



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**DESARROLLO DE NUEVOS QUIMIOSENSORES DENDRÍTICOS
QUE CONTIENEN PIRENO**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. ANDREA RUIU

DR. ERNESTO RIVERA GARCÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

Ciudad Universitaria, CD. MX., MARZO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central




UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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


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



Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio E-105 del
Departamento de Reología del Instituto de Investigaciones en
Materiales (IIM) de la Universidad Nacional Autónoma de México
(UNAM).

Índice

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN	v
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. ANTECEDENTES	8
2.1 Dendrones y dendrimeros.....	8
2.2 Sensores	16
2.3 Luminiscencia y pireno.....	25
2.3.1 Luminiscencia	25
2.3.2 Pireno	29
3. HIPOTESIS.....	34
4. OBJETIVO.....	35
4.1 Objetivo general.....	35
4.2 Objetivos particulares	35
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	36
5.1 Condiciones generales.....	36
5.2 Síntesis de los dendrones.....	37
5.3 Preparaciones de las soluciones para los estudios de detección o quimiosensoreo de grupos nitro.....	57
5.4 Preparaciones soluciones para la detección o quimiosensoreo de aminas.....	58
RESULTADOS Y DISCUSSION.....	60
6.1 Síntesis de los dendrones.....	60
6.2 Propiedades ópticas y fotofísicas de los dendrones	68
6.3 Estudio de detección de grupos nitro por los quimiosensores.....	74
6.3.1 Estudio de detección de grupos nitro con PyOH.....	75
6.3.2 Estudio de detección de grupos nitro con Pytb	77
6.3.3 Comparación entre PyOH y Pytb.....	80
6.3.4 Estudio de detección de grupos nitro con PyNK1OH.....	82



6.3.5 Estudio de detección de grupos nitro con PyNK1tb.....	86
6.3.6 Comparación entre PyNK1OH y PytNK1tb.	89
6.4 Estudio de detección de aminas con los quimiosensores.....	90
6.4.1 Estudio de detección de aminas con PyOH.....	93
6.4.2 Estudio de detección de aminas con PyNK1OH.	97
6.4.3 Estudio de detección de aminas con PyNK2OH.	102
6.4.4 Comparación entre PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH.....	107
7. CONCLUSIONES	111
8. PERSPECTIVAS	113
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	114
10. ARTICULO.....	117

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) número de becario 621237, por el apoyo económico brindado durante los semestres (2015-1 al 2018-2) para la elaboración de este proyecto de tesis

Al Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por haberme brindado la infraestructura necesaria para realizar este proyecto de investigación.

Al Dr. Ernesto Rivera García del (IIM) de la UNAM por su dirección y apoyo en la realización de este proyecto de investigación, así como por haberme dado la oportunidad de unirme a su grupo de investigación, por su confianza y apoyo en todo momento.

Al Dr. Humberto Vázquez Torres del Departamento de Física de la UAM-Iztapalapa y al Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez del Instituto de Química de la UNAM, que formaron parte de mi comité tutor, y cuyas aportaciones permitieron llevar a cabo este proyecto satisfactoriamente.

A la Dra. Lioudmila Fomina del IIM de la UNAM, a la Dra. María del Pilar Carreón Castro del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, a la Dra. Margarita Rivera Hernández del Instituto de Física de la UNAM, al Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez del Instituto de Química de la UNAM, y a la Dra. Yareli Rojas Aguirre del IIM de la UNAM, que fueron los sinodales para mi examen de grado, y cuyas sugerencias ayudaron a mejorar la redacción y los contenidos de la tesis.

A I.Q. Gerardo Cedillo Valverde del Instituto de Investigaciones en Materiales UNAM, por su ayuda en la caracterización de los compuestos obtenidos.

A la Dra. Mireille Vonlanthen y al Q. Miguel Ángel Canseco Martínez del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM, por su apoyo en el estudio de las propiedades ópticas de los materiales obtenidos.

A CONACYT (Proyecto 253155) y PAPIIT (Proyecto IN-100316) por el apoyo financiero otorgado para la realización del presente proyecto.

DEDICATORIA

PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

Congresos

"Pyrene containing dendrons as potential sensors for nitro compounds and amines."

Ruiu A, Rivera E. , Polymat 2017, (Huatulco, Mexico, 15/10/2017).

"Synthesis of dendrons bearing pyrene units able to act as potential pollutant sensors".

Ruiu A, Rivera E. , XXVI International Material Research Congress (Cancun, 18/8/2017).

"Development of pyrene labelled dendrons as potential nitro compounds sensors".

Ruiu A, Rivera E., 81th PMM: Polymers and Organic Materials for Electronics and Photonics (Praga, 10/9/2017).

"Novel synthesis of dendrimers bearing pyrene units and their characterization."

Ruiu A, Rivera E. , Polymat 2015, (Huatulco, Mexico, 17/10/2015).

"Synthesis of new urethane-based dendrimers with pyrene for potential energy conversion devices".

Ruiu A , Rivera E. , XXIIIIV International Materials Research Congress, (Cancun, Mexico, 17/8/2015).

Publicaciones

"Highly Sensitive Sensors for the Detection of Nitro Compounds Based on Pyrene Labeled Dendrons".

Ruiu A., Vonlanthen M., Porcu P., Gonzalez-Méndez I., Rivera E., J. Inorg. Organomet. Polym, 2017, pp. 1-9

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se enfoca en la síntesis y caracterización de nuevos dendrones de tipo Newkome, constituidos por ramificaciones basadas en la amina de Behera y con un grupo pireno en el punto focal. La síntesis de estos dendrones (PyOH, Pytb, PyNK1OH, PyNK1tb y PyNK2OH) se llevó a cabo mediante reacciones de Steglich con desprotecciones sucesivas. Estas reacciones se caracterizan por sus altos rendimientos y facilidad de purificación. Todos los compuestos fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear (^1H y ^{13}C) y espectrometría de masas MALDI-TOF.

Estos dendrones fueron sintetizados y caracterizados con el objetivo de emplearlos como quimiosensores de tipo óptico para la detección de compuestos con grupos nitro y aminas. La primera fase del estudio se enfocó en el estudio de sus propiedades ópticas y fotofísicas de absorción y emisión. Los espectros de absorción de los dendrones mostraron dos bandas de absorción, debidas a las transiciones $S_0 \rightarrow S_3$ y $S_0 \rightarrow S_2$ a $\lambda = 278$ nm y $\lambda = 342$ nm, respectivamente. Se calcularon los coeficientes de extinción molar para los compuestos, obteniendo valores por encima de $\epsilon = 45,000$ cm $^{-1}$ M $^{-1}$, los cuales coinciden con los valores típicos reportados en literatura. Se pudo verificar que la fluorescencia tenía un máximo de emisión a 375 nm para todos los compuestos analizados en metanol. El rendimiento cuántico se calculó y presentó valores por encima de $\Phi = 0.6$ para todos los sensores. Los tiempos de vida resultaron ser en el orden de $\tau = 200$ ns, desde $\tau = 196$ ns (PyOH) hasta $\tau = 231$ ns (PyNK2OH).

Se investigó la capacidad de detección de moléculas con grupo nitro con nuestros compuestos sensores PyOH, Pytb, PyNK1OH y PyNK1tb en metanol. Los quimiosensores PyOH y Pytb mostraron una excelente capacidad de detección para estos tipos de analito, alcanzando a cuantificar cantidades nanomolares de los mismos. De igual manera, los quimiosensores PyNK1OH y PyNK1tb mostraron una interesante sensibilidad de detección para estos tipos de analito, alcanzando a cuantificar cantidades micromolares de los mismos. Estos quimiosensores, conjuntamente con los discutidos anteriormente, permiten la medición de concentraciones de compuestos con grupo nitro desde concentraciones iguales a 10^{-8} M hasta 10^{-5} M.

Se investigó la capacidad de detección de aminas con estos mismos compuestos PyOH, PyNK1OH y PyNk2OH en agua. Éstos mostraron una excelente capacidad de detección para este tipo de analito, alcanzando a cuantificar cantidades nanomolares de los mismos. La influencia del impedimento estérico se pudo verificar con el cambio de límites de detección, los cuales fueron mayores para el quimiosensor PyNK1OH. Estos datos son importantes para una eventual comercialización de estos quimiosensores, siendo ubicado a nivel nanomolar el requisito para la comercialización de los mismos. Además, este trabajo representa el sexto reporte de detección a nivel nanomolar de quimiosensores que contienen el grupo pireno.

ABSTRACT

This work is focused on the synthesis and characterization of new Newkome-type dendrons, containing ramifications based on Behera amine and having a pyrene group as core. The synthesis of these dendrons (PyOH, Pytb, PyNK1OH, PyNK1tb y PyNK2OH) is based on Stiglich reactions and ester deprotections. These reactions are characterized by high yields and easy purifications. All the compounds have been characterized by NMR and MALDI-TOF mass spectrometry.

All these dendrons have been synthesized and characterized in order to use them as optical chemosensors for the sensing of nitro compounds and amines. The first step of the investigation focused on the study of their optical and photophysical properties, absorption and emission. The absorption spectra of the dendrons showed two bands, due to the $S_0 \rightarrow S_3$ y $S_0 \rightarrow S_2$ transitions, respectively at $\lambda = 278$ nm and $\lambda = 342$ nm. The molar extinction coefficient was calculated for all the sensor compounds, obtaining values close to $\epsilon = 45,000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, which match well with the values reported in the literature. The emission spectra showed a maximum at $\lambda = 375$ nm for all the compounds, in methanol. The quantum yield was calculated and was close to $\Phi = 0.6$ for all the chemosensors. The lifetime resulted to be in the range of $\tau = 200$ ns, going from $\tau = 196$ for PyOH up to $\tau = 231$ for PyNK2OH.

Nitro groups sensing was investigated with our chemosensors PyOH, Pytb, PyNK1OH and PyNK1tb in methanol. The zero generation compounds PyOH and

Pytb exhibited a high detection capacity for this kind of analytes, recognizing a nanomolar concentration of the nitro derivatives. The first generation dendrons PyNK1OH y PyNK1tb showed an interesting sensing ability, spotting micromolar concentration of the analytes. These chemosensors, jointly with the previously presented are able to identify a wide range of concentration of nitro compounds, from 10^{-8} M to 10^{-5} M.

Amine sensing was investigated with the same chemosensors PyOH, PyNK1OH and PyNK2OH in water. These compounds exhibited an excellent detection capacity, measuring nanomolar concentration of amine compounds. The influence of the higher steric hindrance can be verified in the detection limit variations, resulting to be the highest for PyNK1OH. These data are important for a possible commercialization of these chemosensors, being established the nanomolar sensitivity as requirement for their commercialization. Furthermore, this work represents the sixth report of nanomolar detection with pyrene based chemosensors.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores problemas hoy en día es la contaminación ambiental. Es por esto que el estudio de sistemas para la detección de contaminantes dañinos para la salud se ha convertido en una prioridad de la comunidad científica. Los sensores son sistemas que interactúan reversiblemente con contaminantes del ambiente y generan señales medibles ¹. Los quimiosensores son un adelanto de este tipo de detectores, los cuales son moléculas que al interactuar con ciertas especies contaminantes presentes en el ambiente emiten una respuesta química o física medible ^{2,3}. Los quimiosensores están clasificados de acuerdo al tipo de señal detectable que muestran: por ejemplo, un cambio en la conductividad o la temperatura. Actualmente, los quimiosensores más utilizados son los que dan una respuesta de tipo óptico, en particular los sensores fluorescentes, es por esto que se diseñan moléculas con grupos cromóforos fotoactivos que pueden interactuar con el ambiente. Entre los cromóforos más utilizados en quimiosensores se encuentra el pireno, debido a sus remarcables propiedades fotofísicas, en particular, su sensibilidad a varios sistemas como grupos nitro, aminas y átomos pesados, los cuales provocan un apagamiento de su emisión o quenching de fluorescencia.

La emisión del pireno casi siempre presenta dos bandas principales: la emisión de "monómero", que presenta un máximo a 375 nm, y la emisión de excímero, que aparece típicamente a 450 nm. Dependiendo del tipo del quimiosensor que se vaya a desarrollar, el aumento o disminución en la intensidad de estas bandas están relacionados con la cantidad de analito presente en solución. La interacción

entre el analito y el pireno puede ser de diferentes tipos y por lo general se pueden atribuir a dos diferentes fenómenos. El primero, que se presenta en particular con aminas y grupos nitros, consta de una transferencia de electrones entre un sistema excitado de pireno y el analito en estado basal. El segundo, en particular en el caso de metales, muestra la formación de excímeros, debido a formación de complejos en la solución.

La modificación estructural de los cromóforos permite modular su solubilidad y sensibilidad a los analitos. Una forma eficaz para llevar a cabo estas modificaciones es la formación de sistemas dendríticos, los cuales por impedimento estérico y presencia de grupos periféricos funcionalizados permiten afinar y adaptar el quimiosensor a diferentes sistemas. En la Fig.1.1 se muestra un ejemplo de la disminución de la emisión de pireno al aumentar la concentración de un analito con un grupo nitro.

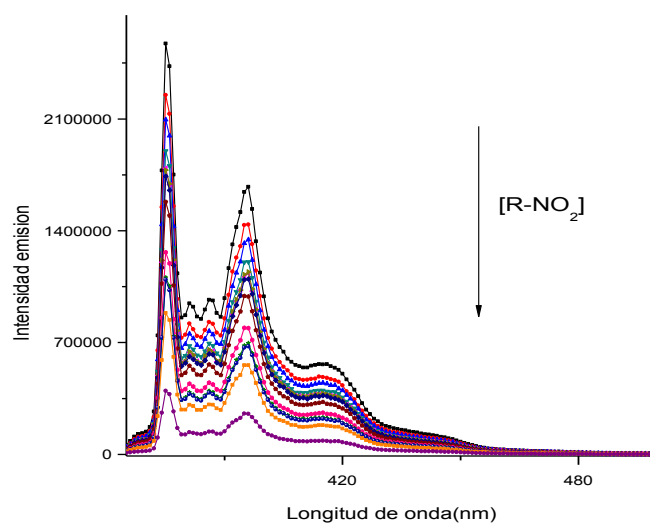


Fig 1.1 Emisión de pireno en solución, en presencia de un analito con grupo nitro.

El presente trabajo de tesis se enfoca principalmente en la síntesis, caracterización y estudio de las propiedades ópticas y fotofísicas de diversos sistemas dendríticos con unidades de pireno, diseñados para el desarrollo de sensores de aminas y compuestos con grupos nitros, algunos de ellos explosivos, en solución.

