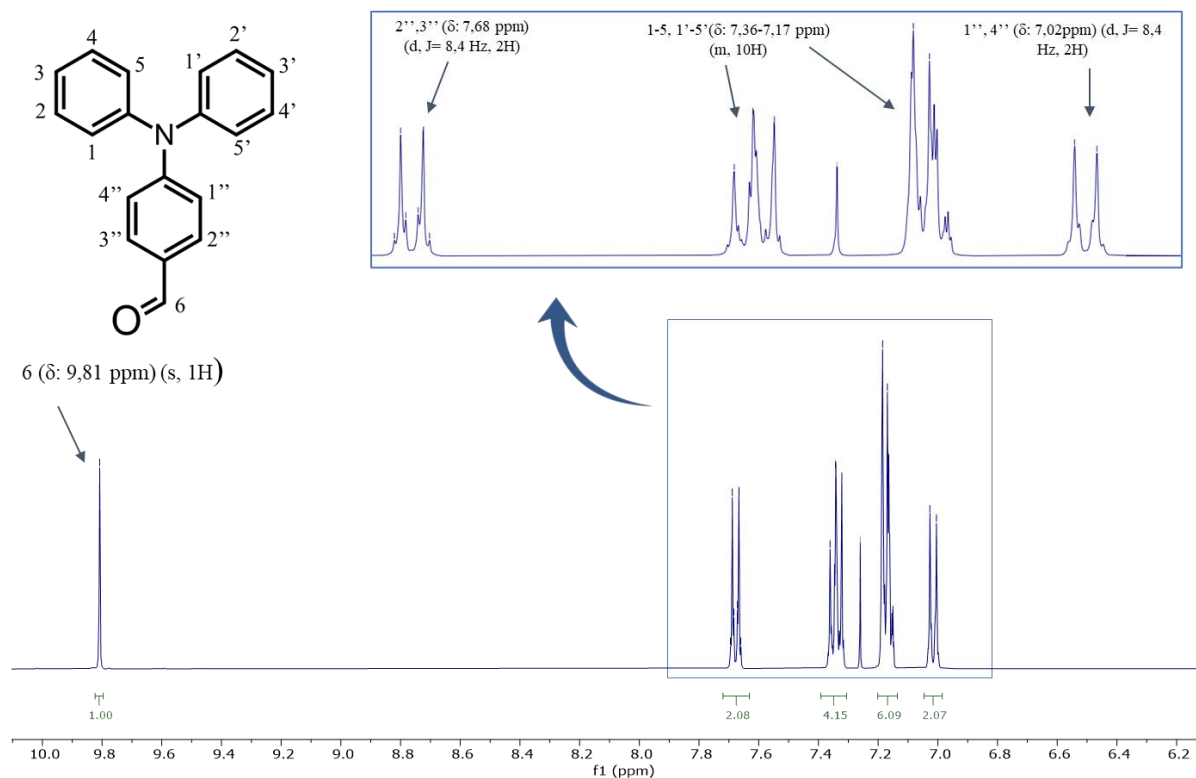


**Figura 18.** Mecanismo de la reacción de Vilsmeier-Haack para la preparación del difenilaminobenzaldehído haciendo uso de oxiclورو de fósforo (Haack, 1927).

Seguidamente, ocurre una sustitución electrofílica aromática sobre uno de los anillos aromáticos del núcleo de la trifenilamina, neutralizando el nitrógeno de la sal de iminio. La sustitución electrofílica aromática termina con la pérdida de un protón del intermediario formado, restaurando la aromaticidad. Seguidamente, el par solitario de electrones del nitrógeno expulsan

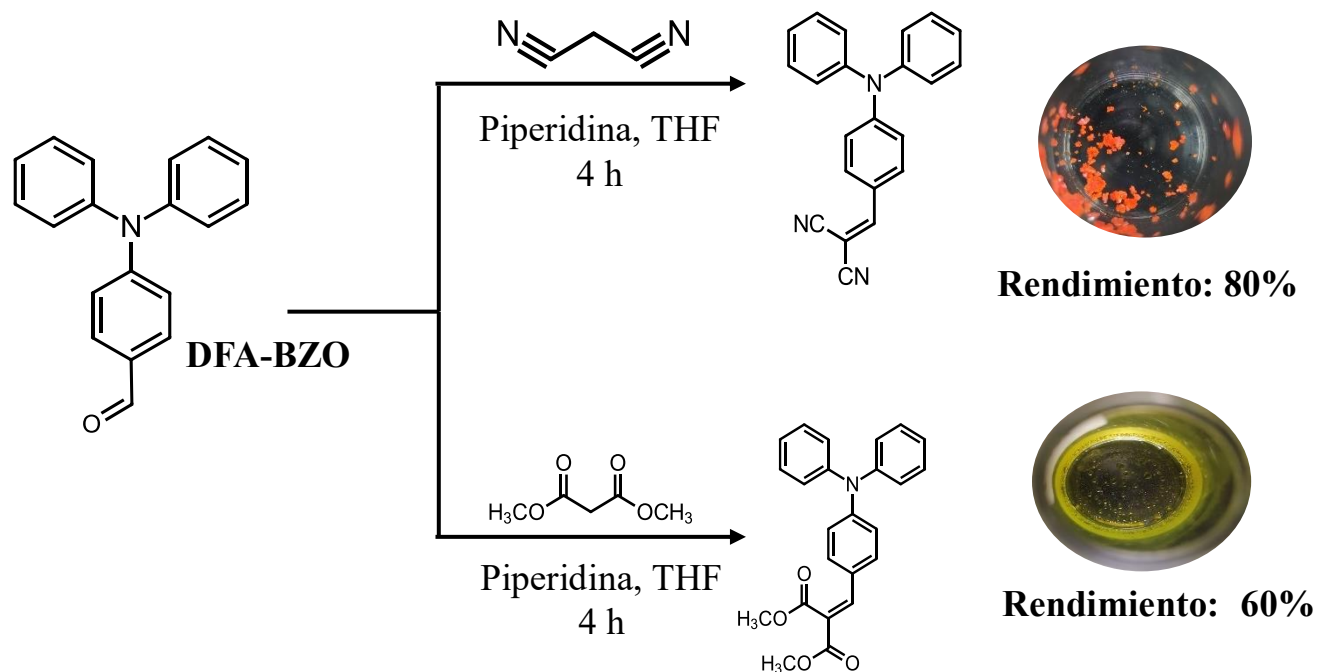
al cloro formando otro ion de iminio. Finalmente, el tratamiento acuoso conduce a la formación del aldehído de arilo (DFA-BZO) (Vilsmeier, 1927).

Mediante al análisis por RMN-<sup>1</sup>H del DFA-BZO (**Figura 19**) se observaron las señales características de los protones de la molécula, destacando la señal singlete del protón del aldehído a un desplazamiento químico de 9,81 ppm. Los protones de los aldehídos tienen desplazamientos químicos característicos entre 10-9 ppm. Los hidrógenos unidos a los anillos aromáticos monosustituídos (10H) se observan en desplazamientos químicos entre 7,36 y 7,17 ppm, consistente con los desplazamientos químicos característicos entre 8,5-6,5 ppm. Finalmente, los protones de arilo unidos al anillo del benzaldehído tienen distintos ambientes químicos debido a que un par se localiza cerca al nitrógeno, y el otro par se localiza cerca al carbono carbonílico. Estos protones de arilo presentaron una señal de doblete en un espectro de primer orden para los hidrógenos 2'' y 3'', en un desplazamiento químico de 7,68 ppm, y presentaron una señal doblete para los hidrógenos 1'' y 4'', a un desplazamiento químico de 7,02 ppm. Estas señales características del DFA-BZO ya han sido reportadas por otros autores mediante RMN (FRANCO, 2014; Fu et al., 2020).



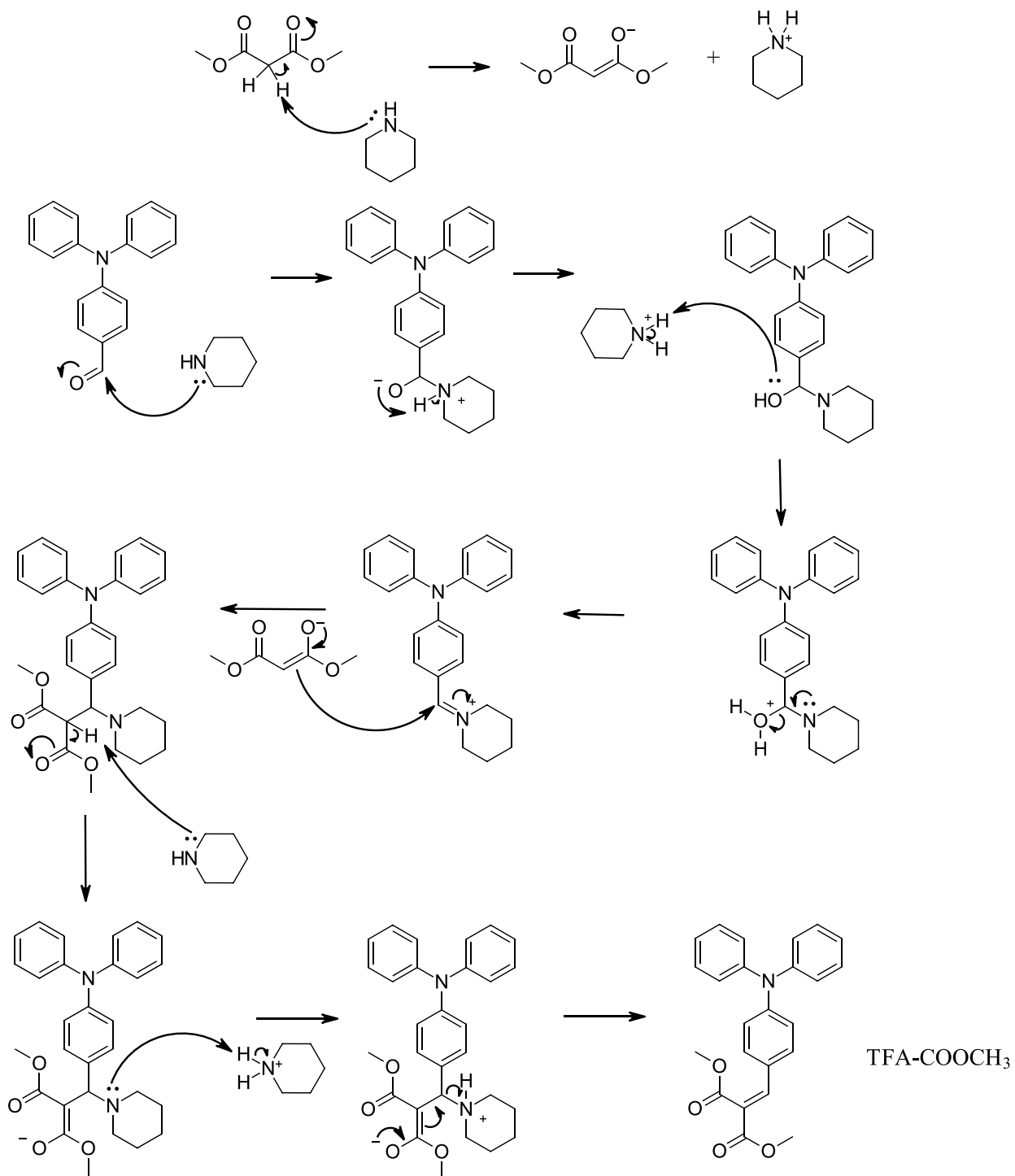
**Figura 19.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  del DFA-BZO con sus respectivos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para cada una de las señales.

Para la síntesis de los compuestos TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub> (**Figura 20**) se realizó una condensación de Knoevenagel en presencia de piperidina.



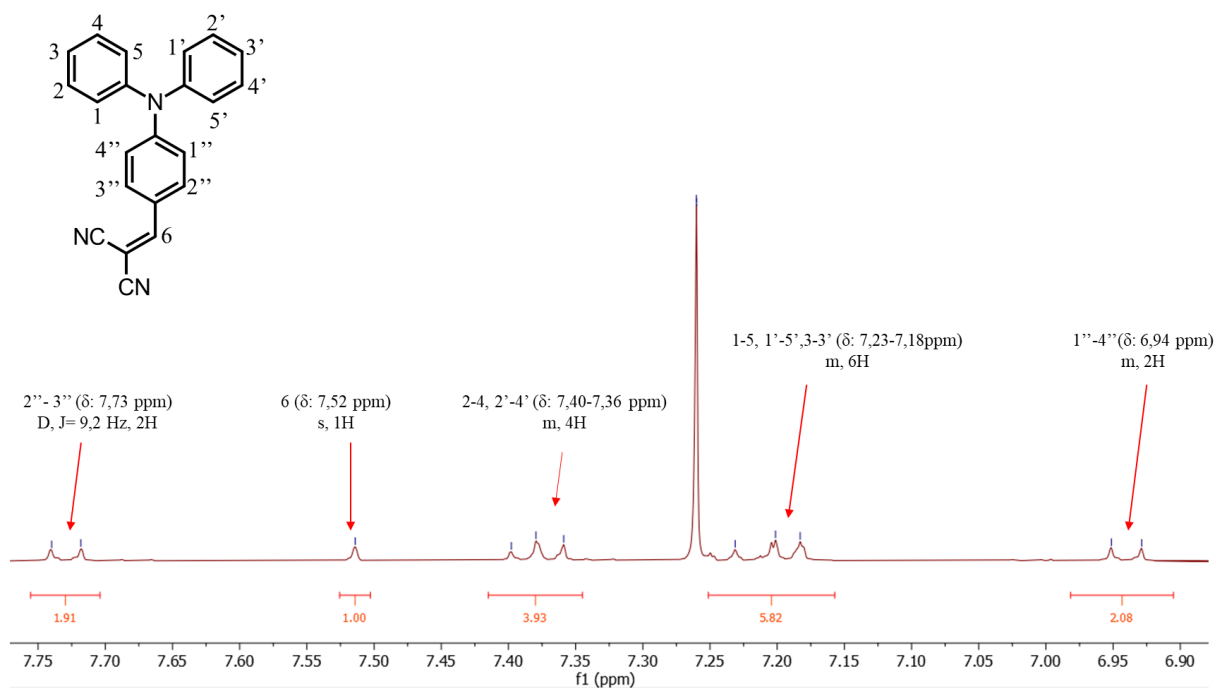
**Figura 20.** Esquema de la síntesis de TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub> mediante la condensación de Knoevenagel. Se muestran los rendimientos de reacción para cada uno de los sistemas sintetizados: 80 % para TFA-CN y un 60 % para TFA-COOCH<sub>3</sub>.

El mecanismo (**Figura 21**) de reacción empieza por la deprotonación del metileno complejo (malononitrilo o dimetilmalonato) por parte de la base de amina (piperidina) formando un anión. Este anión luego actúa como un nucleófilo y se une a la molécula aceptora del carbonilo para formar un producto aldólico. Finalmente, se produce una deshidratación obteniendo el producto de interés (**Figura 21**) (Dalessandro et al., 2017).