2. ANTECEDENTES

2.1 Dendrones y dendrimeros

La evolución de la química de polímeros orgánicos en lo largo de los últimos 30 años ha permitido desarrollar estructuras ramificadas siempre más finas y definidas. De hecho, la historia de los polímeros ramificados a principios del 1900 estaba caracterizada por la síntesis de sistemas ramificados insolubles, obtenidos como sub-productos de ciertas reacciones de polimerización. A partir de 1940 se comenzó a intentar llevar a cabo la síntesis de moléculas ramificadas organizadas. A finales de 1978 ⁴ Vögtle y colaboradores reportaron la primera síntesis de sistemas ramificados ordenados, llamados “moléculas cascada” o dendrimeros. Los dendrimeros son estructuras tridimensionales perfectamente ordenadas y con arquitecturas globulares ^{5,6}. Las estructuras dendrimericas se componen principalmente de tres partes (Fig. 2.1.1):

- Núcleo: Está ubicado en el centro de la molécula que representa el punto de partida de las ramificaciones. El núcleo, el cual puede ser rígido o flexible, puede ser responsable de algunas de las propiedades de esas estructuras.
- Ramificaciones: unidades repetitivas que se expanden desde el núcleo y definen al dendrímero. Estos brazos influyen la conformación y la flexibilidad del sistema, definiendo al mismo tiempo volumen y morfología del dendrímero.

- Periferia: En esta parte se encuentran los grupos terminales de las ramificaciones, los cuales constituyen la parte externa del dendrimero. Típicamente, al igual que en el núcleo, en estos sitios se localizan los elementos que confieren propiedades activas al dendrimero.

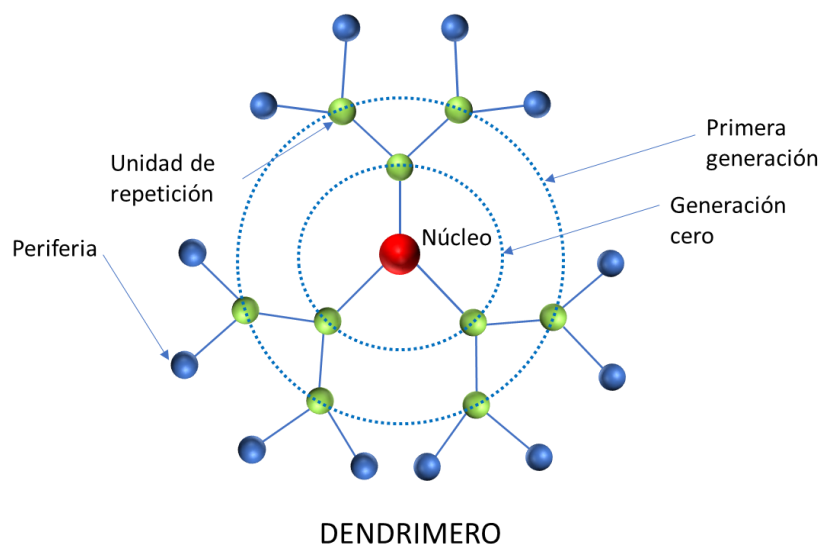


Fig 2.1.1 Estructura general de un dendrimero.

Las ramas grandes aisladas que emanan del núcleo se conocen como dendrones (Fig. 2.1.2). Estos compuestos representan una excelente alternativa aparte de los dendrimeros, ya que presentan propiedades comparables con sus homólogos más complejos, pero se obtienen con una metodología de síntesis más trivial.

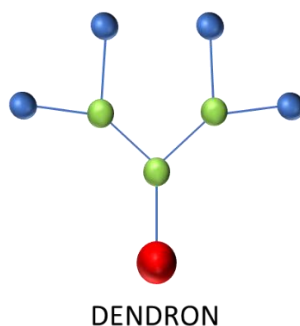


Fig 2.1.2 Estructura general de un dendrón.

El primero reporte de la síntesis de un dendrimero fue de Vögtle in 1978 ⁴. En dicho trabajo se sintetizó un dendrimero a base de aminas, obtenido vía síntesis divergente (Fig. 2.1.3). Este método está basado en el crecimiento de la molécula desde el núcleo hasta la periferia, mediante la adición selectiva de los elementos básicos de los dendrimeros, es decir, las unidades de repetición, lo cual se logra con un proceso de activación y acoplamiento de estos.

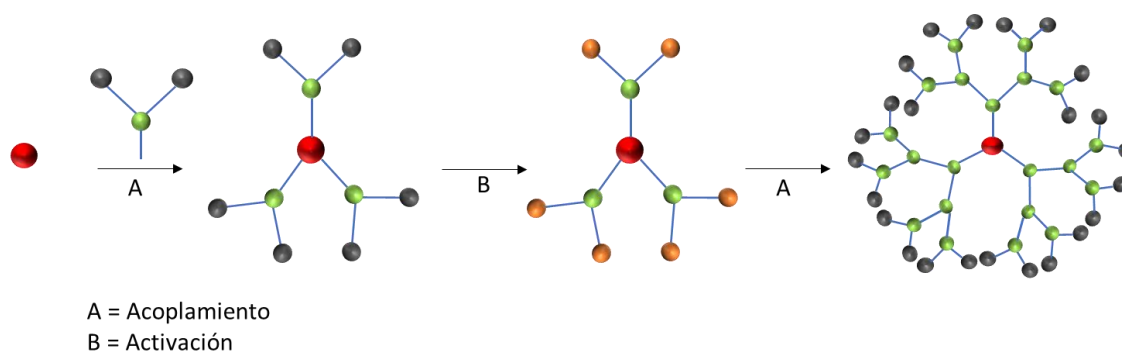


Fig 2.1.3 Esquema general de la síntesis divergente.

Con el trascurso del tiempo, la investigación de estructuras dendriméricas más complejas condujo al desarrollo de otro método de síntesis más efectivo, diseñado por Fréchet ⁷ en 1990. Esta técnica es conocida como método convergente (Fig.

2.1.4). En esta metodología, la síntesis empieza desde la periferia, llevando a cabo primero la síntesis de los dendrones, los cuales se acoplan posteriormente con el núcleo.

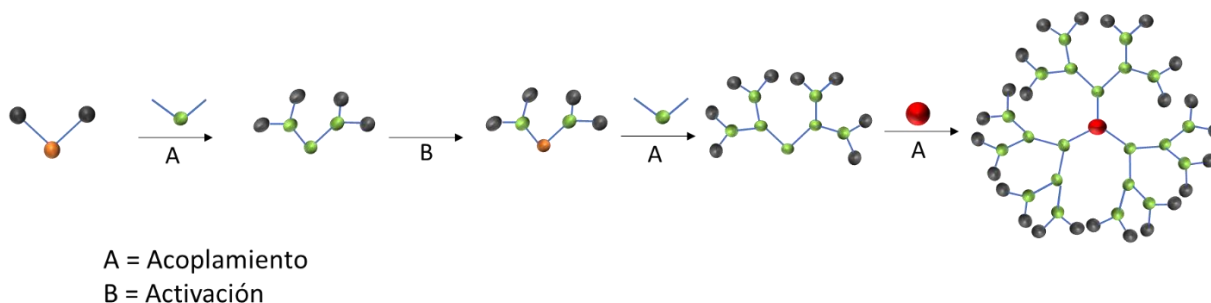


Fig 2.1.4 Esquema general de la síntesis convergente.

Los dos diferentes métodos de síntesis ofrecen ventajas y desventajas que favorecen una u otra ruta:

- El método divergente favorece la síntesis de dendrimeros con un alto número de generación, debido al hecho que por cada incremento de generación se presenta un aumento del número de sitios activos. Esto implica una mayor probabilidad de defectos estructurales en el crecimiento, lo que puede generar sistemas hiperramificados en lugar de dendrimeros.
- El método convergente es la ruta que evita la presencia de defectos estructurales en el crecimiento del dendron, porque en cada paso de síntesis hay un solo sitio activado. Por otro lado, esta técnica se vuelve más complicada para el desarrollo de dendrimeros de alta generación debido al incremento del impedimento estérico.

Debido a sus estructuras, los dendrimeros ocupan una posición intermedia entre polímeros de alto peso molecular y moléculas de bajo peso molecular. Por un lado, los dendrimeros pueden llegar a rebasar los miles UMA en pocas generaciones, a la par de los polímeros. Por otro lado, el orden típico de los dendrimeros permite un excelente control de las propiedades del sistema, de la misma forma que las moléculas de bajo peso molecular.

El alto nivel de control en el diseño de las estructuras dendriméricas, permite que estos compuestos sean utilizados en diferentes áreas, tales como catalizadores, sistemas biomédicos y optoelectronicos⁸.

El uso de estos sistemas arborescentes como catalizadores fue ampliamente abordado en revisiones ^{5,9-13}. En este trabajo se describen diferentes sistemas dendriméricos empleados como catalizadores para diferentes reacciones, tales como reacciones de metátesis de olefinas e hidrogenaciones (Fig. 2.1.5). Por ejemplo, el ligante **A** ¹⁴ fue sintetizado como homólogo del catalizador de Grubbs [Ru(PPh₃)₂Cl₂(=CHPh)], cambiando el bencilideno por un carbene quelante. El dendrimero tiene núcleo de silicio y fue usado para la reacción de metátesis de olefinas. El dendrimero conserva la capacidad catalítica para seis ciclos, manteniendo rendimientos por encima del 87%. Los autores sugieren que el alto nivel de actividad se debe a una liberación gradual de un complejo de Ru con monofosfina. El ligante **B** ¹⁵ fue coordinado al Rh *in situ* para obtener el complejo [Rh(η⁴-COD)Cl]₂. Este complejo se utiliza para la hidrogenación del ácido acetamidocinámico. Un dato muy interesante acerca de estos estudios es que la

velocidad de hidrogenación en presencia del ligante dendrítico resulta más alta en comparación a ligantes no dendriméricos.

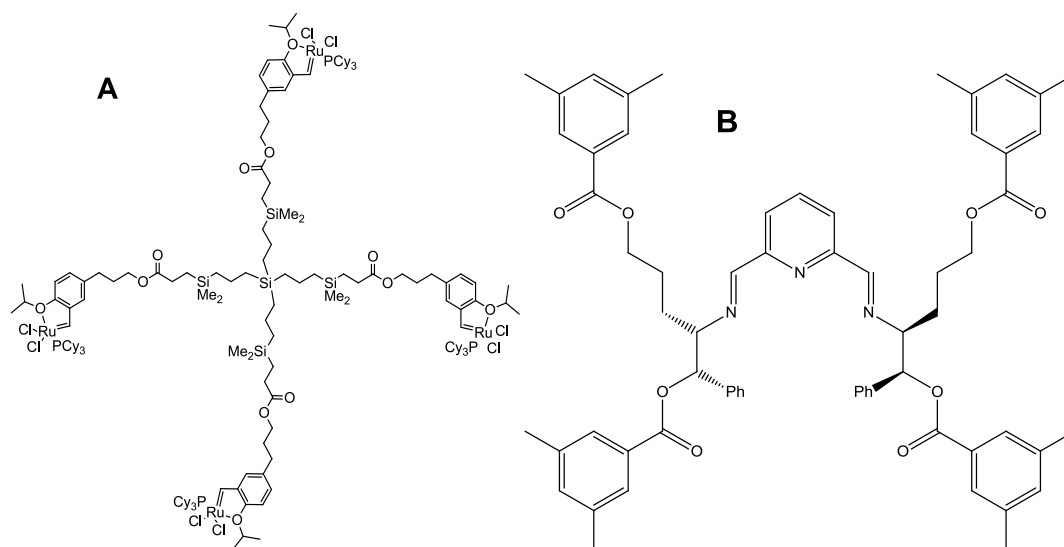


Fig 2.1.5 Ejemplos de dendrímeros utilizados en catálisis^{14,15}.

El uso de dendrímeros en el campo biológico se enfoca prevalentemente a liberación de fármacos y compuestos de contraste para aplicación de imagenología¹¹. Gracias a sus propiedades modulables, los dendrímeros representan una excelente alternativa para la liberación controlada de fármacos, dado que permiten una mejor selectividad para la liberación *in situ*. Un reporte sobre sistemas antitumorales *in vivo*, describe la eficiencia de complejos de cisplatino y PAMAM; la solubilidad del cis-platino aumenta con el dendrímero (Fig 2.1.6). Este complejo identifica pasivamente las células tumorales vía un mecanismo mejorado de permeación y retención¹⁶.

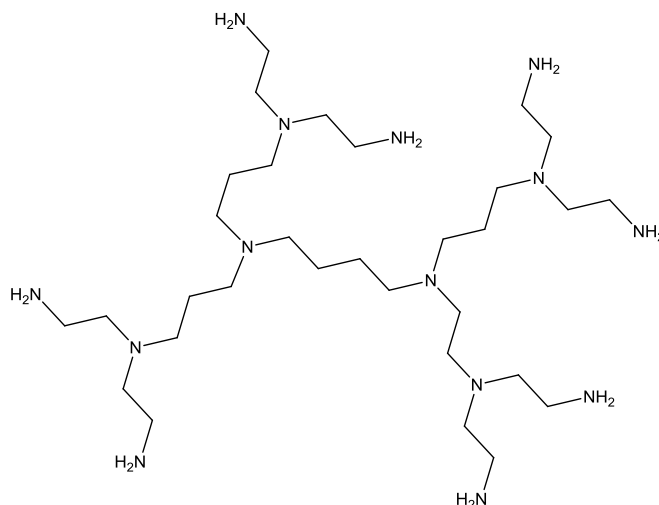


Fig 2.1.6 Ejemplo de dendrimero PAMAM.

El uso de los dendrimeros como agentes de contraste representa una evolución de los primeros sistemas de este tipo ¹⁷ basados en complejos (Gd(III)-DOTA). Estos primeros sistemas eran eliminados demasiado rápido por el organismo debido a su bajo peso molecular y tenían un bajo valor de relajación molar¹⁸. Debido al elevado número de grupos funcionales superficiales, su buena biocompatibilidad, arquitecturas bien definidas y dimensiones nanométricas, los dendrimeros mostraron ser excelentes candidatos para la síntesis de partículas para imagenología. La eficacia de sistemas de contraste dendrimericos es muy alta en órganos como el hígado; los compuestos permanecen en las venas y en el tracto urinario, permitiendo un alto grado de visualización de este órgano¹⁹.