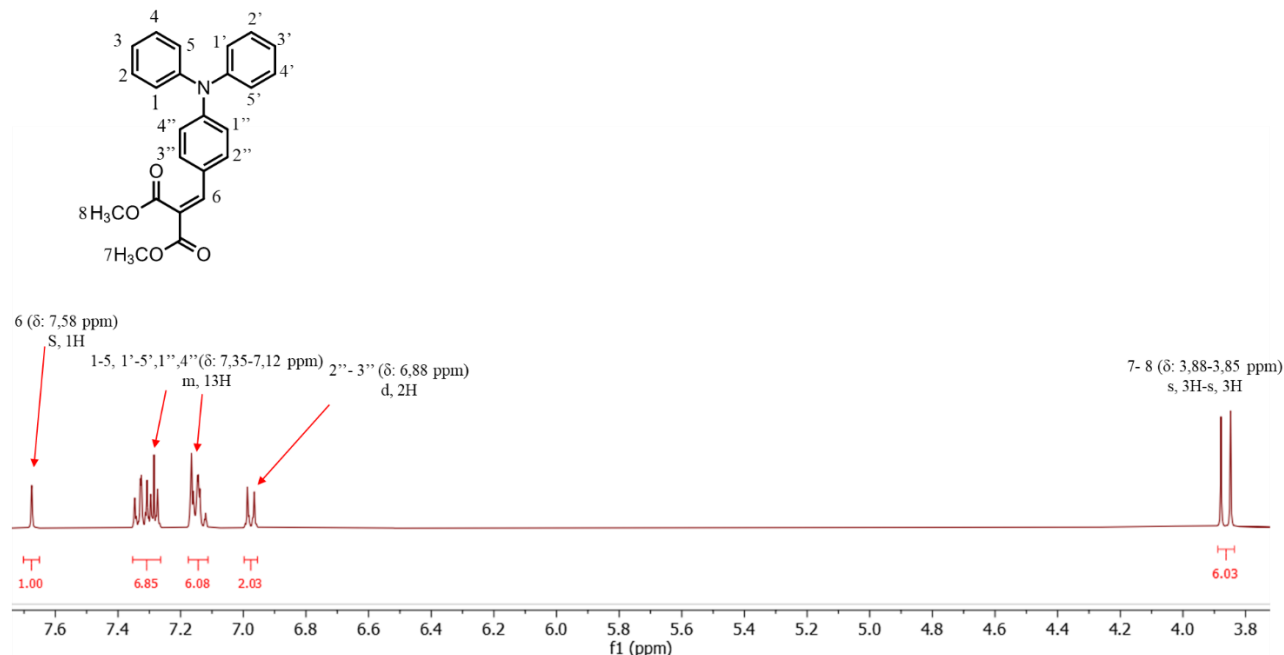
**Figura 21.** Mecanismo de condensación de Knoevenagel en presencia de piperidina para la formación de TFA-COOCH<sub>3</sub> (Dalessandro et al., 2017).

Los sistemas D-A sintetizados fueron caracterizados estructuralmente mediante  $^1\text{H}$ -RMN. Para la TFA-CN (**Figura 22**) se pudo observar la señal del singlete del protón vinílico (**6**) a un desplazamiento químico de 7,52 ppm, y para los protones más cercanos al nitrógeno del núcleo de la trifenilamina se observaron en señales multipletes de 7,15 ppm a 7,40 ppm. Los protones más desprotegidos son los hidrógenos más cercanos al grupo ciano (-CN) de uno de los fenilos a un desplazamiento químico de 7,73 ppm. Las señales observadas en el espectro  $^1\text{H}$ -RMN ya han sido reportadas anteriormente por Wang *et al.*



**Figura 22.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de la TFA-CN

Para la molécula de TFA-COOCH<sub>3</sub> (**figura 23**) sus señales características fueron el singlete del protón vinílico (**6**) con un desplazamiento químico de 7,58 ppm. Otras señales características son la de los protones 7 y 8 que se encuentran en los carbonos adyacentes del grupo carbonilo, *i.e.*, los protones de los grupos metilos, aparecen a señales de 3,84 y 3,87 ppm como dos singletes, esto se debe a que los dos protones un ambiente magnético diferente.



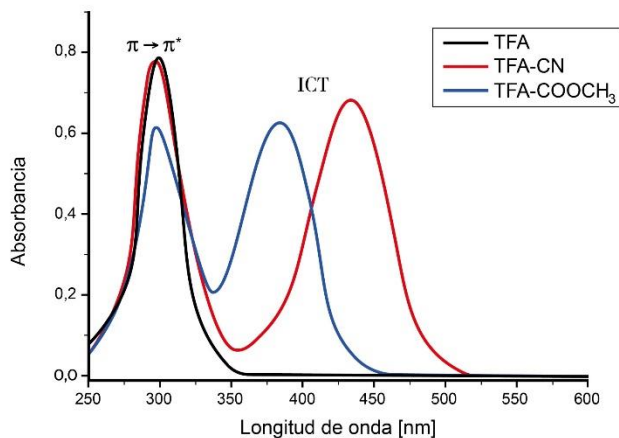
**Figura 23.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la TFA-COOCH<sub>3</sub>

Luego de la caracterización estructural realizada mediante resonancia magnética nuclear (RMN) se procedió a realizar la medición de las propiedades optoelectrónicas de los derivados sintetizados previamente, como se muestra a continuación.

## 5.2 Determinación y caracterización de las propiedades espectroscópicas y optoelectrónicas de los sistemas D-A sintetizados.

### 5.2.1 Espectroscopía UV-Vis

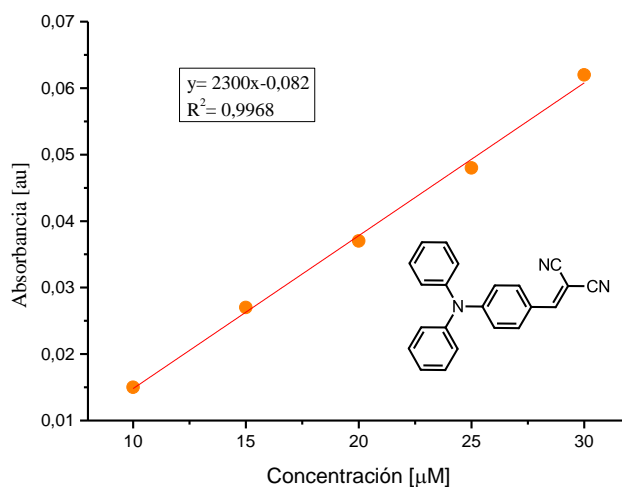
El espectro UV-Vis brinda información acerca de las transiciones electrónicas presentes en la molécula. El espectro de absorción UV-Vis del núcleo de la TFA (**Figura 24**) muestra una transición electrónica principal (región visible) entre el orbital HOMO ( $\pi$ ) y el orbital LUMO ( $\pi^*$ ) a una longitud de onda máxima de 300 nm, es decir, una transición electrónica  $\pi \rightarrow \pi^*$ , dicha transición ocurre por la presencia de electrones  $\pi$  en los anillos aromáticos de la TFA (Balasarayanan et al., 2015).



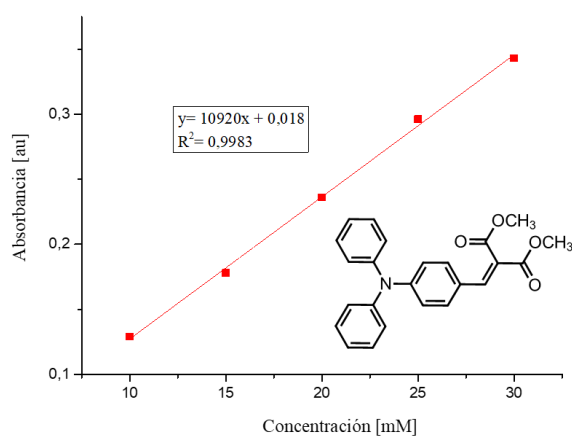
**Figura 24.** Espectro de absorción UV-Vis de la TFA, TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub>. El espectro de absorción muestra la transición electrónica  $\pi \rightarrow \pi^*$  y la banda de absorción a causa de la transferencia de carga intramolecular (ICT) de los sistemas D-A.

Al comparar el espectro de absorción UV-Vis de la TFA con los sistemas D-A sintetizados se pudo observar la aparición de una nueva banda de absorción (**Figura 24**). La banda de absorción mencionada para la TFA-CN presenta una longitud de onda máxima de 450 nm y para la TFA-COOCH<sub>3</sub> una longitud de onda máxima de 384 nm. La nueva banda de absorción observada para los sistemas D-A es atribuida a una transferencia de carga intramolecular (ICT) ya reportada anteriormente al realizar experimentos de solvatochromismo con la molécula de TFA-CN (Tang et al., 2010). En la literatura, se han reportado las bandas de absorción máxima para el estado ICT de la molécula de TFA-CN en un solvente apolar como el hexano (427 nm), y en un solvente polar como el diclorometano (440 nm), los resultados reportados son comparables con la longitud de onda de absorción máxima obtenida de la TFA-CN en un solvente polar como el THF (434 nm) (Tang et al., 2010). Los efectos de solvatochromismo demuestran la existencia de la especie D-A, ya que los procesos de absorción en las especies que sufren procesos de transferencia de carga son perturbados por la polaridad del disolvente (Ripaud et al., 2011).

Ahora bien, se calcularon los coeficientes de absorptividad molar para los compuestos D-A sintetizados a una longitud de onda de 355 nm, ya que el láser utilizado en MALDI emite radiación a esta longitud de onda. En la **Figura 25** se observa la tendencia lineal y los coeficientes de absorptividad molar para la TFA-CN ( $\epsilon_{355} = 2300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) y para la TFA-COOCH<sub>3</sub> ( $\epsilon_{355} = 10920 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).



a)



b)

**Figura 25.** Cálculo del coeficiente de absorptividad molar para los sistemas D-A, a) TFA-CN b) TFA-COOCH<sub>3</sub>.

Cabe resaltar que el sistema conjugado de electrones  $\pi$  que poseen estos compuestos les brinda características cromofóricas. El grupo TFA no posee color en solución, pero la TFA-CN tiene un color rojo-anaranjado y la TFA-COOCH<sub>3</sub> tiene un color amarillo claro, esto debido a la presencia de los grupos -CN y -COOCH<sub>3</sub> que alteran la capacidad de absorción de la molécula (Sek et al., 2019; Wurthner, 2016). La diferencia de los valores obtenidos de los coeficientes de absorptividad molar de los compuestos va en que el grupo -CN es un grupo atractor más fuerte que el grupo -COOCH<sub>3</sub>, y los grupos entre más atractores sean, generan desplazamientos hacia al rojo del espectro UV-Vis (Desplazamiento batocrómico) (Tahir et al., 2019). Por ende, la TFA-CN posee un valor del coeficiente de absorptividad molar menor que la del TFA-COOCH<sub>3</sub>, ya que su espectro de UV-Vis (**Figura 24**) al tener un desplazamiento mayor hacia al rojo disminuye la capacidad de absorción a 355 nm.

Las matrices ET comerciales como el DCTB que tiene un coeficiente de absorptividad molar de 30,144 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, o algunos sistemas basados en FV como FV-CN, FV-OH, FV-COOCH<sub>3</sub> que han sido propuestos como matrices ET poseen valores de absorptividad molar mayores al DCTB (García, 2015). Sin embargo, los valores obtenidos para los compuestos sintetizados son menores comparados con las moléculas mencionadas anteriormente.

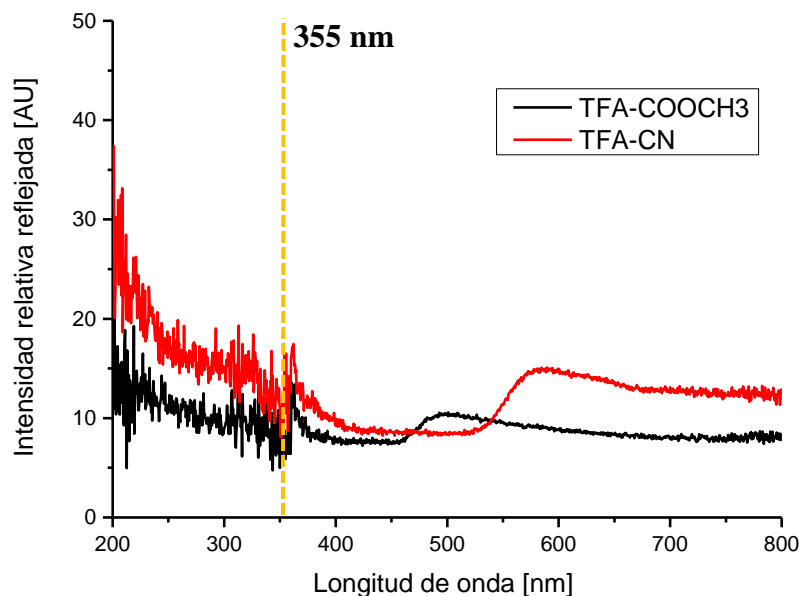
Asimismo, y debido a que en MALDI los procesos de ionización ocurren en fase condensada, y a que el desempeño de las matrices depende de las propiedades fisicoquímicas medidas en estado sólido, se procedió a medir las propiedades espectroscópicas en fase sólida.

### 5.2.2 Espectroscopía de reflectancia difusa (DRS)

La técnica espectroscópica molecular de reflectancia difusa es una espectroscopía de absorción en UV-Vis en estado sólido. Esta técnica brinda información de la energía absorbida y reflejada del compuesto de interés, por lo cual el espectro de UV-Vis medido en espedo líquido

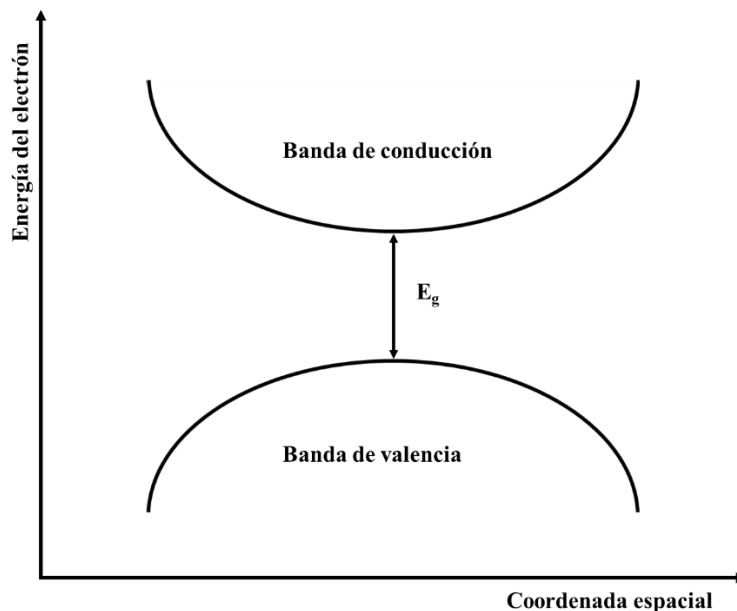
complementa el espectro obtenido en reflectancia difusa, ya que la energía absorbida en el espectro de UV-Vis es reflejada en el espectro de reflectancia, y viceversa (Hecht, (1976)). De igual manera, los espectros de reflectancia proporcionan información de las transiciones electrónicas entre los orbitales HOMO y LUMO, esto se evidencia por el aumento lineal de la absorbancia en una longitud de onda específica.

La **figura 26** muestra los espectros de reflectancia difusa para los sistemas D-A sintetizados en un rango de 200 a 800 nm.



**Figura 26.** Espectro de reflectancia difusa de los sistemas D-A sintetizados.

El método Kubelka-Munk permite hallar la energía de banda denominada Band Gap ( $E_g$ ). El Band Gap ( $E_g$ ) tiene un significado muy importante en la química de los materiales semiconductores, ya que esta se define como la diferencia entre la energía máxima de un estado de la banda de valencia (BV) y el mínimo de un estado de conducción (BC) (**Figura 27**) (Orea, 2018).

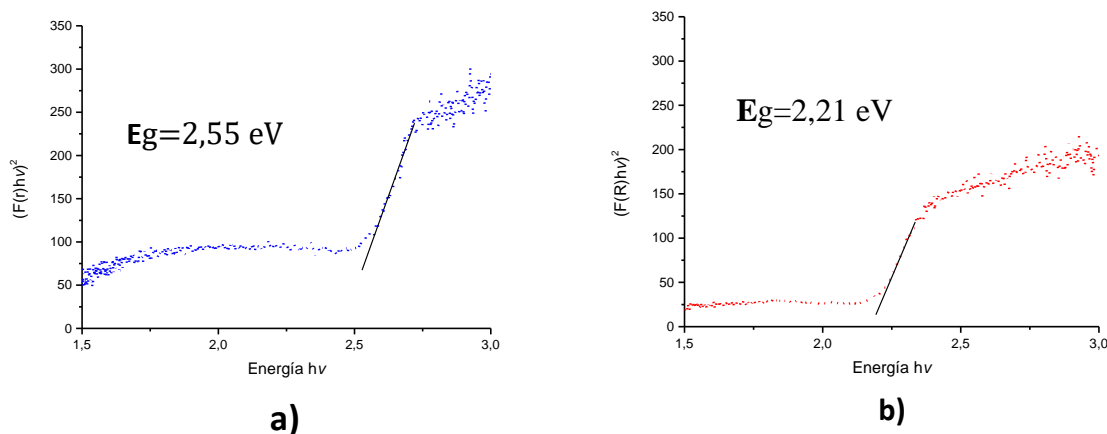


**Figura 27.** Representación gráfica simplificada de la estructura electrónica de bandas.

Ahora bien, con el método Kubelka-Munk se puede hacer una analogía con materiales absorbentes como las matrices MALDI, permitiendo calcular la energía mínima necesaria para llevar un electrón de su estado de valencia a un estado excitado, *i.e.*, de su estado HOMO a su estado LUMO. En MALDI la ionización de las moléculas está relacionada con la formación de estados excitados intermedios, por lo tanto, el band gap está relacionado con la probabilidad de formar estos estados. El band gap sugiere que los compuestos con menores band gap son más fáciles de ionizar (Miranda, 2019).

El valor del band gap de los sistemas sintetizados se obtuvo utilizando el método Kubelka-Munk a partir de la transformación de los datos de reflectancia difusa. El método Kubelka-Munk permite relacionar la magnitud  $(F(R)hv)^{1/2}$ , que es la función de Kubelka-Munk y hace referencia a la transición indirecta entre el estado HOMO y LUMO vs la energía de la fuente de radiación. La **figura 28** muestra el band gap para la TFA-CN que fue de 2,21 eV y de la TFA-COOCH<sub>3</sub> que fue de 2,55 eV. Cabe resaltar que la fuente del láser en MALDI de 355 nm tiene una

energía de 3,49 eV, con lo que se puede concluir que la absorción de un fotón en MALDI por parte de las moléculas permite la formación del excitón molecular.



**Figura 28.** Valores Band gap obtenidos por el método de Kubelka-Munk a) TFA-COOCH<sub>3</sub> b) TFA-CN

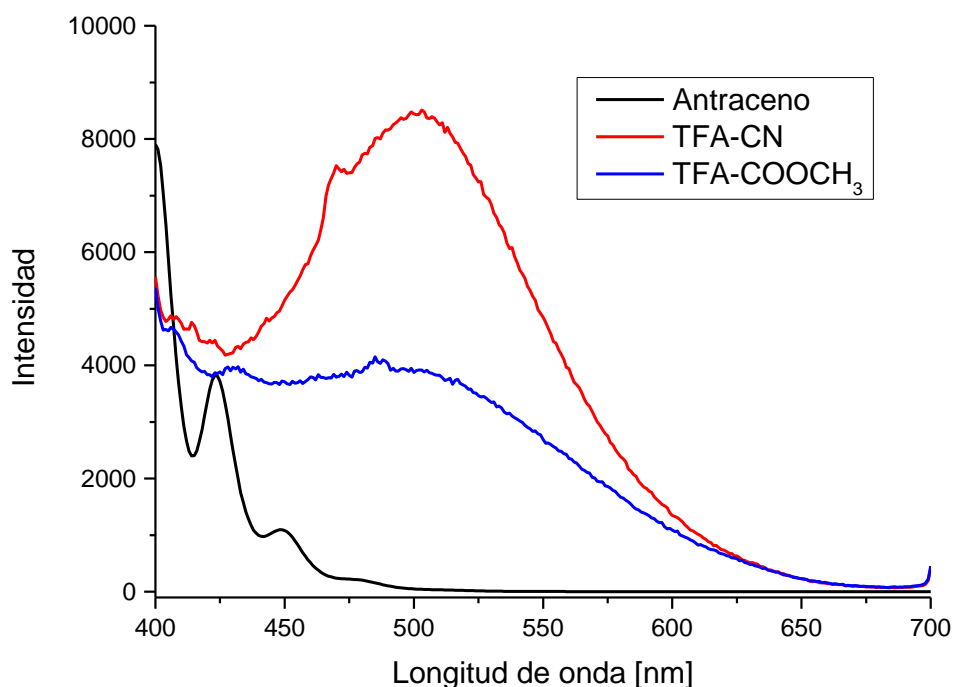
Se han reportado valores de Band gap para moléculas basadas en  $\alpha$ -cianofenilenvinilenos como matrices MALDI ET con valores que varían entre 1,93-2,97 eV. Para la  $\alpha$ -CNFV-CH<sub>3</sub> que tuvo el mejor comportamiento en condiciones MALDI en el análisis de HAP se obtuvo un Band Gap igual a 2,58 eV (Miranda, 2019). Lo que indica que los Band gap obtenidos para los compuestos sintetizados son comparables con otras clases de moléculas que exhiben comportamientos de transferencia electrónica.

### 5.2.3 Espectroscopía de fluorescencia molecular

La espectroscopía de fluorescencia molecular o también llamada fluorimetría, es una técnica espectroscópica de emisión que consiste en un tipo de luminiscencia producida por la absorción de un fotón en el estado fundamental de singlete de la molécula, llevándola a un estado excitado de singlete. Cuando la molécula se relaja del estado excitado a su estado fundamental

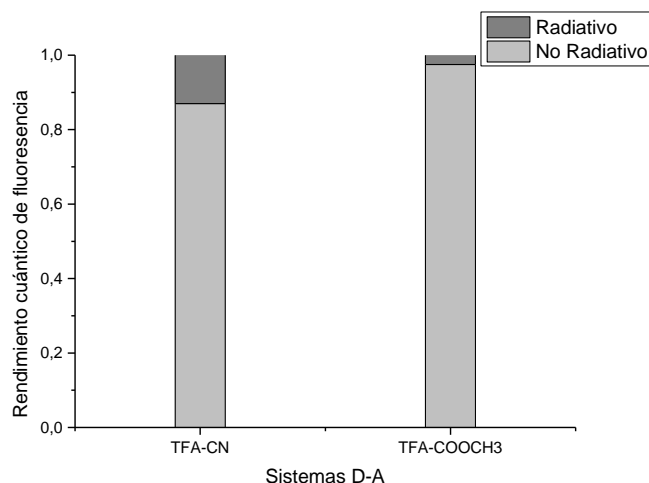
emite un fotón de menor energía, que corresponde a una longitud de onda más larga que el fotón absorbido (Lakowicz, 2006).

El rendimiento cuántico de fluorescencia (FQY), relaciona el número de fotones absorbidos con el número de fotones emitidos por parte de la molécula, *i.e.*, el FQY proporciona información acerca de la probabilidad con que una molécula excitada regrese a su estado fundamental con emisión de fotones (Rurack & Spieles, 2011). Así mismo, el FQY se relaciona con la capacidad que tiene un sólido para calentarse, expandirse y emitir fotones, procesos importantes en la ionización en MALDI (Castellanos-Garcia et al., 2017). El análisis del FQY se realizó de acuerdo con la metodología planteada en la sección 4.2.4. En la **figura 29** se muestran los espectros de fluorescencia de los sistemas D-A sintetizados y del estándar utilizado (antraceno).



**Figura 29.** Espectro de fluorescencia de los sistemas D-A sintetizados y del estándar utilizado (antraceno), a una longitud de onda de excitación de 355 nm.

El FQY se calculó por el método reportado por Williams y colaboradores (Williams et al., 1983). Para el cálculo del FQY se hizo uso de la ecuación 11 que se encuentra en la sección 4.2.4 de la metodología. En la **figura 30** se muestran los decaimientos cuánticos de fluorescencia radiativos ( $\Phi_R$ ) y no radiativos ( $\Phi_{NR}$ ) de los sistemas D-A sintetizados.



**Figura 30.**  $\Phi_R$  y  $\Phi_{NR}$  para TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub> a 355 nm.

La TFA-CN exhibe un valor de  $\Phi_R = 0,13$  y la TFA-COOCH<sub>3</sub> exhibe un valor de  $\Phi_R = 0,025$ , *i.e.*, en los sistemas D-A sintetizados predominan decaimientos cuánticos de fluorescencia no radiativos a una longitud de onda de excitación de 355 nm. Lo anterior es interesante, ya que en espectrometría de masas bajos valores de  $\Phi_R$ , o en su defecto altos valores de  $\Phi_{NR}$ , promueven un camino de relajación térmico que favorece la liberación de iones a la fase gaseosa, permitiendo así mecanismos de transferencia de electrones (Hoteling et al., 2017).

Ahora bien, en los sistemas donde ocurren transferencias de carga intramolecular (ICT) como los compuestos Donor-Aceptor, se ha estudiado que, al aumentar la permitividad relativa del disolvente hay un decaimiento del rendimiento cuántico de fluorescencia, es decir que la polaridad del disolvente interviene en el tiempo de vida media de la fluorescencia de la molécula

(Wildervanck et al., 2022). Así mismo, la deformidad de la estructura planar de estos compuestos afecta el FQY, disminuyendo los valores de  $\Phi_R$  (Castellanos-Garcia et al., 2017; Tang et al., 2010). Los espectros de fluorescencia se midieron una longitud de onda de excitación  $\lambda = 355$  nm, debido a que esta es la longitud de onda en la que opera el láser del equipo MALDI MS.

#### 5.2.4 Espectrometría de masas LDI

En los experimentos espectroscópicos donde se necesita disolver la muestra en diferentes disolventes, como en UV-Vis que se disolvieron los compuestos sintetizados en THF, o en fluorescencia que se disolvieron en diclorometano. Los disolventes juegan un papel importante al estudiar los sistemas D-A, ya que el disolvente interactúa con la molécula y dependiendo de sus características fisicoquímicas como su temperatura, polaridad, viscosidad, pueden alterar el comportamiento de transferencia de carga en los sistemas *push-pull* (Wildervanck et al., 2022). Ahora, es sabido que en espectrometría de masas MALDI las reacciones son en fase gaseosa, la ionización se da gracias a la capacidad que tienen las moléculas o la matriz para desorber en la cámara de ionización debido a la interacción de estas con la fuente de radiación (Gross, 2017; Qiao & Lissel, 2021). Los espectros LDI de los compuestos sintetizados se tomaron de acuerdo con la metodología planteada en la sección 4.2.5.

Los espectros LDI de los compuestos D-A sintetizados mostraron la existencia de las especies catión y anión radical para cada molécula (**Tabla 2**), evidenciando la existencia de la transferencia de carga intramolecular en fase gaseosa. La TFA-CN ( $C_{22}H_{15}N_3$ ) con masa monoisotópica 321,1264 u, mostró en LDI en modo positivo (**Figura 32**) la existencia del ion molecular con una relación masa-carga ( $m/z$ ) de 321,1270, con una relación Señal-Ruido (S/N) de 5503 y una resolución (R) de 654. De acuerdo con la regla del nitrógeno en espectrometría de masas (**Figura 31**) la relación  $m/z$  obtenida para la TFA-CN sugiere la formación del catión-

radical, ya que la TFA-CN ( $C_{22}H_{15}N_3$ ), tiene una masa impar (321,1264 u) y su fórmula molecular nos indica que tiene un número impar de nitrógenos.

### La regla del nitrógeno

Masa	Catión-Radical	Catión
Par	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. No tiene Nitrógeno</li> <li>2. Tiene número par de átomos de Nitrogeno</li> </ol>	Tiene número impar de átomos de nitrógeno
Impar	Tiene número impar de átomos de nitrógeno	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. No tiene Nitrógeno</li> <li>2. Tiene número par de átomos de Nitrogeno</li> </ol>

**Figura 31.** Regla del nitrógeno

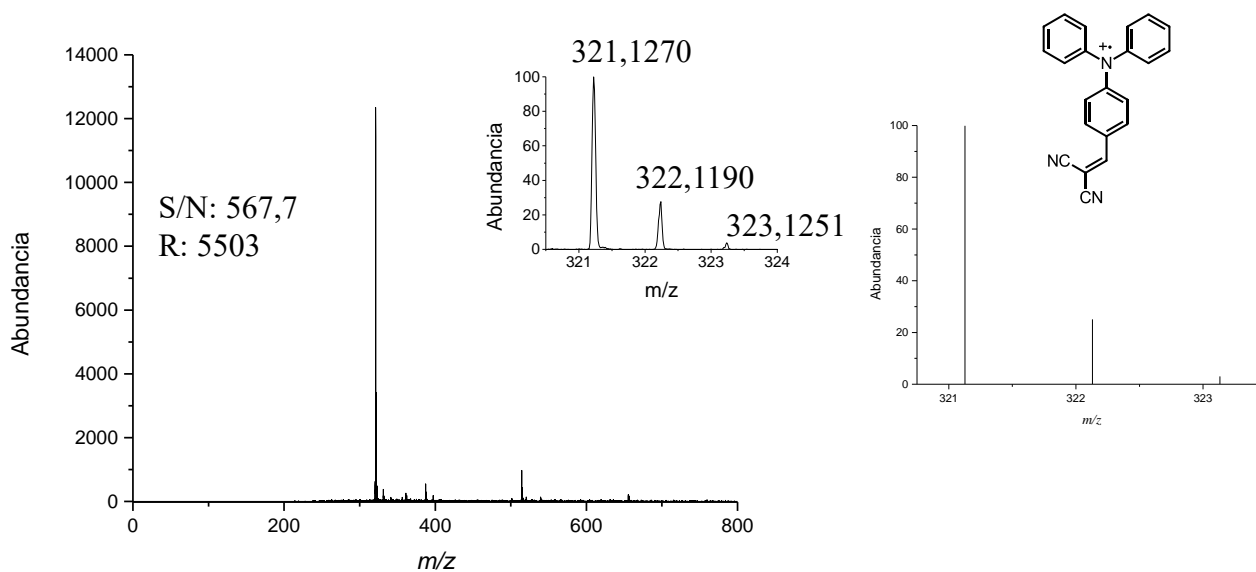
También se comparó el patrón isotópico del catión radical con el patrón isotópico calculado obtenido a partir del programa *IsotopePattern* (Tabla 2). Así mismo, la **figura 33** muestra el espectro LDI en modo negativo de la TFA-CN, que demuestra la existencia del anión radical con una relación masa-carga ( $m/z$ ) de 321,1270, con S/N de 901,8 y una R de 7150.