Como hemos visto anteriormente, los dendrimeros consisten de tres partes principales: núcleo, ramificaciones y periferia. Esta clara separación es muy importante para la preparación de compuestos dendriméricos con aplicaciones optoelectrónicas. El primer punto en el diseño de estas moléculas es incluir en la

molécula grupos cromóforos. Habitualmente, en los dendrimeros saturados, estos grupos se ubican en el núcleo o en la periferia (Fig 2.1.7).

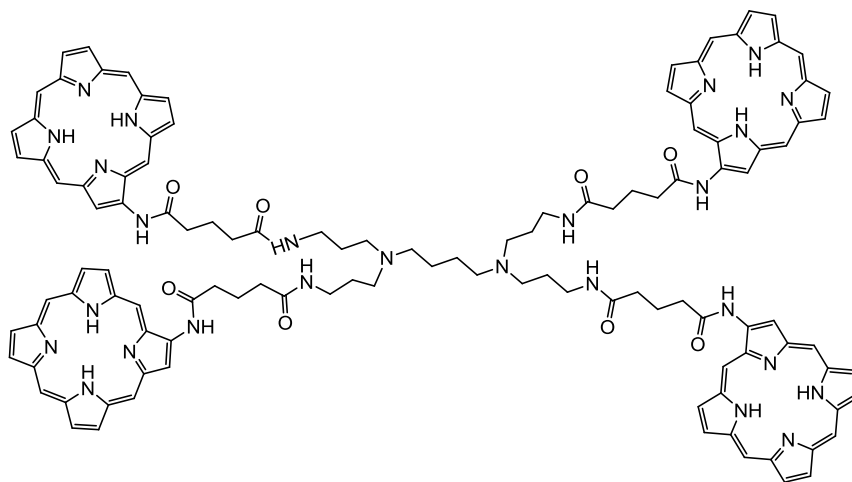


Fig 2.1.7 Ejemplo de dendrimero con cromóforos porfirina en la periferia.

Las estructuras con cromóforos en la periferia son los sistemas con mayor potencial en esta área, ya que los sistemas activos son más cercanos entre ellos y a la fuente de energía que los activa, permitiendo una mejor transportación de carga. Otros sistemas interesantes que contienen cromóforos son los sistemas tipo antena; normalmente estos sistemas contienen al menos un par de cromóforos donador-aceptor, o varios donadores y un aceptor. Típicamente, el aceptor se encuentra en el núcleo del dendrimero y los grupos donadores en la periferia. Los grupos donadores, ya que se encuentran funcionalizando la periferia, están en mayor número que el grupo aceptor (Fig 2.1.8). Es muy importante que el número de donadores sea más alto que el número de aceptores para que se dé una transferencia de energía absorbida desde la periferia hacia el núcleo, aumentando así la energía absorbida por el aceptor.

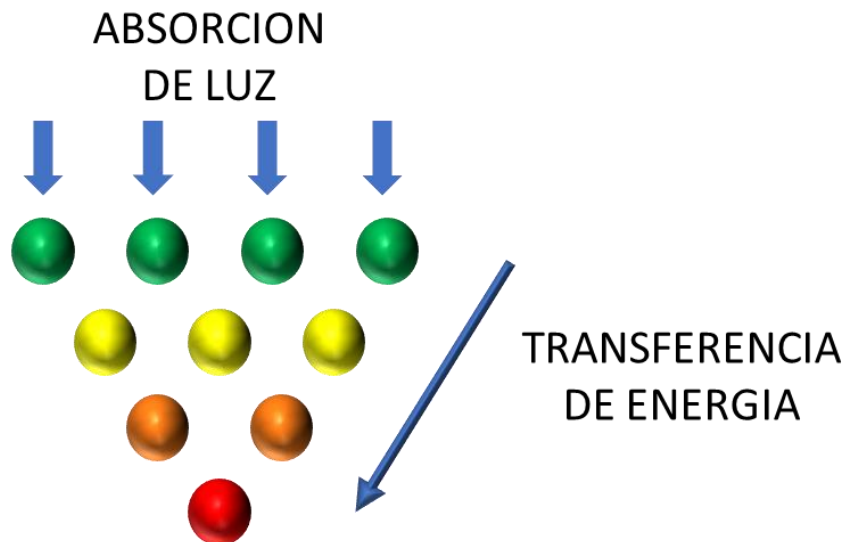


Fig 2.1.8 Ejemplo de efecto antena.

Un excelente pareja donador-aceptor está representada por el par pireno-porfirina²⁰. Estos sistemas muestran un valor de transferencia de energía por encima del 99%, e incrementando las unidades de pireno en la periferia se obtiene una mayor emisión del aceptor porfirinico.

2.2 Sensores

Por definición, un sensor es un elemento de un dispositivo que detecta o mide una propiedad física y convierte esta última en una respuesta²¹. Algunas de las propiedades más importantes para un sensor son²²:

- Resolución: la capacidad de hacer que una variación mínima en la medición de una propiedad pueda producir una variación detectable de la señal.

- Sensibilidad: el sensor debe percibir señales con variaciones significativas por mínimas que sean las variaciones detectadas en el sistema a analizar.
- Linealidad: debe de tener un intervalo de datos donde su respuesta sea lineal.
- Precisión: debe de dar respuestas lo más similares posibles, dada la misma variación en el sistema.
- Reproducibilidad: debe dar la misma respuesta si las condiciones del sistema no cambian.

Una clasificación de los sensores se puede realizar en función del tipo de variación del sistema que va a medir (Tabla 2.2.1).

Tabla 2.2.1. Clasificación de los sensores dependiendo del estímulo²¹.

Estímulo	Variación medida
Acústico	Ondas (ampieza, fase), espectro, velocidad de onda
Eléctrico	Carga, corriente, potencial, voltaje, campo eléctrico, conductividad
Magnético	Campo magnético (fase, polarización), flujo magnético
Óptico	Onda (fase, polarización, espectro), índice de refracción, reflectividad
Térmico	Temperatura, calor específico, conductividad térmica
Mecánico	Posición, fuerza, densidad, orientación, cristalinidad
Químico	Composición, concentración, pH, potencial de oxido-reducción

Existen diferentes tipos de sistemas que pueden trabajar como sensores: la tipología del sensor depende del tipo de estímulo que se quiere medir (Fig 2.2.1). Normalmente, se usan sensores y, por increíble que parezca esta afirmación, el mismo cuerpo humano es un sensor, aunque éste carezca de varios parámetros, como la linealidad y la reproducibilidad. De hecho, a diario nosotros medimos variaciones de luz, de temperatura, sabores y olores; de la misma forma percibimos toques, escuchamos ruidos o quedamos deslumbrados por el reflejo de la luz en un espejo. Todos estos son ejemplos de nuestra actividad como sensores. Lo que nos quita validez es la calidad de la traducción de la señal que percibimos, por ejemplo, percibimos una diferencia de temperatura, pero sin tener una buena precisión de si esta cambió en uno o dos grados. Por eso, es necesario utilizar sistemas más o menos sofisticados, los cuales convierten una variación detectada en una señal que sea reproducible y exacta.

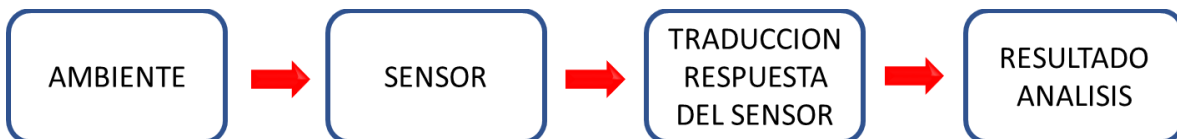


Fig 2.2.1 Ejemplo del funcionamiento de un sensor²².

Como se mencionó anteriormente, los sensores pueden medir autónomamente variaciones de las condiciones ambientales y expresar una respuesta por esta misma variación. Típicamente, los sensores son elementos de un dispositivo que perciben el estímulo recibido del sistema, en una señal de tipo eléctrico que se traduce en valores o indicaciones dadas por el aparato o dispositivo. Un ejemplo de este sistema es la pareja pH metro y pH electrodo, los cuales juntos

representan un sensor de pH. Por otra parte, Anslyn define un sensor como “un receptor que interacciona con un analito produciendo un cambio medible de una señal”³. Modificando la palabra receptor con la palabra molécula se va a obtener la definición de un quimiosensor. El ejemplo más común de un quimiosensor son los indicadores de pH. El primer ejemplo fue reportado por Boyle en 1664²³. En este trabajo se habla de los extractos de una planta (él trabajaba con árboles brasileños), los cuales se podían utilizar como indicadores de pH, ya que dichos materiales cambiaban de color si se trataban con ácidos o bases. Algunos ejemplos actualmente utilizados de estos quimiosensores sensibles al pH son el rojo fenol, el cual cambia de amarillo a rojo a pH = 7, y el azul de timol, el cual pasa de rojo a amarillo a pH = 2 (Fig 2.2.2).

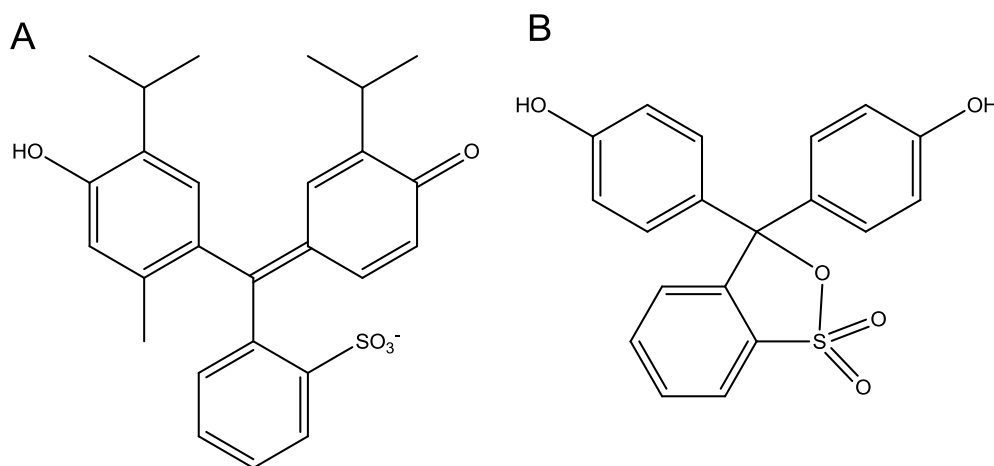


Fig 2.2.2 Estructuras de rojo de fenol (A) y azul de timol (B).

En el transcurso del tiempo se han investigado a profundidad los quimiosensores, ya que éstos permiten hacer mediciones más rápidas y más exactas que los sensores físicos. Actualmente, se han producido diferentes tipos de quimiosensores, los cuales permiten medir varios tipos de estímulos (Tabla 2.2.2).

Tabla 2.2.2. Tipología y características de diferentes quimiosensores²².

Principio	Medición	Tipología de sensor	Ventajas	Desventajas
Conductimetría	Conductancia	Quimioresistor	Económico	Sensible a la humedad
Capacitancia	Capacitancia	Quimiocondensador	Combinado con óxidos metálicos	Sensible a la humedad
Potenciometría	Voltaje	Quimiodiodo	Combinado con óxidos metálicos	Necesita Pt, Pd, Au
Calorimetría	Temperatura	Quimiosensor térmico	Económico	Respuesta baja
Gravimetría	Piezoelectricidad	Quimiosensor sensible a la masa	Económico	Respuesta baja
Óptico	Índice de refracción	Quimiosensor resonante	Insensible al ruido	Costoso
	Absorción y emisión	Quimiosensor óptico	Insensible al ruido	Restricciones por la fuente de luz
Amperometría	Corriente	Sensor de gases tóxicos	Económicos	Dimensiones

De las diferentes tipologías de quimiosensores, sin ninguna duda, los sensores de tipo óptico se encuentran entre los más investigados²⁴⁻²⁹.

En la planeación de la síntesis de un quimiosensor óptico, la afinidad del analito y la elección del cromóforo, resultan ser de importancia primordial. En lo que concierne al primer punto, se intenta incrementar la sensibilidad del sensor

aumentando la fuerza de los enlaces entre la sonda y el analito. Por otra parte, la instauración de interacciones demasiado fuertes causaría una saturación de la señal del compuesto emisor. Respecto a la elección del cromóforo, el punto fundamental es evaluar la compatibilidad de ese último con el medio que se quiere utilizar; otro punto que se debe de tomar en cuenta atañe al tipo de medición que se planea efectuar. Si la interacción entre el analito y el sensor va a causar algún tipo de modificación estructural como una isomerización o un movimiento de protón, sería suficiente escoger un cromóforo y entonces el método de absorción de luz resulta ser suficiente. La fluorescencia puede ser fundamental para interacciones que causarían una modificación de la geometría o la estructura electrónica en el estado fundamental o excitado. Un ejemplo de estos criterios ópticos se ilustra en la Fig 2.2.3.

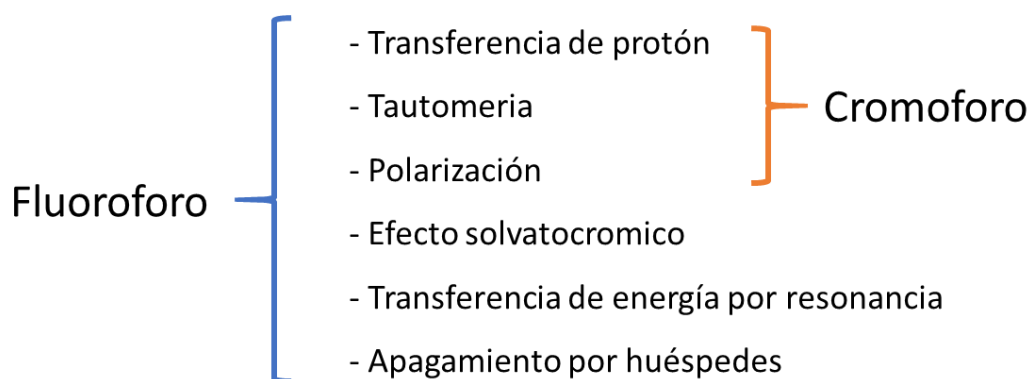


Fig 2.2.3 Parámetros para escoger entre un cromóforo y un fluoroforo²⁴.