**Tabla 2.** Comparación de las abundancias relativas obtenidas de la TFA-CN en el ensayo LDI en modo positivo comparada con la abundancia relativa calculada en el programa *IsotopePattern*.

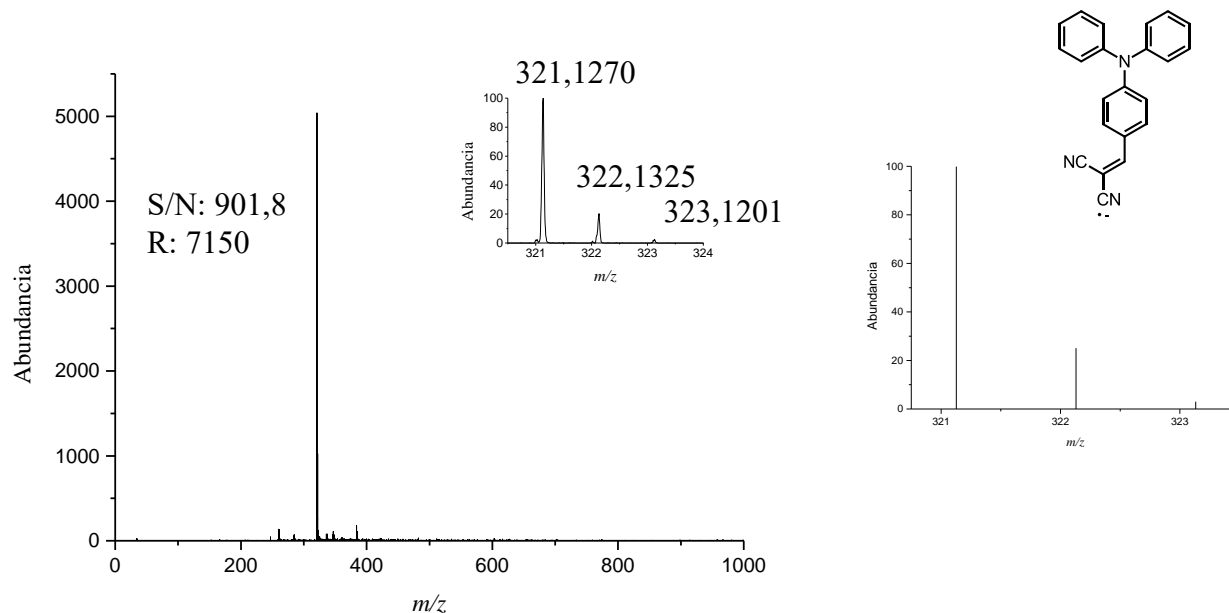
# Isotópologo	Abundancia Relativa calculada	Abundancia relativa experimental
1	100	100
2	25,063	27,42
3	3,01	3,2

**Tabla 3.** Identificación de compuestos D-A en LDI modo positivo y negativo con su fórmula molecular, masa experimental, masa calculada, exactitud de masa relativa y su relación S/N.

Especie	Fórmula molecular	Masa experimental	Masa calculada	$\Delta$ ppm	Relación S/N
$TFA^{+} - CN$	$C_{22}H_{15}N_3$	321,1270	321,1264	1,87	654
$TFA^{+} - COOCH_3$	$C_{24}H_{21}NO_4$	387,1471	387,1468	0,76	4530,1
$TFA - CN^{-}$	$C_{24}H_{21}NO_4$	321,1270	321,1264	1,87	901,8
$TFA - COOCH_3^{-}$	$C_{24}H_{21}NO_4$	387,1470	387,1468	0,51	7028



**Figura 32.** Espectro de masas LDI en modo iones positivo de la TFA-CN a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu$ L depositado sobre el porta muestras MALDI. El acercamiento corresponde al patrón isotópico del ion molecular, y se compara con el patrón isotópico calculado. El espectro LDI muestra la formación del catión radical de la TFA-CN.

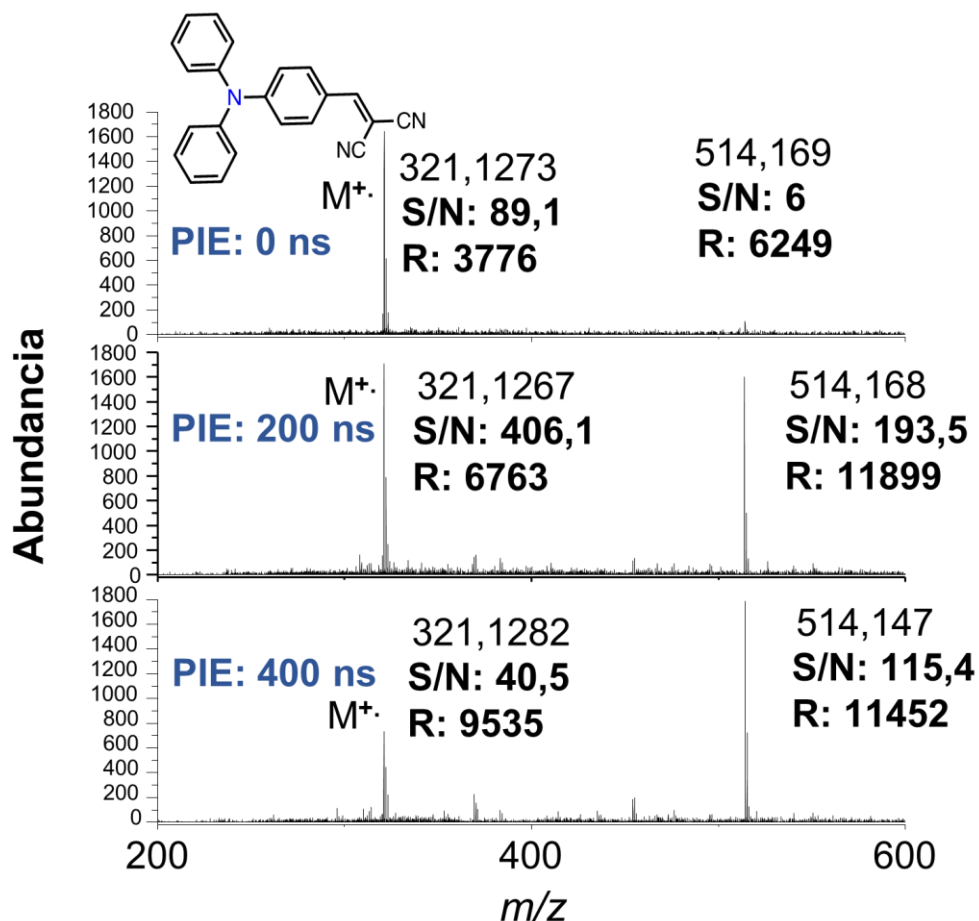


**Figura 33.** Espectro de masas LDI en modo iones negativo de la TFA-CN a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu\text{L}$  depositado sobre el porta muestras MALDI. El acercamiento corresponde al patrón isotópico del ion molecular, y se compara con el patrón isotópico calculado. El espectro LDI muestra la formación del anión radical de la TFA-CN.

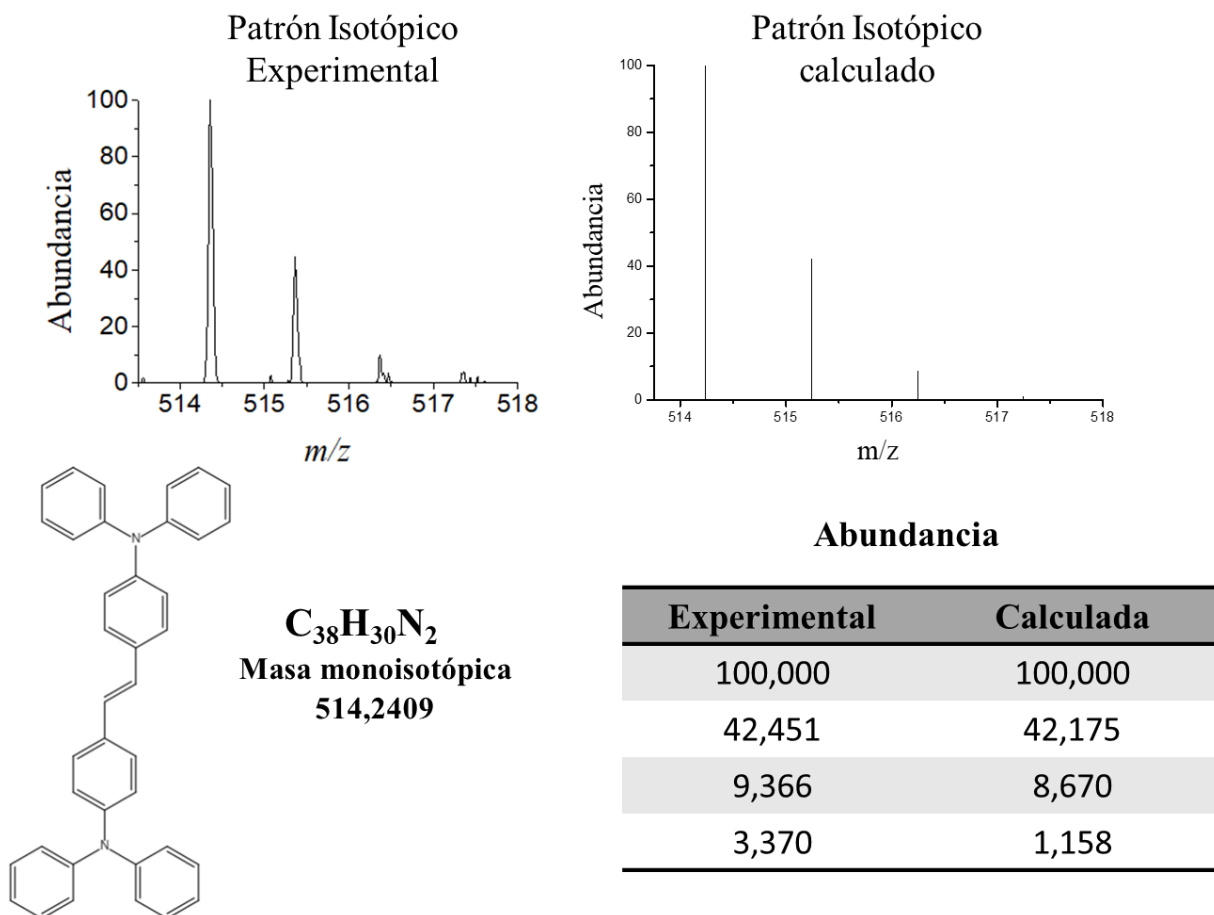
En el espectro de masas de la TFA-CN en LDI modo positivo, se observó la sobrevivencia de un ion con una relación  $m/z$  alrededor de 514,168. Para analizar el comportamiento del ion se varió el tiempo de extracción de iones PIE (0-400 ns), lo que mostró la sobrevivencia de este ion al aumentar el tiempo de extracción de iones (**Figura 34**). Probablemente este ion corresponda a la formación del catión radical de la Bencenamina, 4,4'-(1E)-1,2-etendibis[N,N-difenil- (9CI, ACI), como derivado de la síntesis. En la literatura se ha reportado metodologías de síntesis para sintetizar esta molécula a partir del DFA-BZO (Wang, 2001). Esta molécula con fórmula

molecular de  $C_{38}H_{30}N_2$ , tiene una masa monoisotópica de 514, 2409 u. Se comparó el patrón isotópico de la señal obtenida del ion, con el patrón isotópico calculado (**Figura 35**).

Ahora bien, los ensayos de variación del PIE para analizar el comportamiento del ion con  $m/z$  de 514,68 mostró aumento de la abundancia al aumentar el PIE. Sin embargo, al aumentar el tiempo de extracción de iones hay una disminución de la señal correspondiente a la TFA-CN ( $m/z$ : 321,1270). Esto quiere decir que probablemente la TFA-CN esté participando en reacciones en fase gaseosa para formar el ion con  $m/z$  de 514,68.



**Figura 34.** Espectro LDI de TFA-CN en modo ion positivo con variación del PIE a 0 ns, 200 ns, y 400 ns. Los espectros LDI a diferentes tiempos de extracción de iones muestran la aparición del ion con una relación  $m/z$  alrededor de 514,169.



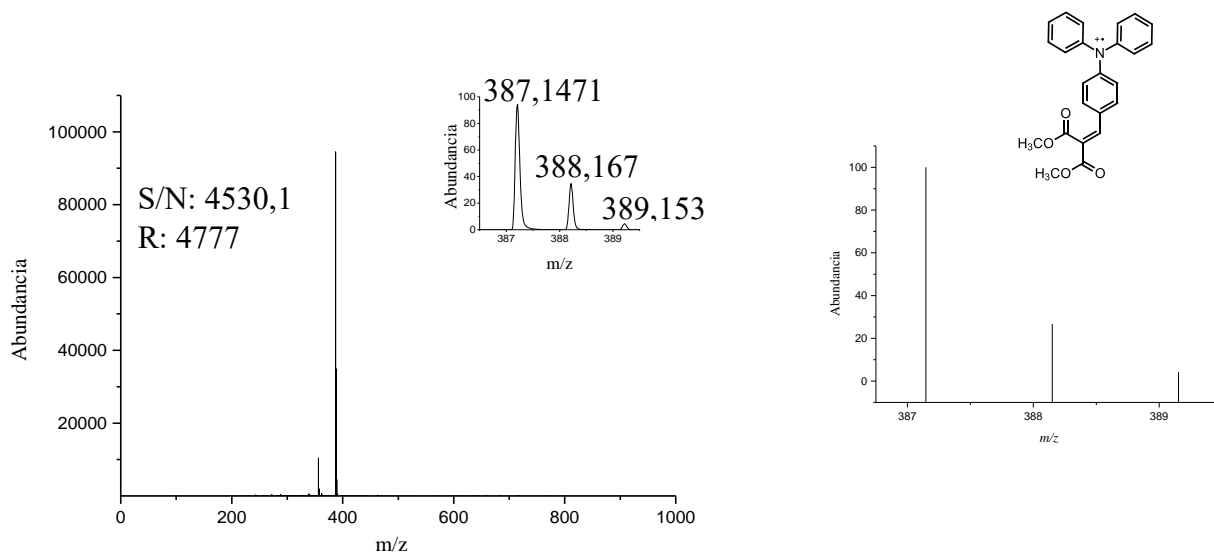
**Figura 35.** Comparación del patrón isotópico experimental y el calculado para el ion propuesto de relación  $m/z$  de 514,168. Asimismo, se comparan las abundancias experimentales y calculadas para el ion que se observa en el espectro LDI de la TFA-CN en modo positivo.