Como hemos mencionado anteriormente, la estructura desempeña un papel fundamental acerca de la sensibilidad y la selectividad del sensor. Un primer ejemplo es la funcionalización de fluoróforos polialcoholes para la detección de

aminas. En 1996 fue sintetizado un núcleo de calixareno con grupos fotoactivos de naftaleno en la periferia (Fig 2.2.4)³⁰. En este sistema la presencia del grupo oxidrilo en α a los grupos fluoroforos tiene un papel fundamental. Estos grupos son desprotonados por las aminas, formando un anión que rápidamente se asocia al catión de amonio; de esta manera se forma un puente de hidrogeno entre el quimiosensor y el analito, que resulta fundamental por los análisis. Este sistema demostró ser sensible en particular para la (*R*)-1- feniletilamina en cloroformo y mostró una buena selectividad entre los enantiómeros de fenilglicinol en metanol.

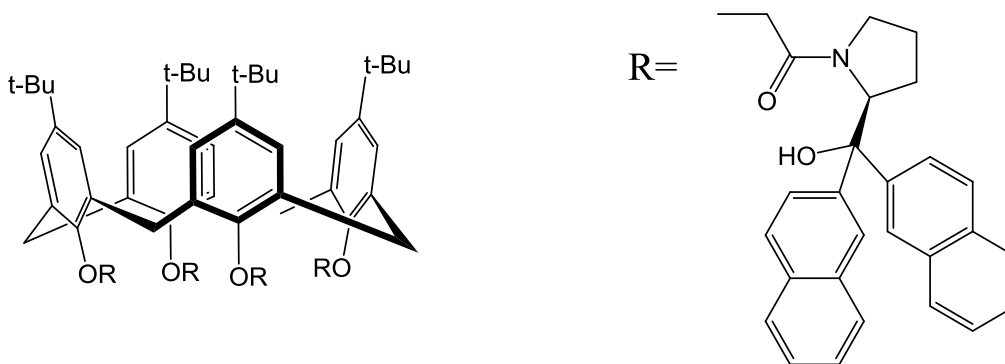


Fig 2.2.4 Quimiosensor para aminas desarrollado por Diamond.

De la misma forma, modificando la estructura del quimiosensor, se han desarrollado sistemas para la identificación de ácidos. Un ejemplo fue reportado en 2002³¹, añadiendo átomos de nitrógeno en la estructura. Como se ilustra en la Fig 2.2.5, el fluoroforo utilizado también es naftaleno, pero en la misma estructura está presente un átomo de nitrógeno que disminuye la emisión del sistema. En presencia de ácido, se llega a protonar el heteroátomo, y se observa un aumento de la fluorescencia. En este reporte, se vio una diferencia entre los enantiómeros *R*

y *S* del ácido mandélico, con un mayor incremento de emisión para el segundo. Esta selectividad es debida a la esteroactividad del quimiosensor. De la misma manera, se pudo calcular la constante de acoplamiento; la afinidad del enantiomero *S* resultó ser mayor que la del compuesto *R*, 348 y 163 M⁻¹, respectivamente.

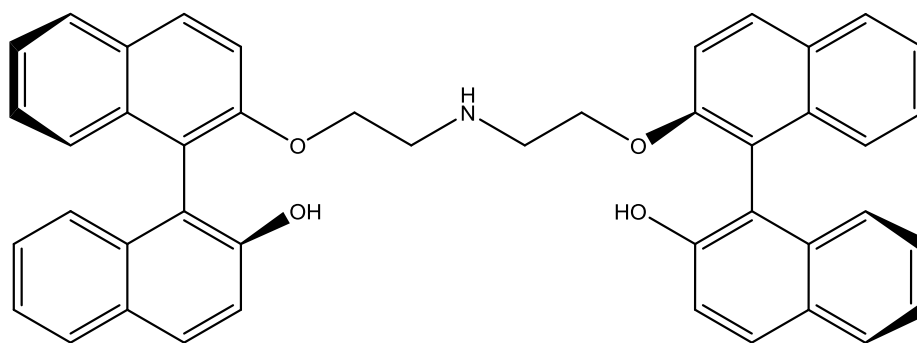


Fig 2.2.5 Quimiosensor para ácidos desarrollado por Pu.

El estudio de quimiosensores se ha vuelto muy importante sobre todo para aplicaciones relacionadas con la identificación y detección de explosivos, en particular de compuestos que contienen grupos R-NO₂. En esta dirección, un reporte muy interesante del 2005 explica cómo se pueden emplear derivados de pireno como quimiosensores para nitrobenzeno, 1,4-dinitrobenzeno, nitrometano y otros derivados³². En este trabajo se excitan los quimiosensores, mostrados en la Fig 2.2.6, a una longitud de onda de 355 nm en solución de etanol. Las sondas fluorescentes muestran dos bandas de emisión a 400 y 470 nm. Los sistemas resultaron ser sensibles a moléculas electrodeficientes, pero también pueden dar resultados falsos positivos. De todas formas, es preferible un resultado falso

positivo que un falso negativo si estos sensores se ocupan en ámbito de seguridad.

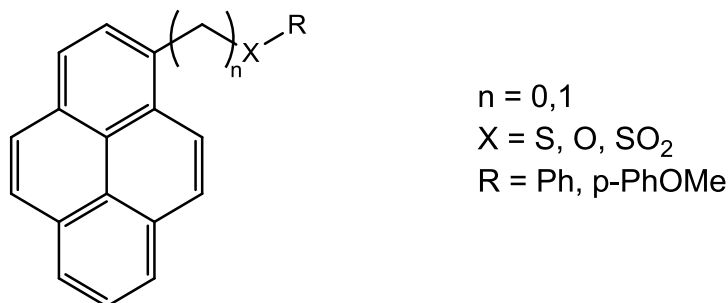


Fig 2.2.6 Quimiosensor para ácidos desarrollado por Scaiano.

Son varios los reportes sobre quimiosensores, pero todavía es un área de estudio muy amplia y que sigue sobresaliendo entre los tópicos de investigación más importantes en la comunidad científica. Los principales objetivos en las investigaciones, conciernen a la síntesis de sistemas muy sensibles, capaces de detectar concentraciones mínimas de un analito, y selectivas para compuestos particulares, ya sean carbohidratos ³³, metales ³⁴, nitratos ³⁵, aminas ^{36,37}, explosivos ³⁸ etc. Como se ha dicho previamente, la ausencia de selectividad no representa una problemática fundamental, porque resulta preferible un falso positivo que un falso negativo. Esto se debe a que resulta preferible hacer ulteriores verificaciones a un ensayo positivo (las cuales pueden confirmar o desmentir el primer resultado) en lugar de aceptar el primer falso negativo y no seguir con ulteriores confirmaciones.

2.3 Luminiscencia y pireno

2.3.1 Luminiscencia

Se define como luminiscencia el fenómeno de emisión de fotones desde una especie electrónicamente excitada ³⁹. Existen diferentes tipos de excitación para que un electrón pase desde un estado basal a un estado excitado (Tabla 2.3.1).

Tabla 2.3.1 Tipología de luminescencias.

Tipo de luminiscencia	Proceso de excitación
Fotoluminiscencia	Absorción de luz
Radioluminiscencia	Radiación ionizante (α , β , γ)
Catodoluminiscencia	Rayos catódicos
Electroluminiscencia	Campo eléctrico
Térmoluminiscencia	Calentamiento
Quimioluminiscencia	Reacción química
Bioluminiscencia	Proceso bioquímico
Triboluminiscencia	Proceso físico como fricción
Sonoluminiscencia	Ultrasonido

Los fenómenos de emisión de luz se dividen en dos categorías, dependiendo del tiempo necesario y de los estados electrónicos involucrados para que los electrones excitados regresen a el estado basal a través de la emisión de fotones: la primera categoría es la fluorescencia, que presenta típicamente valores de tiempo de vida de 10^{-9} - 10^{-6} segundos. Por otro lado está la fosforescencia, que tiene tiempos más largos, ya que van de milisegundos hasta horas. Los diferentes fenómenos pueden ser explicados a través del Diagrama de Jablonsky (Fig 2.3.1).

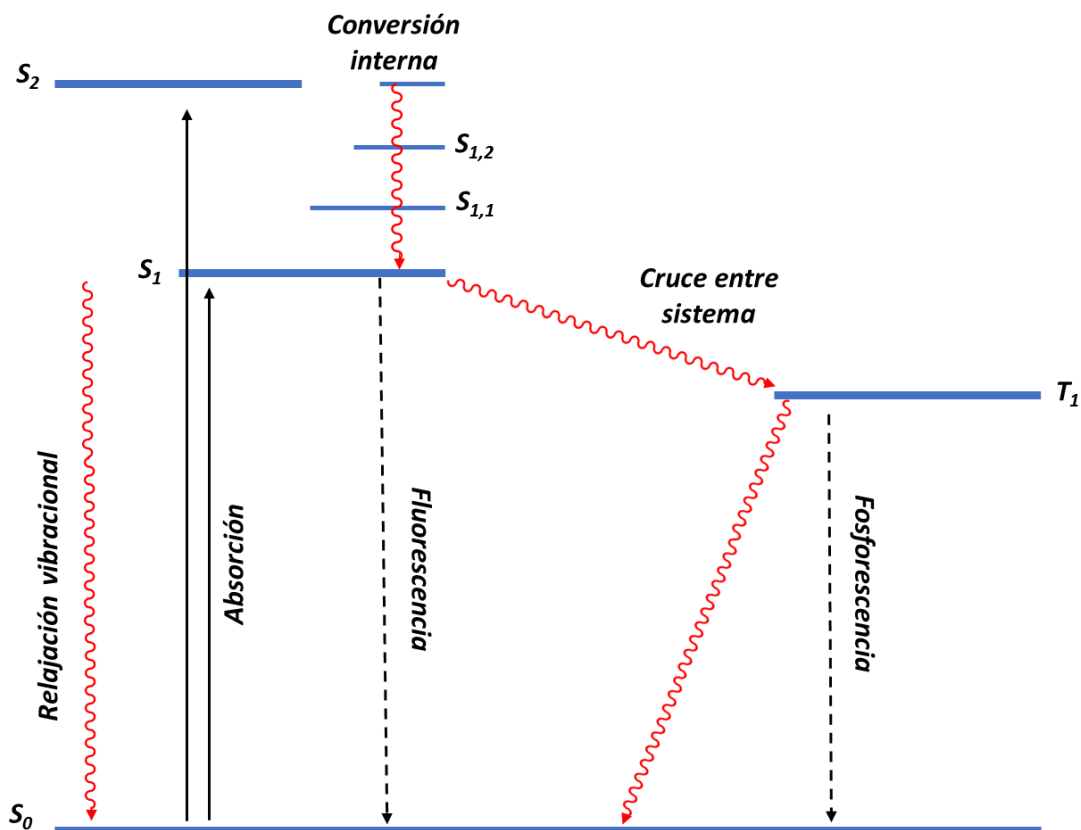


Fig 2.3.1 Representación del diagrama de Jablonsky.

Una molécula tiene diferentes niveles electrónicos, los cuales son identificados como *Singulete*, indicado con S_x , y *Triplete*, indicado con T_x , dependiendo del tipo

de spin. Además de esta clasificación, los niveles están ulteriormente divididos dependiendo de los diferentes niveles vibracionales intrínsecos a los niveles electrónicos: por ejemplo, están presentes niveles $S_{1,1}$ y $S_{1,2}$, los cuales definen estados vibracionales disimiles.

Los procesos de absorción no permiten transiciones con cambio de spin, permitiendo entonces transiciones desde el estado basal a estados excitados del tipo $S_0 \rightarrow S_n$. Estas transiciones pueden ser detectadas con un espectro de absorción de UV-visible, representadas como bandas de diferentes intensidades y formas. Cuando la molécula se encuentra excitada a niveles energéticos superiores al S_1 , esa energía es disipada de manera no radiactiva con una eficiencia del 100%; este fenómeno es llamado conversión interna (CI) y avviene en términos de tiempo iguales a 10^{-12} segundos. El primer decaimiento al nivel S_1 , vía CI, es muy importante porque todos los fenómenos de emisión radiactivos ocurren desde los estados excitados de menor energía de la molécula. Los niveles S_1 y T_1 , cuando este último resulta accesible, son los responsables de los fenómenos de emisión de luz por parte del cromóforo fluorescente o fosforescente. Este proceso es conocido como Regla de Kasha⁴⁰. El estado S_1 se desactiva con diferentes mecanismos:

- Decaimiento no radiactivo al estado basal, el cual representa una forma de conversión interna.
- Decaimiento radiactivo al estado basal, conocido también como *fluorescencia*, que presenta tiempos de vida típicamente en valores de 10^{-9} - 10^{-6} segundos.

- Cruce intersistema, donde se presenta una transferencia del electrón desde el estado S_1 al estado T_1 . Este estado excitado puede desactivarse de forma no radiactiva o radiactiva (*fosforescencia*).³⁹

Los casos descritos anteriormente explican el comportamiento típico de un fluoroforo en ausencia de algún tipo de fenómeno colateral. En la realidad de los casos, hay un amplio número de procesos que pueden inducir una desactivación de la fluorescencia del compuesto; entre estos hay reacciones en el estado excitado, reorganizaciones moleculares y formación de complejos en el estado basal. Realmente, los más comunes son la transferencia de energía y el apagamiento por interacción con interferentes, la cual en la mayoría de los casos conlleva a una transferencia de carga (Fig 2.3.2). En últimos casos mencionados, la luminiscencia de la especie A se apaga, generando especies luminiscentes (en caso de fenómenos de transferencia de energía) o especies cargadas (en el caso de transferencia de carga por interacción con interferentes).

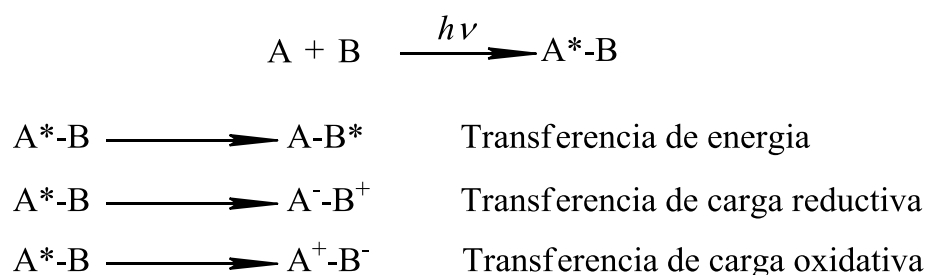


Fig 2.3.2 Tipos de desactivación de la fluorescencia.

Los fenómenos de desactivación por interacción con el ambiente están entre los más estudiados y se denominan comúnmente con el término *quenching*. Este tipo de desactivación se subdivide principalmente en dos clases:

- Desactivación estática, donde el fluoroforo y la especie desactivante entran en contacto formando un complejo que no emite luz;
- Desactivación dinámica, donde el desactivante se difunde hasta el fluoroforo excitado, absorbiendo su energía.