Para la TFA-COOCH<sub>3</sub> (C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>), masa monoisotópica de 387,1468 u, mostró en su espectro LDI en modo positivo (**Figura 36**) la existencia del ion molecular con  $m/z$  de 387, 1471, S/N de 4530,1 y R de 4777. Además, se comparó el patrón isotópico del ion molecular con el patrón isotópico calculado (**Tabla 4**). Así mismo, la **figura 37** muestra el espectro LDI en modo negativo de la molécula, que demuestra la existencia del anión radical con  $m/z$  de 387,1470, con

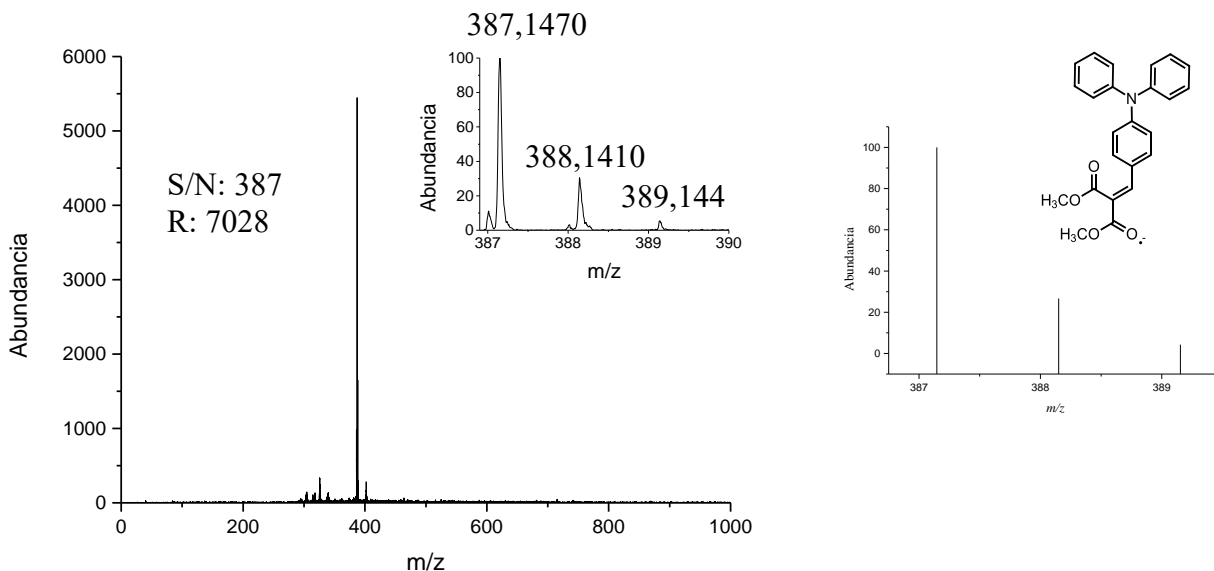
relación S/N de 387,0 y R de 7028. Cabe resaltar que en el espectro LDI de esta molécula se observa una señal a una  $m/z$  de 356,185 que se debe a la pérdida de un grupo  $-OCH_3$ .

**Tabla 4.** Comparación de las abundancias relativas obtenidas de la TFA-COOCH<sub>3</sub> en el ensayo LDI en modo positivo comparada con la abundancia relativa calculada en el programa *IsotopePattern*.

# Isotópologo	Abundancia Relativa calculada	Abundancia relativa experimental
1	100	100
2	26,717	28,92
3	4,250	4,02



**Figura 36.** Espectro de masas LDI en modo iones positivo de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu$ L depositado sobre el porta muestras MALDI. El acercamiento corresponde al patrón isotópico del ion molecular, y se compara con el patrón isotópico calculado. El espectro LDI muestra la formación del catión radical de la TFA-COOCH<sub>3</sub>.



**Figura 37.** Espectro de masas LDI en modo iones negativo de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a una concentración de 5 mM en un rango de  $m/z$  0 a 1000, con energía del láser al 40%, y un volumen igual a 0,8  $\mu$ L depositado sobre el porta muestras MALDI. El acercamiento corresponde al patrón isotópico del ion molecular, y se compara con el patrón isotópico calculado. El espectro LDI muestra la formación del anión radical de la TFA-COOCH<sub>3</sub>.

Cabe resaltar que el comportamiento de la TFA-COOCH<sub>3</sub> tuvo mejor comportamiento en condiciones MALDI, la relación S/N obtenida en modo positivo fue mejor que la obtenida en el LDI de la TFA-CN. La abundancia del catión-radical de la TFA-COOCH<sub>3</sub> es mucho mayor que la abundancia del catión-radical de la TFA-CN, esto quiere decir que en fase gaseosa la molécula de TFA-COOCH<sub>3</sub> tiene mejor estabilidad y comportamiento.

En la literatura no se encontró reporte de análisis por MALDI de estas moléculas, sin embargo, si se han caracterizado sistemas D-A basados en el núcleo de trifenilamina con diferentes puentes espaciadores con varias unidades de dicianovinil, mostrando la formación del catión-radical por MALDI TOF (Ripaudo et al., 2011).

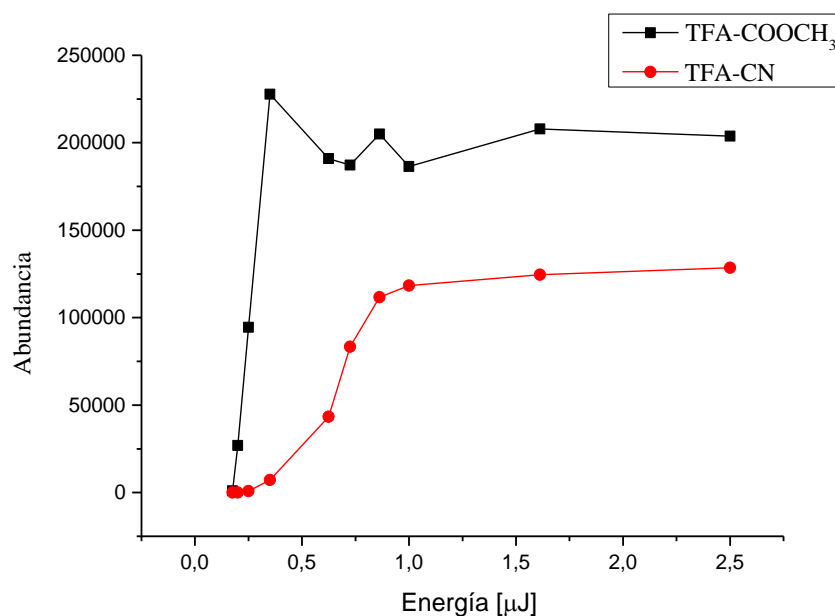
En el proceso de ionización secundaria en MALDI pueden ocurrir otras vías de reacciones secundarias como la cationización, y protonación tal como lo muestra la **figura 3** en la sección del marco teórico. En los procesos de transferencia protónica, las moléculas de la matriz (M) en fase gaseosa conllevan a la formación de un aducto  $[M + H]^+$ , para esto es indispensable que las moléculas de la matriz posean una afinidad protónica menor que a la afinidad protónica del analito. Y en cuanto a los procesos de transferencia catiónica, las moléculas de la matriz (M) interaccionan con cationes como  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ag^+$ , para formar aductos o agregados moleculares (García, 2015).

Los ensayos de cationización y protonación se realizaron de acuerdo con la metodología descrita en la sección 4.2.5. Los experimentos LDI de cationización se realizaron con cationes de  $Na^+$ , y  $K^+$ , en los resultados no se observó la formación de iones correspondientes a moléculas cationizadas para la TFA-CN y para la TFA-COOCH<sub>3</sub>. A su vez para los ensayos LDI de protonación, donde se dejaron las moléculas D-A cristalizadas en presencia de ácido fórmico a diferentes concentraciones, no se observó la presencia de iones protonados en los espectros LDI. Por lo tanto, se concluye que es poco probable que ocurran procesos de transferencia catiónica y protónica para los sistemas D-A sintetizados en condiciones MALDI, *i.e.*, que los resultados muestran que la TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub> no se recomiendan para ser utilizadas como matrices MALDI de transferencia protónica o catiónica.

### 5.2.5 Curvas de aparición de iones

Una matriz MALDI debe tener un buen desempeño para formar iones primarios. En esta sección se discute la capacidad que tienen los compuestos D-A sintetizados de formar iones primarios en condiciones MALDI. Para lo anterior, se relacionó la energía del láser con la abundancia, la relación señal ruido y la resolución de los espectros LDI de TFA-CN y TFA-

COOCH<sub>3</sub>. Entre las características de una matriz MALDI se encuentra la energía necesaria para la formación de iones primarios, preferiblemente a bajas energías del láser esto con el fin de mejorar la resolución de los resultados, y a su vez se disminuye la contaminación de las superficies internas del equipo, y se aumenta la vida útil del láser (García, 2015; Miranda, 2019). En la **figura 38** se relaciona la abundancia del ion molecular en modo ion positivo vs la energía del láser de los compuestos sintetizados.



**Figura 38.** Curva de aparición de iones para la TFA-COOCH<sub>3</sub> (5 mM) y para la TFA-CN (5 mM) en modo ion positivo, teniendo como observable la abundancia de iones medida.

De acuerdo con la gráfica de aparición de iones de la TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub> (**Figura 37**) es posible ajustar la sección lineal a una función potencial de tipo  $Y \sim H^m$ , donde Y hace referencia a la abundancia del ion, H a la energía del láser, y m es un parámetro que depende del desempeño de la matriz (Castellanos-García et al., 2017). En la **tabla 5** se observan las pendientes (m) ajustadas a la función  $Y \sim H^m$  de los compuestos sintetizados y de algunos compuestos

sintetizados y reportados como matrices ET MALDI por el grupo de investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental (GIFTEX) adscrito a la escuela de Química, de la Universidad Industrial de Santander. Asimismo, se muestra el valor de la pendiente para una matriz de transferencia electrónica comercial (DCTB) (Miranda, 2019; Ramirez-Pradilla et al., 2019; Ramírez-Pradilla et al., 2019).

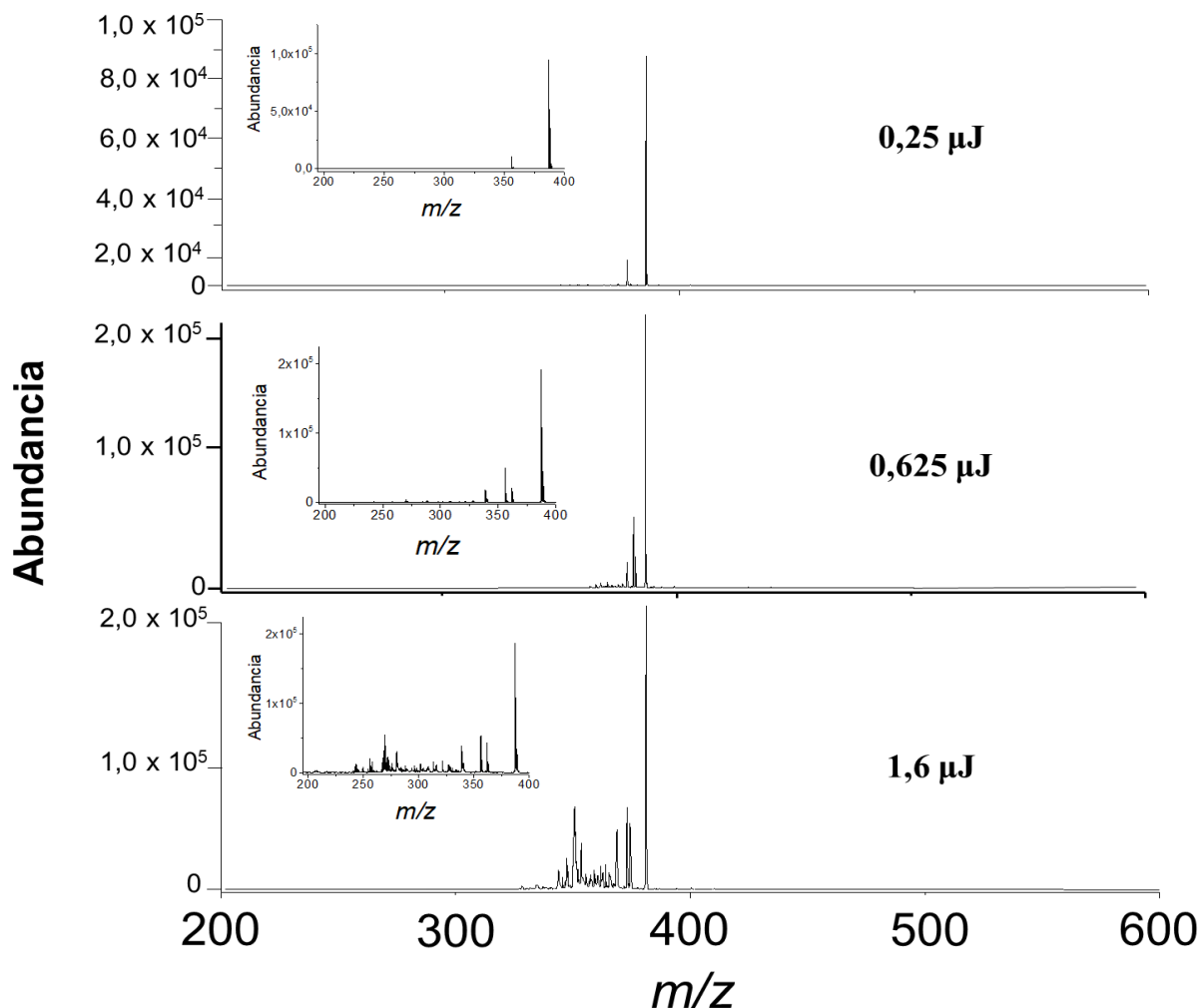
Compuestos	Pendiente (m)
TFA-CN	5,612
TFA-COOCH <sub>3</sub>	6,980
$\alpha$ -CNPV-H	4,60
$\alpha$ -CNPV-Cl	5,46
$\alpha$ -CNPV-OCH <sub>3</sub>	6,74
DCTB	4,75

**Tabla 5.** Valores de la pendiente **m** para los compuestos D-A sintetizados (TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub>), algunos compuestos basados en  $\alpha$ -cianofenilenvinilenos, y una matriz comercial DCTB (Miranda, 2019).

Altos valores de **m**, significa que la molécula tiene mayor capacidad de absorber la energía del láser y producir iones (Dreisewerd, 2003). Por lo tanto, se puede observar que las moléculas basadas en el núcleo de TFA tienen una buena capacidad de producir iones primarios, en comparación al DCTB.