Ambos tipos de desactivaciones necesitan un contacto entre fluoroforo y la especie desactivante. Este comportamiento encuentra diferentes aplicaciones, por ejemplo, en biología para identificar la permeabilidad de membranas celulares o para quimiosensoreo. Las principales ventajas de los métodos de sensoreo fluorescente son la simplicidad de uso y la alta sensibilidad de detección.

2.3.2 Pireno

El pireno es una sonda fluorescente muy utilizada desde hace 40 años⁴¹. Las razones porque este cromóforo es tan usado son varias:

- Tiempo de vida muy largo del singulete excitado, lo cual puede favorecer rápidamente la formación de excímeros.
- Actúa como aceptor y/o donador para la transferencia de energía en forma no radiactiva de diferentes cromóforos.
- Su emisión es sensible al ambiente que lo rodea.

Sobre estos puntos, se presentaron diferentes conceptos tales como excimero y transferencia de energía, los cuales merecen una discusión más amplia. Para empezar a hablar de sus fenómenos y aplicaciones del pireno, hay que describir sus propiedades fotofísicas.

El espectro de absorción se caracteriza por la presencia de una serie de bandas vibracionales en el rango UV-visible (Fig 2.3.3); el espectro presenta tres bandas principales debidas a tres diferentes transiciones. Estas transiciones son las siguientes: $S_0 \rightarrow S_4$ a $\lambda = 240$ nm, $S_0 \rightarrow S_3$ a $\lambda = 260$ nm y $S_0 \rightarrow S_2$ a 340 nm. Además de estas transiciones, a altas concentraciones es posible ver la banda de absorción de $S_0 \rightarrow S_1$ a $\lambda = 370$ nm; esta última es prohibida por simetría y poco intensa ^{41,42}. A pesar de que la transición $S_0 \rightarrow S_1$ es prohibida, el pireno tiene altos valores de ϵ en lo que concierne la banda $S_0 \rightarrow S_2$, donde $\epsilon = 45,000$ M⁻¹cm⁻¹. El espectro de absorción del pireno aporta información valiosa acerca de la presencia de pre-asociación en estado basal. Este dato se obtiene por medio de la relación P_{340}/V_{330} , a decir, la relación entre la intensidad de la absorción en el pico más alto de la transición $S_0 \rightarrow S_2$ y la intensidad del valle a longitud de onda inferior. Cuando esta relación es inferior a 3, se observa un ensanchamiento de la banda, típica de la formación de agregados.

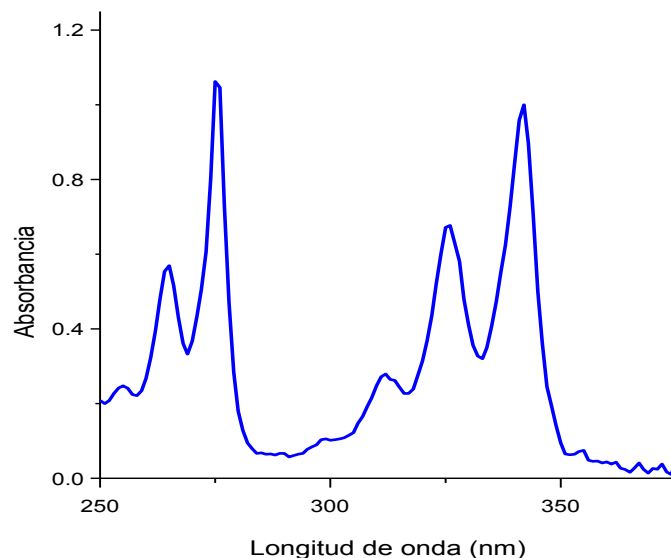


Fig 2.3.3 Espectro de absorción de pireno.

El espectro de emisión del pireno enseña otras características de este cromóforo (Fig 2.3.4). En el espectro se pueden identificar dos bandas: la primera, la cual presenta un máximo a aproximadamente 370 nm, debida a la transición $S_1 \rightarrow S_0$, por la regla de Kasha ⁴⁰. Esta emisión proviene de la excitación del cromóforo en el estado basal en el máximo de la transición $S_0 \rightarrow S_2$, típicamente a 340 nm aproximadamente. La longitud de onda de absorción y emisión está fuertemente influenciada por la polaridad del disolvente, en el que se efectúan las mediciones: Los disolventes más polares causan un efecto hipsocrómico (*blue shift*) en la absorción y un efecto batocrómico en el espectro de emisión (*red shift*). El alto desplazamiento de Stokes de este cromóforo, que resulta ser de aproximativamente 30 nm, hace del pireno uno de los cromóforos más utilizados para el análisis de macromoléculas, sistemas biológicos y quimiosensoreo.

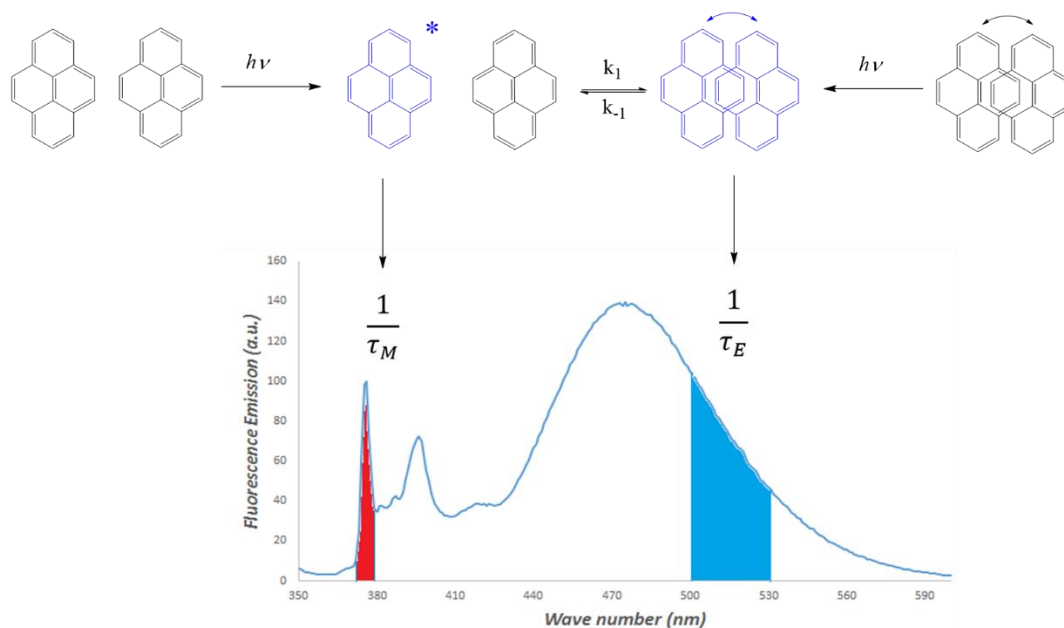


Fig 2.3.4 Espectro de emisión de pireno, donde se señalan, en rojo la emisión de “monómero”, y en azul la debida al excímero.

Otra banda de emisión muy importante en un espectro de fluorescencia de pireno es la debida a la formación de excímero (Fig 2.3.4 en azul). Según la definición de Birks, un excímero es un dímero que resulta ser asociativo en un estado electrónico excitado y disociativo en estado electrónico basal⁴³. La formación de excímero puede ser debida a dos diferentes tipos de mecanismos:

- Excímero dinámico. En este caso, los dos cromóforos se encuentran suficientemente distantes; una vez que una de las dos moléculas se encuentra en el estado excitado, por difusión los fluoróforos se acercan e interactúan formando un excímero. Para que las dos moléculas se asocien, es importante que solo una de las dos se encuentre en el estado excitado⁴¹.

- Excímero estático. Aquí, los dos cromóforos se encuentran desde el estado basal ya asociados en forma de dímero no activado; una vez que se excita el dímero, se forma un sistema excitado dimérico llamado excímero. En el caso que los cromóforos sean diferentes, el dímero excitado se denomina excíplejo.

Los dos tipos de excímero no pueden ser distinguidas por análisis de emisión de estado estacionario, ya que sus emisiones resultan ser iguales, distinguiéndose únicamente por el método de formación. Mayor información se puede obtener por análisis de fotón solo “single photon counting”, donde se analizan los tiempos de vida del cromóforo. En particular, modelos matemáticos recientes ^{42,44} muestran que los excímeros estáticos tienen tiempos de vida media más largos que los dinámicos (aproximadamente 30 ns para el dinámico y 50 ns para el estático).

3. HIPOTESIS

De acuerdo a los reportes descritos en la sección anterior, el desarrollo de quimiosensores de tipo óptico resulta ser sumamente importante hoy en día. Entre los fluoróforos más estudiados, el pireno, posee propiedades ópticas y fotofísicas tales, que lo hacen el más apropiado para este tipo de sensores.

Debido a esto, el desarrollo de quimiosensores con el grupo pireno como cromóforo permitirán una excelente detección con una alta sensibilidad para analitos, tales como nitro compuestos y aminas.

Para poder variar sensibilidad y límites de detección será necesario funcionalizar el pireno con ramificaciones con diferentes grupos funcionales y distintos grados de impedimento estérico. Además, las funcionalizaciones permitirán la solubilización del cromóforo en soluciones polares como agua, medio de solubilidad no accesible para el pireno puro (Fig. 3.1).

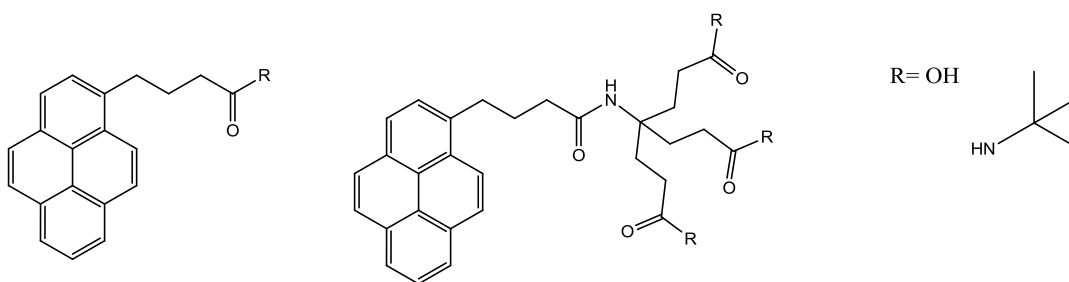


Fig 3.1 Estructuras para potenciales quimiosensores.

4. OBJETIVO

4.1 Objetivo general

Sintetizar dendrones que contienen un grupo pireno, para su análisis como quimiosensores potenciales para grupos nitro y aminas.

Para llevar a cabo este objetivo, se plantean los siguientes objetivos particulares

4.2 Objetivos particulares

- Sintetizar diferentes dendrones con grupos pireno en el punto focal y diferentes terminaciones en la periferia.
- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante ^1H y ^{13}C RMN y espectroscopia de masas MALDI-TOF.
- Estudiar las propiedades ópticas y fotofísicas de los dendrones obtenidos, mediante espectroscopias de absorción y fluorescencia.
- Estudiar sus propiedades como quimiosensores para los analitos modelo seleccionados (nitrocompuestos y aminas).

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Las metodologías de síntesis, caracterización y análisis se describen a continuación, de igual forma que el proveedor de los reactivos y disolventes utilizados. También se describe la marca y modelo de los equipos empleados para las caracterizaciones y análisis de quimiosensoreo.

5.1 Condiciones generales

Los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo de investigación fueron adquiridos en Sigma-Aldrich, a excepción del compuesto aminotriester, que es comercializado por Frontier Scientific. Todos los reactivos fueron usados como se recibieron de las compañías.

Los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los compuestos sintetizados se adquirieron en solución de CDCl_3 y CH_3OD , dependiendo de la solubilidad de los mismos. El equipo para la adquisición de los espectros fue un Bruker Avance 400 UltrashieldTM. Los espectros de absorción UV-visible se obtuvieron a temperatura ambiente con un espectrofotómetro Varian Cary 1 Bio UV-Vis modelo 8452A con celdas de cuarzo de 1 cm de ancho y metanol espectrofotométrico como disolvente. Los espectros de fluorescencia y excitación se registraron en un equipo Photon Technology International LS-100 steady state system, con lámpara de Xenon como fuente de luz; la apertura de los monocromadores se fijó a 1 nm para la fuente de excitación y a 3 nm para la emisión. Las concentraciones y las longitudes de onda de excitación varían según el experimento y serán descritas más adelante en el desarrollo experimental.

El trabajo experimental se desarrolló en tres partes:

- Síntesis de los dendrones con pireno como punto focal;
- Uso de los dendrones de generación cero y uno para la detección o sensorio de compuestos con grupo nitro;
- Uso de los dendrones con grupo ácido carboxílico en la periferia para la detección o sensorio de compuestos aminados.

5.2 Síntesis de los dendrones

La síntesis de los dendrones con pireno como punto focal, utilizados como quimiosensores para grupos nitro y aminas se ilustra en las Figura 5.3.1 y 5.3.2.

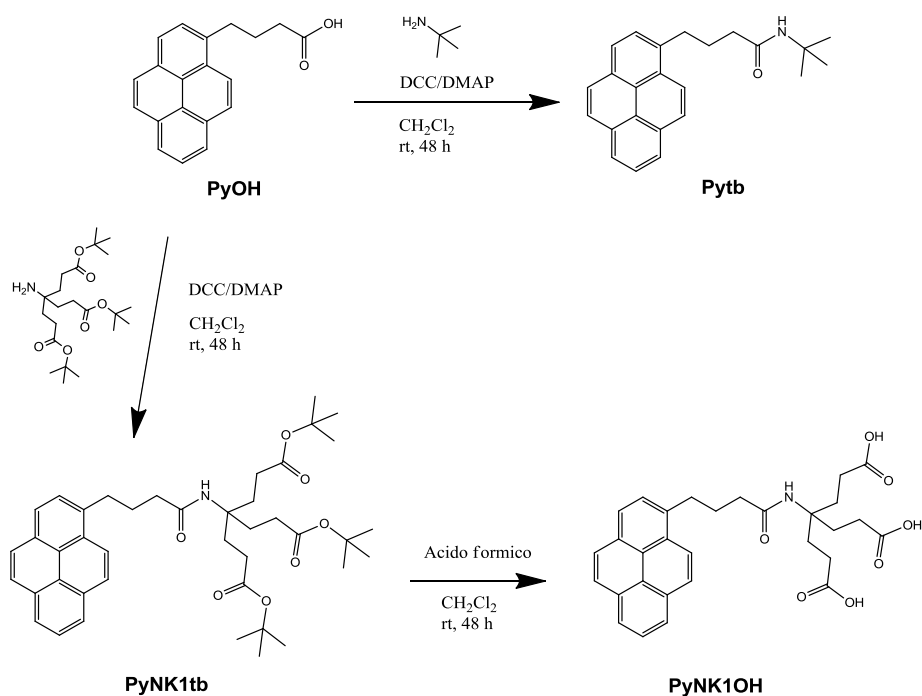


Fig 5.2.1. Síntesis de los dendrones *Pytb*, *PyNK1tb* y *PyNK1OH*.