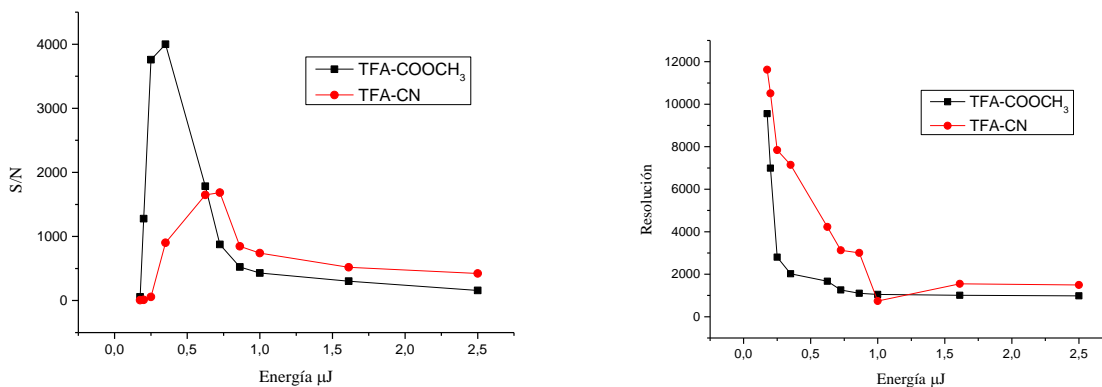
La **figura 39** muestra espectros LDI de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a diferentes energías del láser, donde se puede evidenciar como varían los espectros de masas a medida que se aumenta la energía del láser. Como se observó en la curva de aparición de iones (**Figura 37**) al aumentar la energía del láser la abundancia del ion aumenta hasta cierto punto, sin embargo, hay apariciones de nuevas señales debidas a la fragmentación de la misma molécula: pérdidas de -OCH<sub>3</sub>, rearrreglos McLafferty características de los grupos acetatos (JONES, 1964), e incluso fragmentaciones

debidas al núcleo TFA (Hivick, 2019) . Por lo tanto, la TFA-COOCH<sub>3</sub> tiene mejor comportamiento a bajas energías del láser, lo cual es bueno en cuanto al desempeño como matriz MALDI.



**Figura 39.** Espectros LDI de la TFA-COOCH<sub>3</sub> a energías del láser de 0,25  $\mu\text{J}$ , 0,625  $\mu\text{J}$ , 1,6  $\mu\text{J}$  en modo ion positivo. El acercamiento corresponde a relaciones  $m/z$  de 200 a 400.

En la **figura 40** observamos la evolución de la S/N y la resolución del catión radical de la TFA-CN y al TFA-COOCH<sub>3</sub> al aumentar la energía del láser.



**Figura 40.** Curva de aparición de iones para los sistemas D-A sintetizados evaluando los parámetros de relación Señal Ruido (S/N) y la resolución (R) en modo ion positivo.

Se observa que S/N aumenta hasta llegar a un punto máximo, después la relación S/N va cayendo considerablemente, esto se debe a la aparición del ruido en el espectro LDI de los compuestos D-A a medida que se aumenta la energía del láser. La TFA-COOCH<sub>3</sub> exhibe un valor máximo de S/N a 0,35 μJ (S/N: 3998,9), y la TFA-CN a 0,725 μJ (S/N: 1683,6). Se ha reportado que el DCTB tiene una S/N máxima de 74,5 a una energía de 1,09 μJ, con lo que podemos deducir que las moléculas sintetizadas tienen mejor comportamiento de ionización en comparación a una matriz de transferencia electrónica comercial como el DCTB (Castellanos-Garcia et al., 2017).

Por otro lado, al aumentar la energía de láser se observa que la resolución de la señal del catión radical disminuye, esto se debe a la distribución de la energía cinética de los iones que se forman en la cámara de ionización. Esto quiere decir que los iones formados en la cámara de ionización al interactuar con una alta energía del láser tendrán una distribución de energía cinética variable, y por lo tanto la velocidad de los iones será diferente. Por ende, el tiempo en que lleguen al detector será diferente y esto afectaría el ancho de la señal, en otras palabras, la resolución en el espectro de masas (Ahn et al., 2011; Gross, 2017).

### 5.2.6 Cálculos de Energía de ionización (Ei)

La energía de ionización (Ei) se define como la energía mínima necesaria para separar un electrón de una molécula neutra, en su estado fundamental y en estado gaseoso (Britannica, 2023). En la **ecuación 5** de la sección 3.4 del marco referencial vemos la importancia del valor de la Ei, ya que para matrices de transferencia electrónica el valor de Ei debe ser mayor que la Ei de los compuestos analizar (analitos). Los valores de energía de ionización se calcularon usando cálculos DFT (Teoría de funcionales de la densidad), utilizando el método Hartree-Fock (HF), seguido del uso de la aproximación de Koopmans para calcular la energía de los orbitales molecular, y tomar el valor negativo de la energía del orbital HOMO como el valor Ei (Padilla Jaramillo et al., 2021). La **tabla 6** muestra las energías de ionización calculadas para los sistemas D-A sintetizados y para el DCTB.

**Tabla 6.** Valores de Ei calculados por el método HF para el DCTB, y los compuestos D-A basados en el núcleo de trifenilamina.

<b>Matrices ET</b>	<b>Energía de ionización (Ei)</b>
<b>DCTB</b>	8,7569 eV
<b>TFA-CN</b>	7,9768 eV
<b>TFA-COOCH<sub>3</sub></b>	7,4755 eV

Las matrices MALDI ET de uso tradicional tienen valores de Ei que varían desde 7,0 eV para el 9,10-difenilantraceno (Boutaghou & Cole, 2012) a 8,5 eV para el DCTB (Yury V. Vasil'ev & Sotirios G. Kotsiris, 2006). Para los sistemas basados en TFA sintetizados vemos que las energías de ionización son 7,9768 eV para la TFA-CN y 7,4755 eV para la TFA-COOCH<sub>3</sub>, lo cual son resultados comparables con matrices MALDI ET de uso tradicional. Los valores Ei de los compuestos D-A sintetizados permiten el uso de estas moléculas como matrices MALDI de

transferencia electrónica, para el análisis de compuestos de interés analítico que tengan energías de ionización menores a las calculadas.

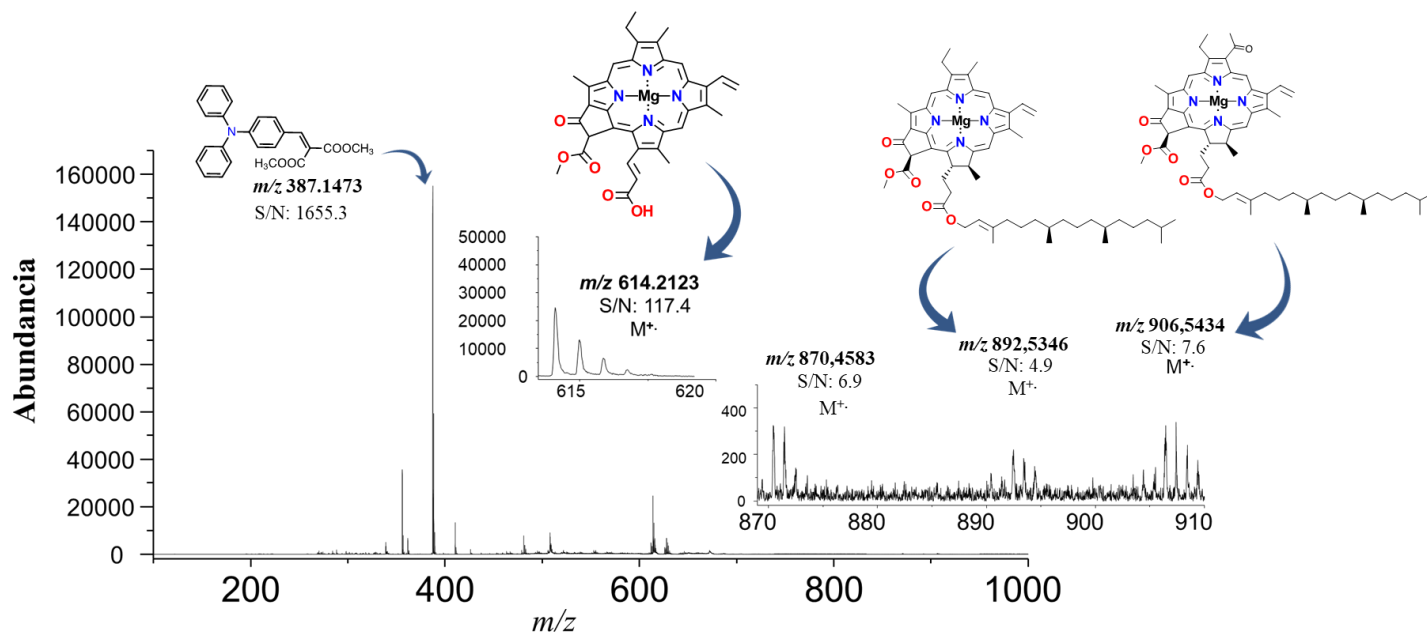
### 5.3 Evaluación de los sistemas D-A como matrices MALDI de transferencia electrónica-ET.

En la sección 4.2.6 de la metodología se encuentra de forma detallada de la preparación de las muestras para los análisis MALDI. A continuación, se muestran los resultados de los análisis de pigmentos tipo clorofila utilizando sistemas D-A como matrices ET MALDI.

#### 5.3.1 Identificación de pigmentos derivados de clorofila

Los ensayos MALDI confirmaron que los sistemas D-A sintetizados basados en TFA permiten la desorción y la ionización vía transferencia electrónica en fase gaseosa a analitos como los pigmentos de tipo clorofila. En el espectro MALDI se logró observar cationes radicales de la clorofila a y clorofila b, y algunos de sus derivados. Las clorofilas son pigmentos lábiles y termoinestables que requieren de una matriz para el proceso de desorción/ionización como ha sido reportados previamente por otros autores (Calvano et al., 2015; Luis M. Díaz-Sánchez, 2023; Sánchez, 2019b).

El espectro de masas MALDI de la mezcla de pigmentos utilizando TFA-COOCH<sub>3</sub> como matriz (**Figura 41**) mostró la formación de los cationes radicales para la clorofila a ( $m/z$  892,5346) y la clorofila b ( $m/z$  906.5434). Además, se observaron señales de algunos derivados de la clorofila como la feofitina a, M<sup>+</sup> ( $m/z$  870,4583) y la clorofilida a, M<sup>+</sup> ( $m/z$  614,2123).



**Figura 41.** Espectro de masas MALDI del análisis de derivados de clorofila (mezcla de pigmentos) con TFA-COOCH<sub>3</sub> como matriz, en una relación de 1:1000, 40% de la energía del láser, en modo ion positivo.

**Tabla 7.** Identificación de los derivados de la clorofila (mezcla de pigmentos) utilizando TFA-COOCH<sub>3</sub> como matriz de transferencia electrónica, con la masa molecular de cada especie, la masa experimental, masa calculada, y la relación S/N de la señal observada en el espectro de masas.

Especie	Fórmula molecular	Masa experimental	Masa calculada	Relación S/N
<b>Clorofila a</b>	C <sub>55</sub> H <sub>72</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Mg	892,5346	892,5347	4,9
<b>Clorofila b</b>	C <sub>55</sub> H <sub>70</sub> O <sub>6</sub> N <sub>4</sub> Mg	906,5434	906,5140	7,6
<b>Feofitina a</b>	C <sub>55</sub> H <sub>74</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub>	870,4583	870,5653	6,9
<b>Clorofilida a</b>	C <sub>35</sub> H <sub>34</sub> MgN <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	614,2123	614,2374	117,4
<b>TFA-COOCH<sub>3</sub></b>	C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	387,1473	387,1465	1655,3
<b>M-[OCH<sub>3</sub>]</b>	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub>	356,1440	356,1281	355,4

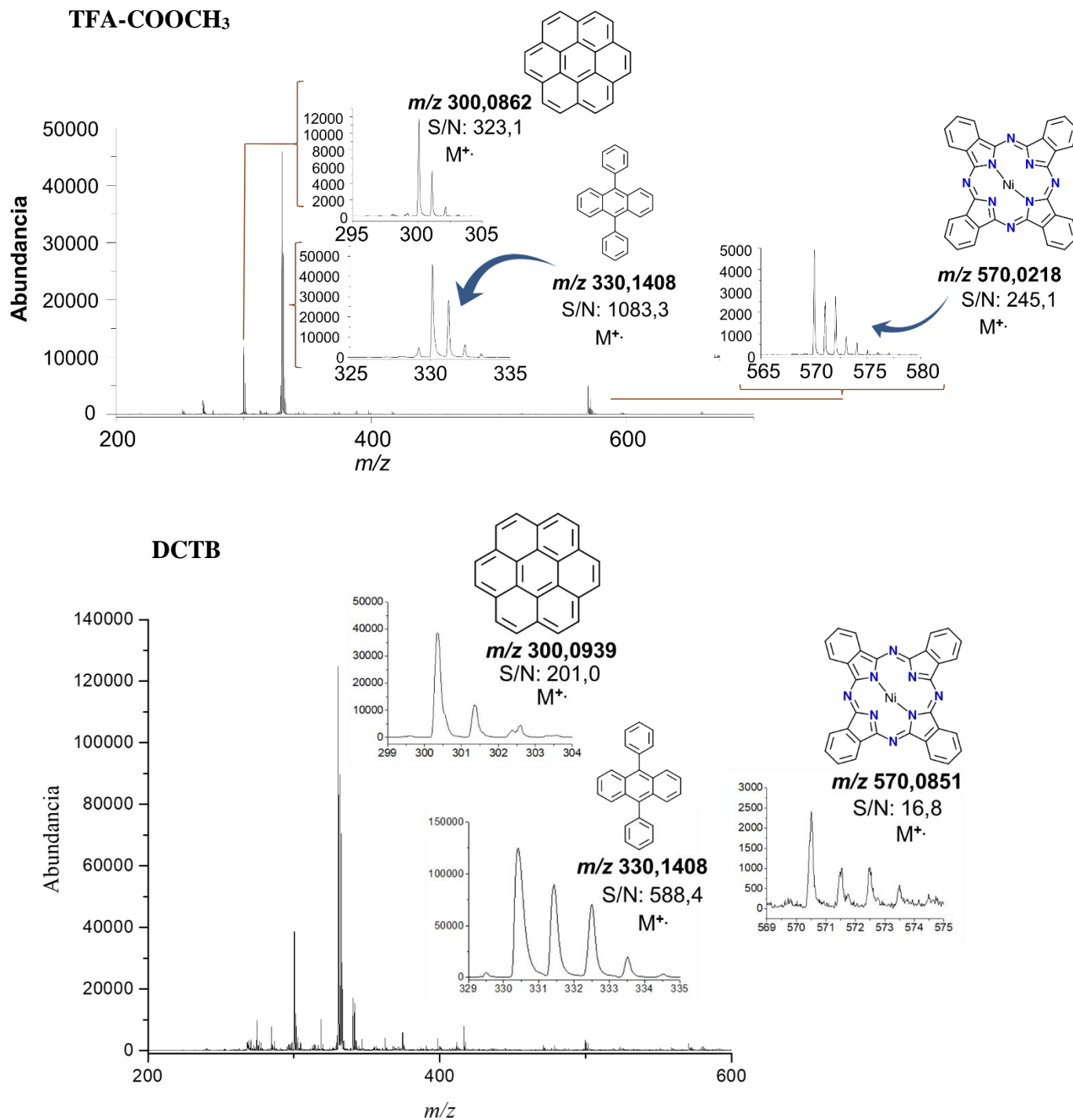
Los análisis MALDI de la mezcla de pigmentos se hicieron a diferentes relaciones analito: matriz (A:M) (véase sección 4.2.7). La relación 1:1000 mostró mejores resultados en términos de relación S/N en comparación con las otras relaciones de A:M.