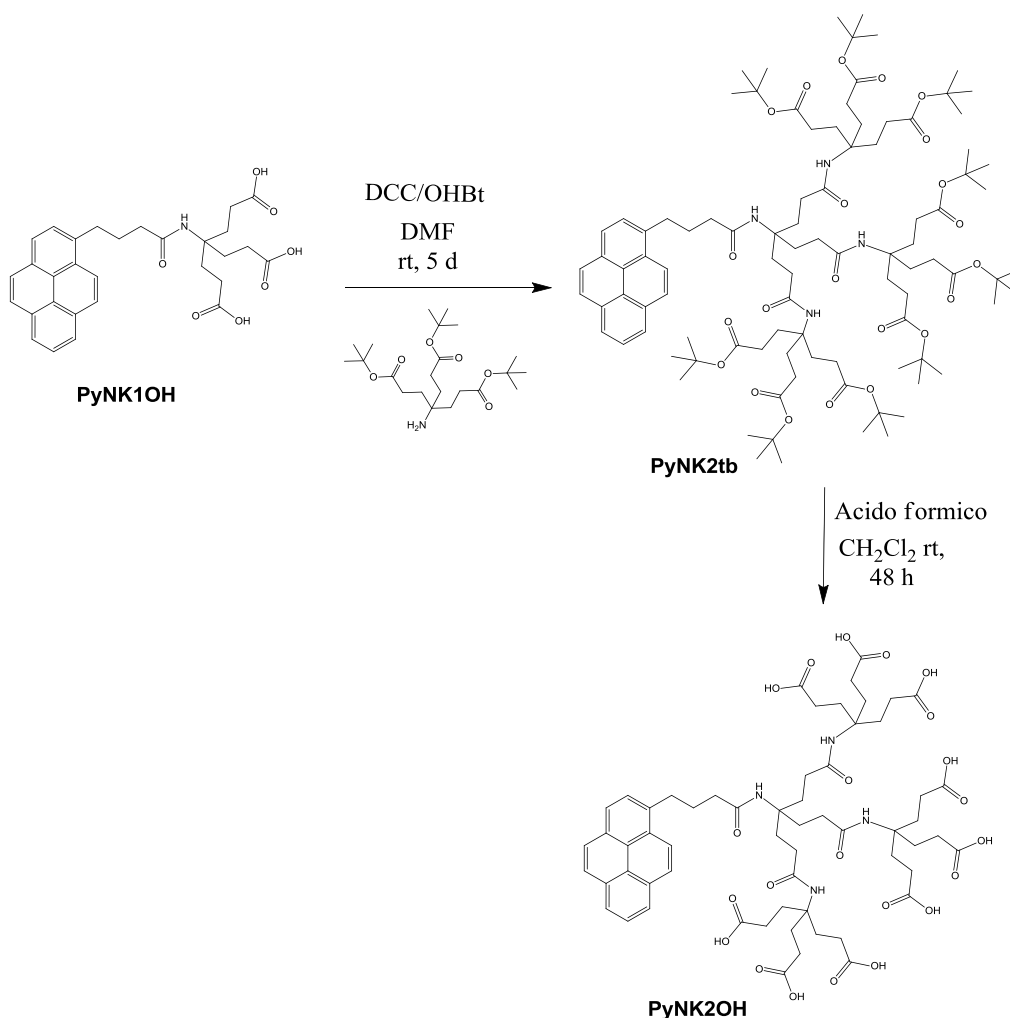


Fig 5.2.2. Síntesis de los dendrones *PyNK2tb* y *PyNK2OH*.

A continuación, se describe el procedimiento experimental para la síntesis de los dendrones con pireno como punto focal, utilizados como quimiosensores. Las síntesis reportadas respectan metodologías típicas de reacción de Steglich y desprotección de esteres.

Síntesis de N-(tert-butil)-4-(piren-1-yl)butanamide. (Pytb)

El ácido pirenbutírico (0.1 g, 0.34 mmol) fue disuelto en 20 mL de CH₂Cl₂ con DCC (0.078 g, 0.38 mmol), DMAP (0.005 g, 0.04 mmol) y *t*-butilamina (0.028 g, 0.38

mmol). La solución fue puesta bajo atmosfera de nitrógeno y agitada a temperatura ambiente. Después de 48 horas, la solución fue filtrada y purificada mediante cromatografía en columna (SiO_2 , hexano : acetato de etilo 2:1). El producto final resultó ser un sólido blanco (0.098 g, 83%). ^1H NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 1.34 (s, CCH_3 , 9 H), 2.20 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$, 4 H), 3.41 (t, PyCH_2 , 2 H), 5.19 (s, CONH , 1 H), 7.87-8.33 (m, Py, 9 H). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 27.00 (CH_2), 28.35 (CH_3), 32.15, 36.40 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 36.68 (CH_2), 50.67 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 122.96, 124.28, 124.41, 124.60, 125.36, 126.20, 126.87, 126.93, 126.99, 128.31, 129.42, 130.42, 130.93, 135.54 (pireno), 171.34 (CONH). DART: 344 (Calc. 344- dímero 688).

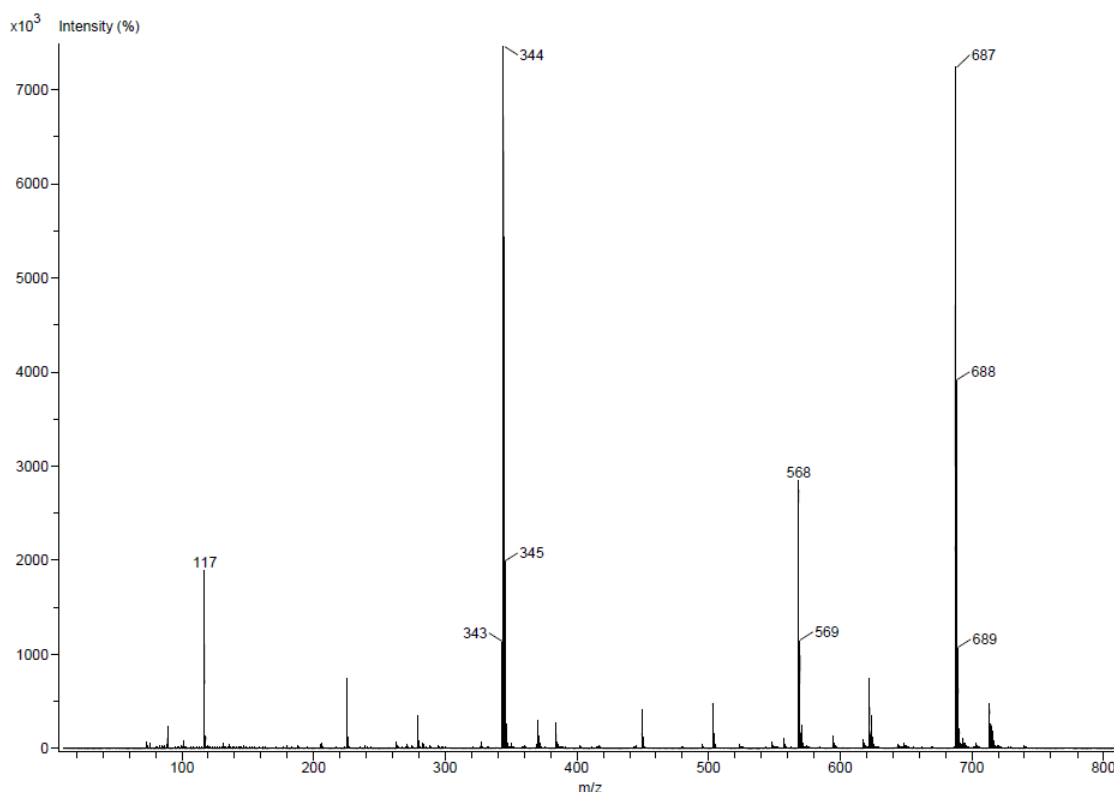


Fig 5.2.3. Espectro DART de Pytb.

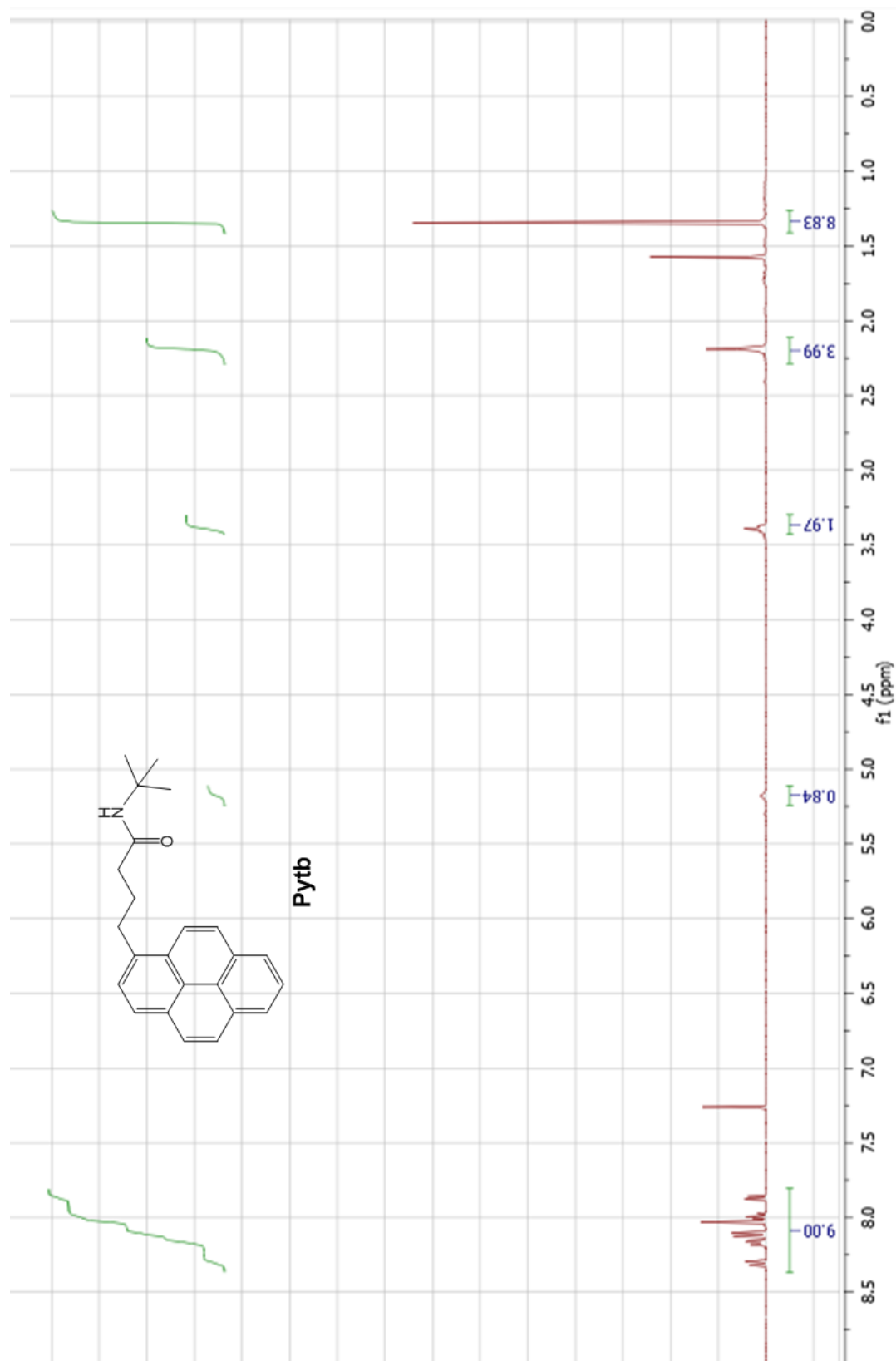


Fig 5.2.4. Espectro ^1H NMR de Pytb.

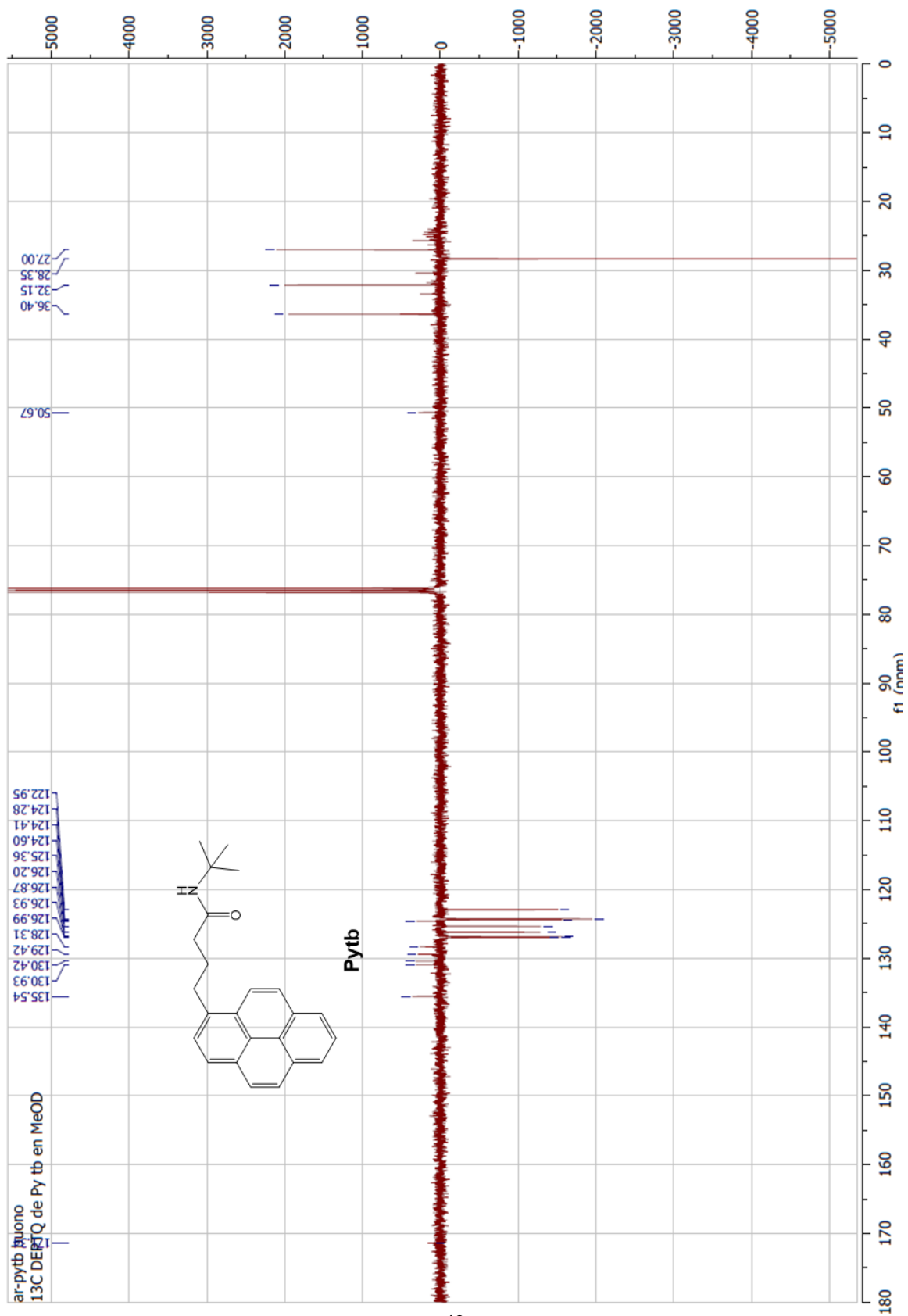


Fig 5.2.5. Espectro ^{13}C NMR de Pytb.

Síntesis de di-tert-butil-4-(3-(tert-butoxi)-3-oxopropil)-4-(4-(piren-1-yl)butanamido) heptanodioato. (PyNK1tb)

El ácido pirenbutírico (0.2 g, 0.68 mmol) fue disuelto en 40 mL de CH₂Cl₂ en presencia de DCC (0.156 g, 0.78 mmol), DMAP (0.01 g, 0.08 mmol) y aminotriéster (0.315 g, 0.76 mmol). La solución fue puesta bajo atmósfera de nitrógeno y agitada a temperatura ambiente. Después de 48 horas, la solución fue filtrada y purificada por columna cromatográfica (SiO₂, hexano : acetato de etilo 2:1). El producto de la columna fue puesto a precipitar en una mezcla hexano : acetato de etilo en proporción 5:1. El producto final resultó ser un sólido cristalino blanco (0.377 g, 81%). ¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.40 (s, CCH₃, 27 H) 2.00 (t, CCH₂, 6 H), 2.20 (m, PyCCH₂CCO - CH₂COOt_b, 10 H), 3.40 (t, PyCH₂, 2 H), 5.91 (s, CONH, 1 H), 7.83-8.33 (m, Py, 9 H). ¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 27.38 (CH₂), 27.90 (CH₃), 29.79, δ 29.88 (CH₂-CH₂), 32.68 (CH₂), 36.68 (CH₂), 57.27 [C(CH₂-CH₂)₃], 80.51 [C(CH₃)₃], 123.24, 124.59, 124.62, 124.69, 124.83, 124.93, 125.65, 126.48, 127.24, 127.32, 128.59, 129.57, 130.76, 131.24, 135.77 (pireno), 171.96 (CONH), 172.77 [COOC(CH₃)₃] ppm. DART: 686 (Calc. 686).

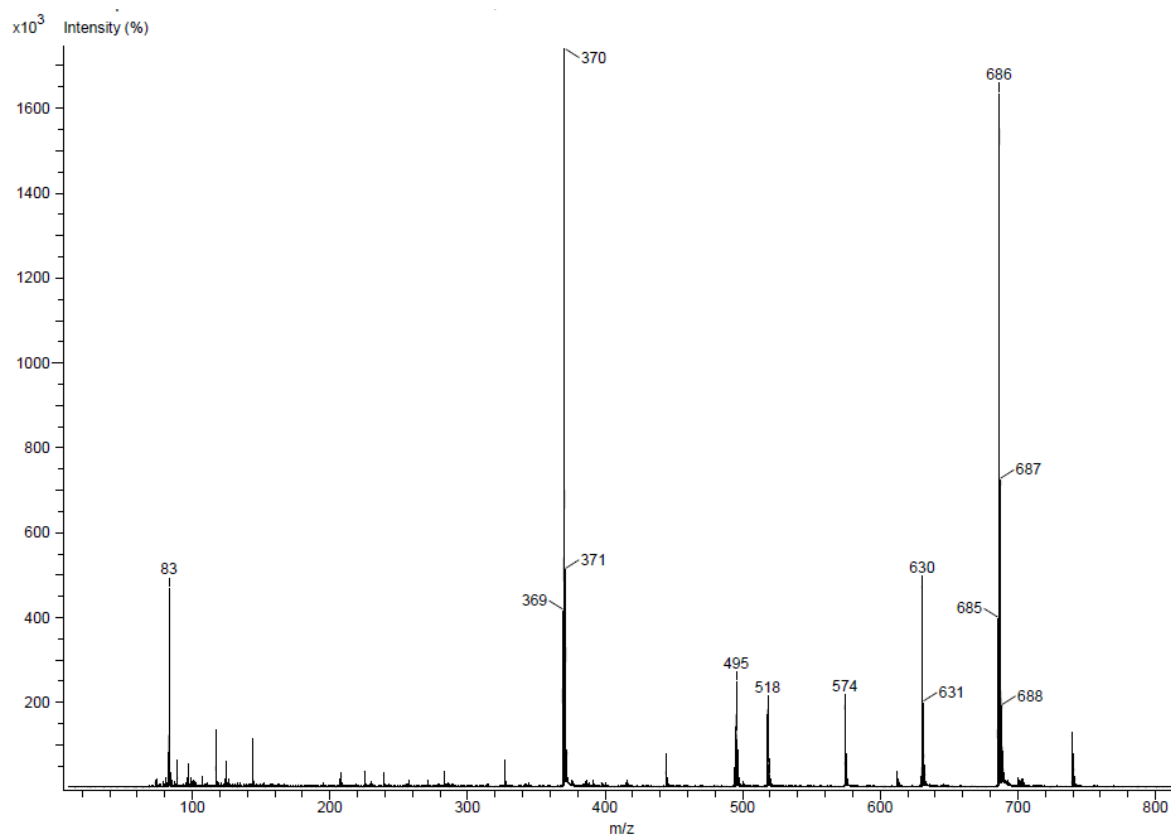


Fig 5.2.6. Espectro DART de PyNK1tb.

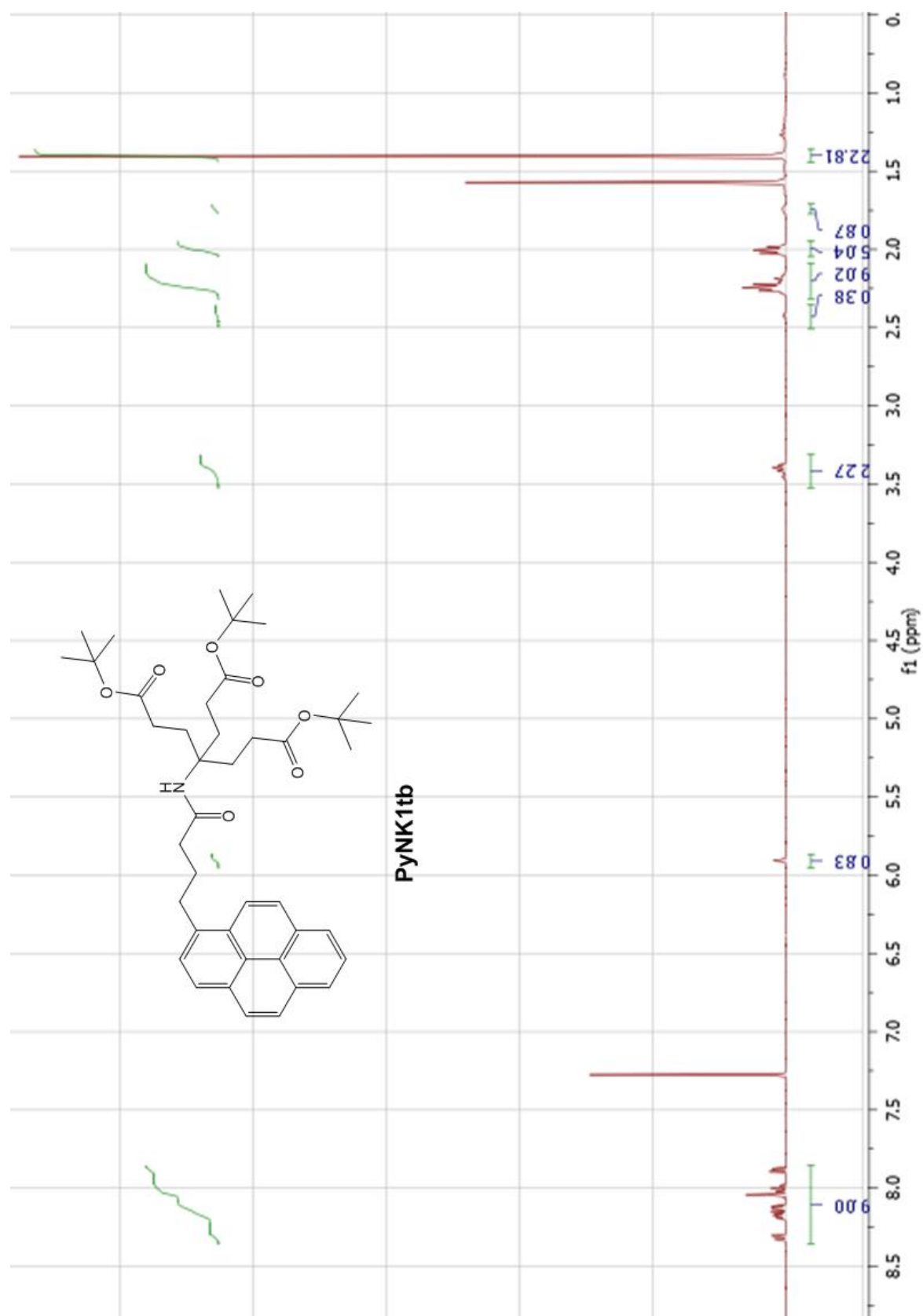


Fig 5.2.7. Espectro ^1H NMR de PyNK1tb.

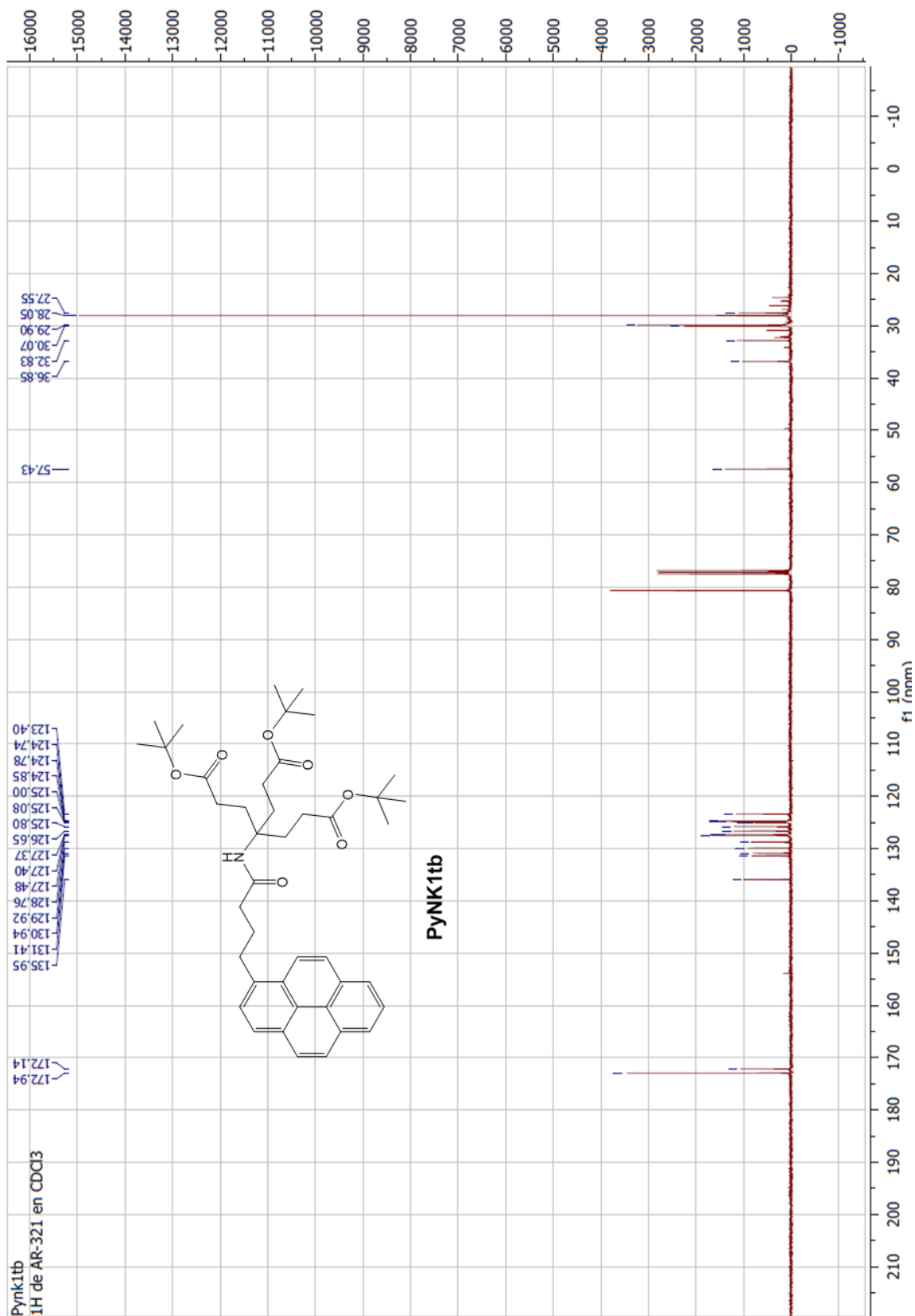


Fig 5.2.8. Espectro ^{13}C NMR de PyNK1tb.