Se han reportado cálculos de energía de ionización para la clorofila a y la clorofila b donde se han hallado valores de 6,32 eV y 6,74 eV respectivamente (Padilla Jaramillo et al., 2021), lo que indica que la energía de ionización de la TFA-COOCH<sub>3</sub> es mayor que la de estas especies, por lo tanto de acuerdo a las energías de ionización y a los resultados observados en el espectro de masas MALDI podemos concluir que esta molécula puede interactuar con esta clase de analitos mediante transferencia electrónica.

Los resultados reportados en este proyecto de investigación son comparables con la detección de clorofilas utilizando matrices ET comerciales como el DCTB. Aun así, también se ha reportado que el DCTB es una matriz altamente reactiva con los analitos, con alto *background* lo que dificulta la asignación de señales en zonas de masas bajas del espectro (Sánchez, 2019b). Por lo anterior, el uso de matrices basadas en sistemas D-A permitiría el análisis de moléculas de mediano y bajo peso molecular, lábiles y termoinestables como los pigmentos derivados de la clorofila, sin los problemas asociados con matrices tradicionales como el DCTB.

### 5.3.2 Identificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Adicionalmente, se realizaron experimentos MALDI para la identificación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) utilizando TFA-COOCH<sub>3</sub> como matriz. La **figura 42** muestra el espectro obtenido y la **tabla 8** muestra análisis de las señales observadas.



**Figura 42.** Espectros de masas MALDI para el análisis de HAP, y Ni-ftalocianina con TFA-COOCH<sub>3</sub> y DCTB, con una relación A:M de 1:100, y usando un 40 % de la energía del láser en modo ion positivo.

**Tabla 8.** Identificación de dos HAP y de Ni-Ftalocianina con TFA-COOCH<sub>3</sub> y DCTB como matrices de transferencia electrónica, y con uso de un 40 % de la energía del láser.

➡ <b>TFA-COOCH<sub>3</sub></b>	<i>Fórmula molecular</i>	<i>Masa calculada</i>	<i>Masa experimental</i>	<i>Relación S/N</i>
Analito				
<i>Coroneno</i>	C <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	300,0939	300,0862	323,1
<i>1,9-difenilantraceno</i>	C <sub>26</sub> H <sub>18</sub>	330,1408	330,1408	1083,3
<i>Ni-Ftalocianina</i>	C <sub>32</sub> H <sub>16</sub> N <sub>8</sub> Ni	570,0851	570,0218	245,1
➡ <b>DCTB</b>	<i>Fórmula molecular</i>	<i>Masa experimental</i>	<i>Masa calculada</i>	<i>Relación S/N</i>
Analito				
<i>Coroneno</i>	C <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	300,359	300,0939	201,0
<i>1,9-difenilantraceno</i>	C <sub>26</sub> H <sub>18</sub>	330,436	330,1408	588,4
<i>Ni-Ftalocianina</i>	C <sub>32</sub> H <sub>16</sub> N <sub>8</sub> Ni	570,495	570,0851	16,8

Como se pudo observar en los experimentos MALDI, los espectros de masas de la clorofila y algunos HAP, son comparables con una matriz de transferencia electrónica de uso comercial (DCTB). Los análisis MALDI con relación de 1:100 de A:M mostraron mejores resultados en comparación con las otras relaciones A:M utilizadas (véase **Sección 4.2.7**), en términos de relación S/N.

En la literatura se han reportado análisis MALDI de HAP utilizando  $\alpha$ -cianofenilvinileno como matrices MALDI de transferencia electrónica (Ramirez-Pradilla et al., 2019). La **tabla 9** muestra las relaciones S/N para los HAP analizados, comparados con otras matrices.

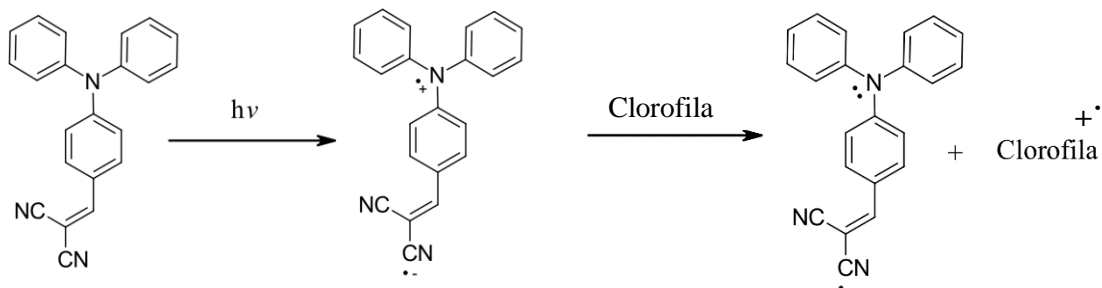
**Tabla 9.** Comparación de relaciones S/N de los analitos analizados por MALDI en modo ion positivo utilizando DCTB y TFA-COOCH<sub>3</sub> como matrices de transferencia electrónica. Asimismo, se tomaron datos de análisis de estos compuestos con CNPV-CH<sub>3</sub> y CNPV-OCH<sub>3</sub> como matrices ET (Ramirez-Pradilla et al., 2019).

Analito	m/z	E <sub>i</sub> (eV)	Relación Señal-Ruido (S/N)			
			DCTB	*CNPV-CH <sub>3</sub>	*CNPV-OCH <sub>3</sub>	TFA-COOCH <sub>3</sub>
Coroneno	300,09	7,29	201,0	173,0	21,0	323,1
1,9-difenilantraceno	330,14	7,25	588,4	395,0	171,0	1083,3
Ni-Ftalocianina	570,49	6,56	16,8	67,0	26,0	245,1

Los dos HAP y la Ni-ftalocianina analizados con TFA-COOCH<sub>3</sub> por MALDI, muestran valores de relaciones S/N comparables con otras matrices de transferencia electrónica. Asimismo, se muestran los valores E<sub>i</sub> de los compuestos analizados, reportados en la literatura (Ramirez-Pradilla et al., 2019). La TFA-COOCH<sub>3</sub> al tener un valor E<sub>i</sub> mayor a estos compuestos promueve la vía de transferencia electrónica para el análisis por MALDI.

Al proponer sistemas orgánicos Donor-Aceptor como matrices ET, se esperaba que este tipo de moléculas al formar estados de separación de carga debido a la absorción de la energía del láser en MALDI, logran ionizar analitos sin que se observaran señales de la misma matriz. Esto quiere decir, que este tipo de moléculas al interactuar con las moléculas del analito en modo positivo, quedarían cargadas negativamente, y por lo tanto no se observarían señales de la matriz en el espectro de masas (**Figura 43**). Sin embargo, en los ensayos LDI y MALDI se pudo observar señales de los sistemas D-A: catión radical en modo positivo y anión radical en modo negativo. Ahora bien, el comportamiento de estos sistemas en fase gaseosa tiene un excelente comportamiento, ya que desorben de manera eficiente y sus propiedades optoelectrónicas son comparables con matrices ET de uso comercial. Por lo tanto, se abre una ventana para la aplicación

de estos sistemas de tipo *push-pull* en espectrometría de masas MALDI, buscando entender un poco más el comportamiento de estas moléculas en fase gaseosa.



**Figura 43.** Propuesta de ionización de sistemas D-A basado en TFA hacia la molécula del analito (Clorofila).

## 6. Conclusiones

Se sintetizaron sistemas D-A basados en el núcleo de trifenilamina utilizando como primer paso la reacción de *Vilsmeier Haack* y como segundo paso la condensación de *Knoevenagel* con rendimiento de 60 % para la TFA-COOCH<sub>3</sub> y de 80 % para la TFA-CN. Los espectros de masas LDI mostraron la formación de catión y anión radical para las moléculas TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub>.

Las propiedades optoelectrónicas de los dos compuestos sintetizados (TFA-CN y TFA-COOCH<sub>3</sub>), tales como: coeficiente de absorción molar (**2300 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>** y **10920 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>**), rendimiento cuántico de fluorescencia (**0,13** y **0,025**), energía de banda prohibida (**2,21 eV** y **2,55 eV**), y la energía de ionización mostraron resultados similares al de matrices de transferencia electrónica convencionales como el DCTB.

Los experimentos MALDI para el análisis de derivados de clorofila y de algunos HAP mostraron que los sistemas D-A evaluados promueven la ionización vía transferencia de electrones, los cuales se compararon con matrices convencionales en términos de S/N, resolución y rendimientos de supervivencia iónica.

## 7. Recomendaciones

De acuerdo con la revisión bibliográfica se encontró que hay poca información sobre el comportamiento de sistemas D-A en fase gaseosa por medio de MALDI MS, por lo que se recomienda evaluar otros tipos de sistemas *push-pull* con el fin de analizar su reactividad en fase gaseosa.

Se sugiere el uso de estas moléculas sintetizadas agregando diferentes sustituyentes a los anillos fenilos de las moléculas, o variar el puente que une el sistema donador del aceptor, con el fin de observar el cambio de absorción en la región UV-Vis y por lo tanto mirar su comportamiento en fase gaseosa por MALDI MS.

Se propone el núcleo de carbazol como sistema donador de electrones para el estudio de esta clase de compuestos D-A. El núcleo de carbazol ha tenido ciertas aplicaciones como sistema *push-pull*, por lo que se recomienda estudiar estos compuestos en fase gaseosa por MALDI MS (M. Belieres, 2018).

**Referencias bibliográficas**

- A. Prasanna de Silva, H. Q. Nimal Gunaratne, T. G., Allen J. M. Huxley, Colin P. McCoy, Jude T. Rademacher, & Rice, T. E. (1997). Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches. *Chem. Rev*, 97 1515-1566.
- A. Schieber, F.C. Stintzing, & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds recent developments. *I2*, 401-413.
- Ahn, J. R., Lee, S.-G., & Park, C. J. (2011). Measurement of Ion Kinetic-energy Distributions in Electron-impact Ion Sources of a Quadrupole Mass Spectrometer. *Journal of the Korean Physical Society*, 59(4), 2670-2675.
- Albinsson, B., Eng, M. P., Pettersson, K., & Winters, M. U. (2007). Electron and energy transfer in donor-acceptor systems with conjugated molecular bridges. *Phys Chem Chem Phys*, 9(44), 5847-5864.
- Allen J. Bard, & Fox, M. A. (1995). Artificial Photosynthesis: Solar Splitting of Water to Hydrogen and Oxygen. *Acc. Chem. Res* 28, 141-145.
- Andrew N. Krutchinsky, M. K., and Brian T. Chait. (2001). Automatic Identification of Proteins with a MALDI-Quadrupole Ion Trap Mass Spectrometer. *Anal. Chem*, 73, 5066-5077.
- Ann Magnuson, R. L., Magnus Falkenström, Gerriet Eilers, Olof Johansson, Magnus Anderlund, S. S., & Hammarström, L. (2008). Charge Separation and Charge Compensation in Artificial Photosynthetic Complexes. *Springer*, 1267–1272.
- Ashfaq, M. Y., Da'na, D. A., & Al-Ghouti, M. A. (2022). Application of MALDI-TOF MS for identification of environmental bacteria: A review. *J Environ Manage*, 305, 114359.

- Balasaravanan, R., Duraimurugan, K., Sivamani, J., Thiagarajan, V., & Siva, A. (2015). Synthesis and photophysical properties of triphenylamine-based multiply conjugated star-like molecules. *New Journal of Chemistry*, *39*(9), 7472-7480.
- Barros, H. L. M., Sandra M. T.; Stefani, Valter. (2019). Water-Soluble Benzazole Dyes Fluorescent by ESIPT: Structural Characterization, Photophysical Properties and Its Application as a Probe for Direct Staining of Helminths. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *30*(3), 509–521.
- Bolton, J. R., & Archer, M. D. (1991). Basic Electron-Transfer Theory. In *Electron Transfer in Inorganic, Organic, and Biological Systems* (pp. 7-23).
- Boutaghou, M. N., & Cole, R. B. (2012). 9,10-Diphenylanthracene as a matrix for MALDI-MS electron transfer secondary reactions. *J Mass Spectrom*, *47*(8), 995-1003.
- Britannica. (2023). *ionization energy*.
- Calvano, C. D., Ventura, G., Cataldi, T. R., & Palmisano, F. (2015). Improvement of chlorophyll identification in foodstuffs by MALDI ToF/ToF mass spectrometry using 1,5-diaminonaphthalene electron transfer secondary reaction matrix. *Anal Bioanal Chem*, *407*(21), 6369-6379.
- Castellanos-Garcia, L. J., Agudelo, B. C., Rosales, H. F., Cely, M., Ochoa-Puentes, C., Blanco-Tirado, C., Sierra, C. A., & Combariza, M. Y. (2017). Oligo p-Phenylenevinylene Derivatives as Electron Transfer Matrices for UV-MALDI. *J Am Soc Mass Spectrom*, *28*(12), 2548-2560.
- Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2012). Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev*, *36*(2), 380-407.

- Dalessandro, E. V., Collin, H. P., Guimarães, L. G. L., Valle, M. S., & Pliego, J. R. (2017). Mechanism of the Piperidine-Catalyzed Knoevenagel Condensation Reaction in Methanol: The Role of Iminium and Enolate Ions. *The Journal of Physical Chemistry B*, *121*(20), 5300-5307.
- Dreisewerd, K. (2003). The Desorption Process in MALDI. *Chemical reviews*, *103*(2), 395-426.
- EG, L. (2011). Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics. *Springer Netherlands*.
- Energy, M. (2021). \Basics of NMR\ Sample preparation and analysis of NMR analysis data.
- Fenner, N. C., & Daly, N. R. (1966). Laser Used for Mass Analysis. *Review of Scientific Instruments*, *37*(8), 1068-1070.
- FRANCO, C. V. (2014). *SÍNTESIS DE NUEVOS PIGMENTOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2-CIANO-3-FENIL-2-BUTENOICO COMO FRAGMENTO ELECTRO-ACEPTOR Y ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES DE TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA*. UNIVERSIDAD DEL VALLE].
- Fu, J., Yan, L., Wang, S., Song, H., Gu, Q., & Zhang, Y. (2020). Microwave-assisted synthesis and luminescent properties of triphenylamine substituted mono- and di- branched benzimidazole derivatives. *Chemical Papers*, *75*(4), 1485-1496.
- García, L. J. C. (2015). *Desarrollo de una matriz para espectrometría de masas MALDI basada en sistemas tipo fenilenvinileno y ácidos acrílicos*. Universidad Industrial De Santander].
- Gilbert, M., & Albinsson, B. (2015). Photoinduced charge and energy transfer in molecular wires. *Chem Soc Rev*, *44*(4), 845-862.

- Giraldo-Dávila, D., Chacón-Patiño, M. L., Ramirez-Pradilla, J. S., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2018). Selective ionization by electron-transfer MALDI-MS of vanadyl porphyrins from crude oils. *Fuel*, 226, 103-111.
- Gross, J. H. (2017). *Mass Spectrometry* (3 ed.).
- Ha, C.-S. S., J.-H.; Lim, H.; Cho, W.-J. (2001). Characterization of organic electroluminescent devices introducing fluorine-containing polyimide to hole-transporting layer. *Materials Science and Engineering*, 85, 195-198.
- Haack, A. V. u. A. (1927). Über die Einwirkung von Halogenphosphor auf Alkyl-formanilide. Eine neue Methode zur Darstellung sekundärer und tertiärerp-alkuilamino-benzaldehydo. *química Ges.*, 60, 119-122.
- Hara, K. S., T.; Katoh, R.; Furube, A.; Yoshihara, T.; Murai, M.; Kurashige, M.; Ito, S.; Shinpo, A.; Suga, S. . (2005). Novel Conjugated Organic Dyes for Efficient Dye-Sensitized Solar Cells. *Advanced Functional Materials*, 15, 246-252.
- Hecht, H. G. ((1976)). The interpretation of diffuse reflectance spectra. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry*, 80A, 567.
- Hillenkamp, F., Karas, M., Beavis, R. C., & Chait, B. T. . (1991). Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers. *Analytical Chemistry*, 63(24), 1193A–1203A.
- Hivick, B. E. (2019). *Mechanistic Study of Carbazole and Triphenylamine Dimerization and Pyrrolidine Dehydrogenation Using Mass Spectrometry* College of Arts and Sciences].
- Holroyd, R. P., J.; Boettcher, E.; Schmidt, W. (1984). Photoconductivity induced by single-photon excitation of aromatic molecules in liquid hydrocarbons. *The Journal of Physical Chemistry*, 88, 744-749.

- Hoteling, A. J., Nichols, W. F., Giesen, D. J., Lenhard, J. R., & Knochenmuss, R. (2017). Electron Transfer Reactions in Laser Desorption/Ionization and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization: Factors Influencing Matrix and Analyte Ion Intensities. *European Journal of Mass Spectrometry*, 12(6), 345-358.
- Jaimés, J. E. L. (2022). *Evaluación de la bixina como matriz MALDI para el análisis de pigmentos naturales* Universidad Industrial de Santander].
- Jeroen J. A. van Kampen, Peter C. Burgers, Ronald de Groot, and Theo M. Luiders. (2006). Qualitative and Quantitative Analysis of Pharmaceutical Compounds by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Anal. Chem*, 78, 5403-5411.
- JONES, A. G. H. A. E. G. (1964). REARRANGEMENT REACTIONS FOLLOWING ELECTRON IMPACT ON ETHYL AND ISOPROPYL ESTERS *Canadian Journal of Chemistry*, 43, 960-968.
- Katrina A. Jolliffe, Steven J. Langford, M. G. R., Michael J. Shephard, & Paddon-Row, M. N. (1999). Design and Synthesis of Two (Pseudo)symmetric Giant Trichromophoric Systems Containing the C60 Chromophore. *J. Org. Chem*, 64, 1238-1246.
- Knochenmuss, R. (2016). The Coupled Chemical and Physical Dynamics Model of MALDI. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*, 9(1), 365-385.
- Knochenmuss., R., & Zenobi., R. (2003). MALDI Ionization: The Role of In-Plume Processes. *Chem. Rev*, 103, 441-452.
- Lakowicz, J. R. (2006). Introduction to Fluorescence. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (pp. 1-26).

- Laurie Van Heukelem, A. J. L., Todd M. Kana and Neal E. Craft. (1994). Improved separations of phytoplankton pigments using temperature-controlled high performance liquid chromatography. *Marine ecology progress series*, 114, 303-313.
- Leu, W. C., Fritz, A. E., Digianantonio, K. M., & Hartley, C. S. (2012). Push-pull macrocycles: donor-acceptor compounds with paired linearly conjugated or cross-conjugated pathways. *J Org Chem*, 77(5), 2285-2298.
- Lin, T.-C. C., Y.-F.; Hu, C.-L.; Hsu, C.-S. (2009). Two-photon absorption and optical power limiting properties in femtosecond regime of novel multi-branched chromophores based on trisubstituted olefinic scaffolds. *Journal of Materials Chemistry*, 19, 7075-7080.
- Lu, M., Yang, X., Yang, Y., Qin, P., Wu, X., & Cai, Z. (2017). Nanomaterials as Assisted Matrix of Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry for the Analysis of Small Molecules. *Nanomaterials (Basel)*, 7(4).
- Luis M. Díaz-Sánchez, C. B.-T., Marianny Y. Combariza. (2023). Electron-transfer MALDI MS methodology for microalgae/phytoplankton pigments analysis. *MethodsX*.
- M. Belieres, V. S., P.L Fabre, R. Poteatu, G. Bordeau, N. Chuini-Lalanne. (2018). Simple electron donor molecules based on triphenylamine and carbazole derivatives. *Dyes and pigments*, 153, 275-283.
- Makarska-Bialokoz, M., & Kaczor, A. A. (2013). Computational Analysis of Chlorophyll Structure and UV-Vis Spectra: A Student Research Project on the Spectroscopy of Natural Complexes. *Spectroscopy Letters*, 47(2), 147-152.
- Marcus, R. A. (1956). On the Theory of Oxidation-Reduction Reactions Involving Electron Transfer. I. *The Journal of Chemical Physics*, 24(5), 966-978.

- Marcus, R. A. (1993). *Electron Transfer Reactions in Chemistry : Theory and Experiment* (Nobel Lecture. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 32, 1111 - 1222.
- Miranda, D. S. G. (2019). *Reactividad en fase gaseosa de A cianofenilenvinilenos como matrices MALDI de transferencia electrónica* Universidad Industrial de Santander].
- Molin, L., Seraglia, R., Czarnocki, Z., Maurin, J. K., Plucinski, F. A., & Traldi, P. (2012). On the Primary Ionization Mechanism(s) in Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization. *J Anal Methods Chem*, 2012, 161865.
- Munshi, M. U., Berden, G., Martens, J., & Oomens, J. (2017). Gas-phase vibrational spectroscopy of triphenylamine: the effect of charge on structure and spectra. *Phys Chem Chem Phys*, 19(30), 19881-19889.
- Orea, J. E. M. (2018). *DETERMINACIÓN DE LA ENERGÍA DE BRECHA PROHIBIDA DE COMPUESTOS PRESENTES EN MEZCLAS DE POLVOS: SISTEMAS BIFÁSICOS* UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA].
- Padilla Jaramillo, C. A., Díaz Sánchez, L. M., Combariza Montañez, M. Y., Blanco Tirado, C., & Combariza Montañez, A. F. (2021). Photon Harvesting Molecules: Ionization Potential from Quantum Chemical Calculations of Phytoplanktonic Pigments for MALDI-MS Analysis. *Orinoquia*, 25(1), 13-23.
- Qiao, Z., & Lissel, F. (2021). MALDI Matrices for the Analysis of Low Molecular Weight Compounds: Rational Design, Challenges and Perspectives. *Chem Asian J*, 16(8), 868-878.
- Qin, Y. P., Q. (2012). Ruthenium Sensitizers and Their Applications in Dye-Sensitized Solar Cells. *International Journal of Photoenergy*, 21.

- Ramirez-Pradilla, J. S., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2019). Electron-Transfer Ionization of Nanoparticles, Polymers, Porphyrins, and Fullerenes Using Synthetically Tunable alpha-Cyanophenylenevinylenes as UV MALDI-MS Matrices. *ACS Appl Mater Interfaces*, *11*(11), 10975-10987.
- Ramírez-Pradilla, J. S., Blanco-Tirado, C., Hubert-Roux, M., Giusti, P., Afonso, C., & Combariza, M. Y. (2019). Comprehensive Petroporphyrin Identification in Crude Oils Using Highly Selective Electron Transfer Reactions in MALDI-FTICR-MS. *Energy & Fuels*, *33*(5), 3899-3907.
- Randall Skelton, Frédéric Dubois, & Zenobi, R. (2000). A MALDI Sample Preparation Method Suitable for Insoluble Polymers. *Anal. Chem.*, *72*, 1707-1710.
- Ripaud, E., Olivier, Y., Leriche, P., Cornil, J., & Roncali, J. (2011). Polarizability and internal charge transfer in thiophene-triphenylamine hybrid pi-conjugated systems. *J Phys Chem B*, *115*(30), 9379-9386.
- Rurack, K., & Spieles, M. (2011). Fluorescence quantum yields of a series of red and near-infrared dyes emitting at 600-1000 nm. *Anal Chem*, *83*(4), 1232-1242.
- Sánchez, L. M. D. (2019a). *Identificación de biomarcadores fitoplanctónicos utilizando espectrometría de masas MALDI TOF con matrices de transferencia electrónica* Universidad Industrial De Santander].
- Sánchez, L. M. D. (2019b). *Identificación de biomarcadores fitoplanctónicos utilizando espectrometría de masas MALDI TOF con matrices de transferencia electrónica (tesis de maestría)* Universidad Industrial De Santander].

- Schmidt De Leon, T., Salum, M. L., & Erra-Balsells, R. (2019). norHarmane containing ionic liquid matrices for low molecular weight MALDI-MS carbohydrate analysis: The perfect couple with alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid. *J Mass Spectrom*, *54*(7), 643-654.
- Sek, D., Kotowicz, S., Kula, S., Siwy, M., Szlapa-Kula, A., Malecki, J. G., Mackowski, S., & Schab-Balcerzak, E. (2019). Thermal, spectroscopic, electrochemical, and electroluminescent characterization of malononitrile derivatives with triphenylamine structure. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, *210*, 136-147.
- Serive B, N. E., Bérard J-B, Kaas R, Pasquet V, Picot L., & Cadoret, J. (2017). Community analysis of pigment patterns from 37 microalgae strains reveals new carotenoids and porphyrins characteristic of distinct strains and taxonomic groups. *PLoS ONE*, *12*, 1-35.
- Sharma, S., Katoch, V., Kumar, S., & Chatterjee, S. (2021). Functional relationship of vegetable colors and bioactive compounds: Implications in human health. *J Nutr Biochem*, *92*, 108615.
- Signor, L., & Boeri Erba, E. (2013). Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometric analysis of intact proteins larger than 100 kDa. *J Vis Exp*(79).
- Singh, A. K., Rana, H. K., & Pandey, A. K. (2020). Analysis of chlorophylls. In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 635-650).
- Skoog., D. A., Holler., F. J., & Crouch., S. R. (2009). *Principios de análisis instrumental* (Sexta ed.).

- Stashenko., E. E., & Martínez., J. R. (2009). Aspectos prácticos de la ionización con electrones en la obtención de espectros de masas y su interpretación. *Scientia Chromatographica*, 1, 19-36.
- Sun, W., Li, M., Fan, J., & Peng, X. (2019). Activity-Based Sensing and Theranostic Probes Based on Photoinduced Electron Transfer. *Acc Chem Res*, 52(10), 2818-2831.
- Tahir, M. H., Mubashir, T., Shah, T.-U.-H., & Mahmood, A. (2019). Impact of electron-withdrawing and electron-donating substituents on the electrochemical and charge transport properties of indacenodithiophene-based small molecule acceptors for organic solar cells. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 32(3).
- Tang, X., Liu, W., Wu, J., Lee, C. S., You, J., & Wang, P. (2010). Synthesis, crystal structures, and photophysical properties of triphenylamine-based multicyano derivatives. *J Org Chem*, 75(21), 7273-7278.
- Touraj Manifar, S. R. (2004). Synthesis and Analysis of Triphenylamine>. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 82, 323-334.
- Viera, I., Herrera, M., & Roca, M. (2022). Influence of food composition on chlorophyll bioaccessibility. *Food Chemistry*, 386.
- Vilsmeier, A. H., A. (1927). uber die Einwirkung von Halogenphosphor auf Alkyl-formanilide. Eine neue Methode zur Darstellung sekundärer und tertiärer p-Alkylamino-benzaldehyde. *Ber. dtsh. química Ges*, 60, 119-122.
- Wang, X. M. Z., Guang Yong; Yu, Wen Tao; Jiang, Minhua. (2001). Synthesis, structure of a symmetrically substituted stilbene with strong two-photon absorption and up-converted blue fluorescence. *Chinese Chemical Letters*, 12 (11), 1001-1004.

- Wang, Y., Lai, G., Li, Z., Ma, Y., Shen, Y., & Wang, C. (2015). Novel A- $\pi$ -D- $\pi$ -A type molecules based on diphenylamine and carbazole with large two-photon absorption cross section and excellent aggregation-induced enhanced emission property. *Tetrahedron*, *71*(18), 2761-2767.
- Wildervanck, M. J., Hecht, R., & Nowak-Krol, A. (2022). Synthesis and Strong Solvatochromism of Push-Pull Thienylthiazole Boron Complexes. *Molecules*, *27*(17).
- Williams, A. T. R., Winfield, S. A., & Miller, J. N. (1983). Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer. *The Analyst*, *108*(1290).
- Wright, S. W., & Jeffrey, S. W. (2006). Pigment Markers for Phytoplankton Production. In *Marine Organic Matter: Biomarkers, Isotopes and DNA* (pp. 71-104).
- Wurthner, F. (2016). Dipole-Dipole Interaction Driven Self-Assembly of Merocyanine Dyes: From Dimers to Nanoscale Objects and Supramolecular Materials. *Acc Chem Res*, *49*(5), 868-876.
- Wyatt, M. F. (2011). MALDI-TOFMS analysis of coordination and organometallic complexes: a nic(h)e area to work in. *J Mass Spectrom*, *46*(7), 712-719.
- Ye, S., Ding, C., Liu, M., Wang, A., Huang, Q., & Li, C. (2019). Water Oxidation Catalysts for Artificial Photosynthesis. *Adv Mater*, *31*(50), e1902069.
- Yum, J.-H. B., E.; Wenger, S.; Nazeeruddin, M. K.; Grätzel, M. (2011). Panchromatic engineering for dye-sensitized solar cells. *Energy & Environmental Science*, *4*, 842-857.
- Yury V. Vasil'ev, Olga G. Khvostenko, Alexey V. Streletskii, Olga V. Boltalina, Sotirios G. Kotsiris, & Thomas Drewello. (2006). Electron Transfer Reactivity in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI): Ionization Energy, Electron Affinity and

Performance of the DCTB Matrix within the Thermochemical Framework. *The Journal of Physical Chemistry A Letters*, 110, 5967-5972.

Yury V. Vasil'ev, O. G. K., Alexey V. Streletskii, Olga V. Boltalina,, & Sotirios G. Kotsiris, a. T. D. (2006). Electron Transfer Reactivity in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI): Ionization Energy, Electron Affinity and Performance of the DCTB Matrix within the Thermochemical Framework. *The Journal of Physical Chemistry A Letters*, 110, 5967-5972.

Zhang, L. L., Y.; Wang, Z.; Liang, M.; Sun, Z.; Xue, S. (2010). Synthesis of sensitizers containing donor cascade of triarylamine and dimethylarylamine moieties for dye-sensitized solar cells. *Tetrahedron*, 66, 3318-3325.