*Síntesis del ácido 4-(2-carboxietil)-4-(4-(piren-1-il)butanamido)heptanedioico.
(PyNK1OH)*

El PyNK1tb (0.2 g, 0.29 mmol) fue disuelto en 5 mL de CH₂Cl₂ y 10 mL de ácido fórmico. La solución fue puesta bajo atmósfera inerte de nitrógeno y agitada a temperatura ambiente. Después de 48 horas, la solución fue concentrada a presión reducida, obteniéndose un aceite rojo, el cual fue lavado con tolueno para dar un sólido amarillo. El sólido fue disuelto en acetona hirviendo y después la solución fue enfriada. El producto final resultó ser un sólido cristalino blanco (0.150 g, 99%). ¹H NMR (CD₃OD): δ(ppm) = 2.07 (t, CCH₂, 6 H), 2.20 (q, PyCCH₂CCO, 2 H), 2.32 (t, CH₂COOH, 6 H), 2.42 (t, PyCCH₂, 2 H), 3.38 (t, PyCH₂, 2 H), 7.92-8.37 (m, Py, 9 H). ¹³C NMR (CD₃OD): δ(ppm) = 27.38 (CH₂), 29.79, 29.88 (CH₂-CH₂), 32.68 (CH₂), 36.68 (CH₂), 57.27 [C(CH₂-CH₂)₃], 80.51 [C(CH₃)₃], 123.24, 124.59, 124.62, 124.69, 124.83, 124.93, 125.65, 126.48, 127.24, 127.32, 128.59, 129.57, 130.76, 131.24, 135.77 (pireno), 174.96 (CONH), 176.77 [COOH] ppm. DART: 518 (Calc. 517).

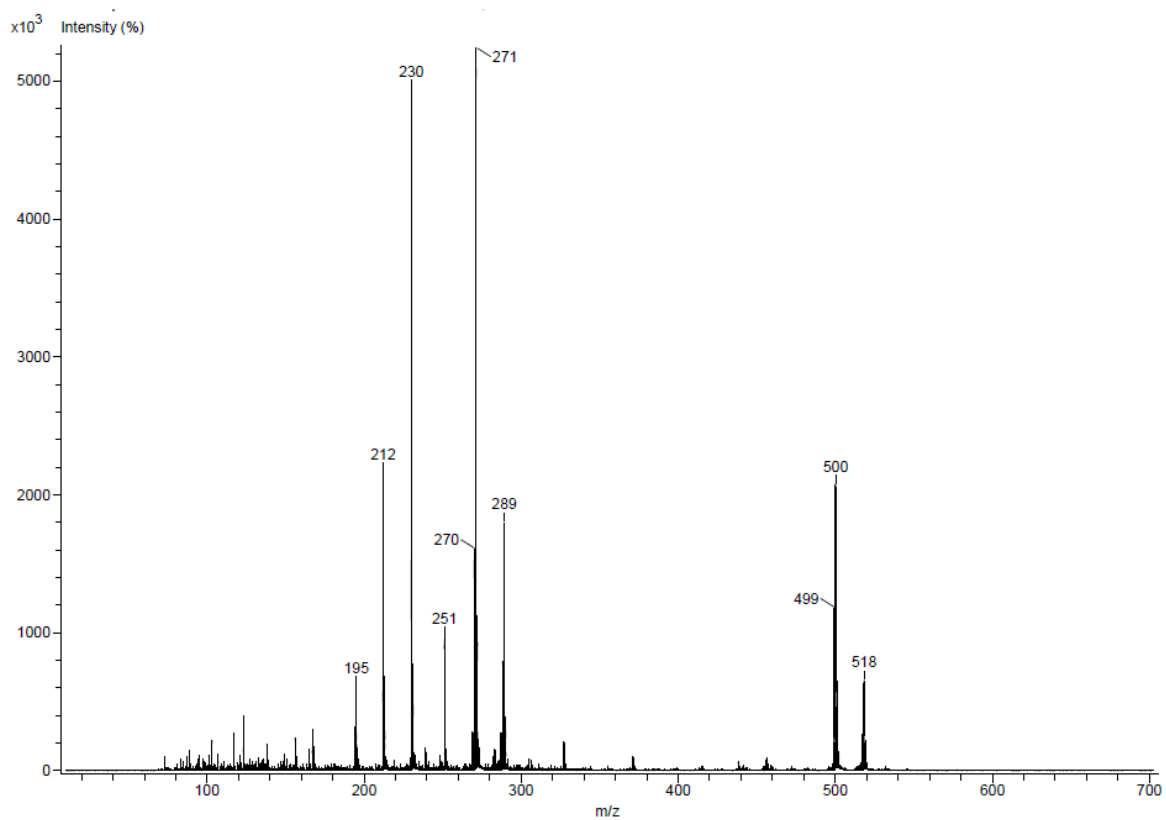


Fig 5.2.9. Espectro DART de PyNK1OH.

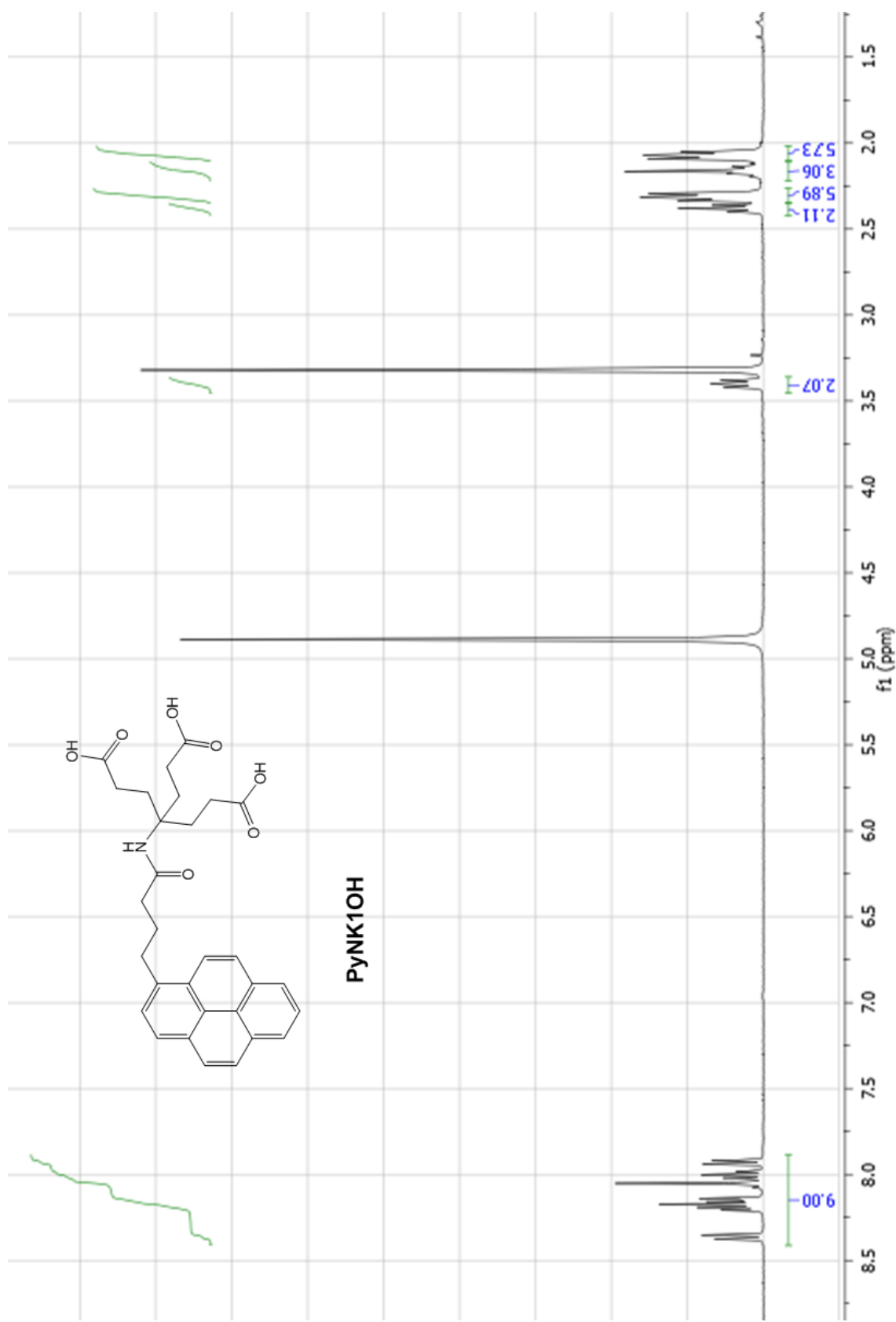


Fig 5.2.10. Espectro ¹H NMR de PyNK10H.

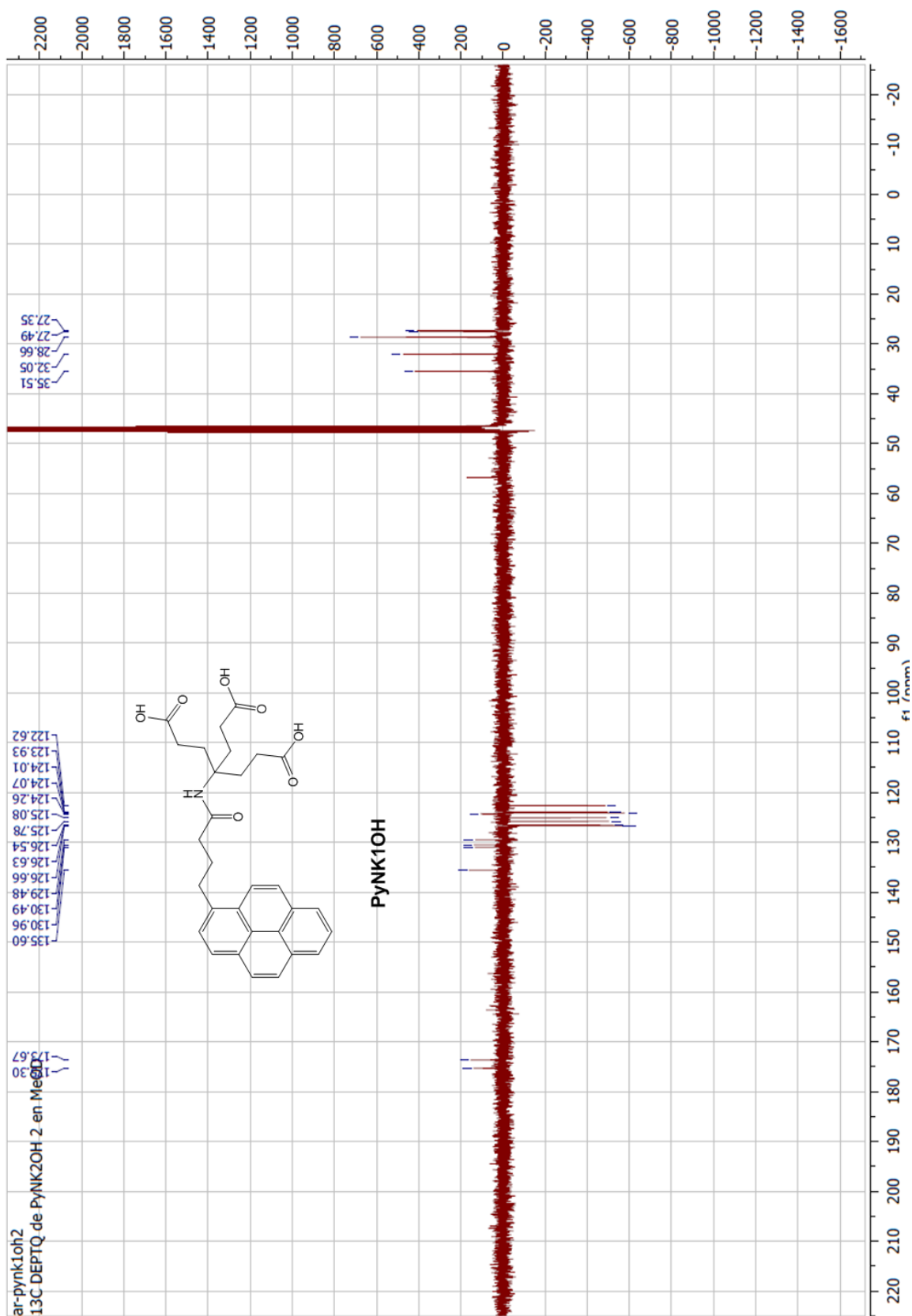


Fig 5.2.11. Espectro ^{13}C NMR de PyNK1OH.

Síntesis de tetra-tert-butil 4,4'-((4-(3-((1,7-di-tert-butoxi-4-(3-(tert-butoxi)-3-oxopropil)-1,7-dioxoheptan-4-il)amino)-3-oxopropil)-4-(4-(piren-1-il)butanamido)heptanedioil))bis(azanediil))bis(4-(3-(tert-butoxi)-3-oxopropil)heptanodioato). (PyNK2tb)

El compuesto PyNK1OH (0.1 g, 0.18 mmol) fue disuelto en 15 mL de DMF en presencia de DCC (0.045 g, 0.24 mmol), HOBt (0.03 g, 0.24 mmol) y aminotriester (0.284 g, 0.70 mmol). La solución fue puesta bajo atmósfera inerte de nitrógeno y agitada a temperatura ambiente. Después de 7 días, la solución fue filtrada y purificada en columna cromatográfica (SiO₂, hexano : acetato de etilo 2:1). El producto final resultó ser un aceite amarillo (0.233 g, 76%). ¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.42 (s, CCH₃, 81 H), 1.93-1.97 (t, CH₂CH₂ gen 2, 20 H), 2.01-2.05 (t, CH₂CH₂ gen 1, 6 H), 2.17-2.21 (t, CH₂CH₂ gen 1-2, 28 H), 2.20 (q, PyCCH₂CCO, 2 H), 2.32 (t, CH₂COOt_b, 6 H), 2.21-2.35 (t, PyCH₂, 2 H), 3.39-3.41 (t, PyCH₂, 2 H), 5.32 (s, CONH gen 1, 1 H), 6.13 (s, CONH gen 2, 3 H), 7.93-8.37 (m, Py, 9 H). ¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 24.92 (CH₂); 29.81, 29.87 (CH₂CH₂ gen 2); 28.06 (CH₃); 31.81, 31.95 (CH₂CH₂ gen 1); 33.01(CH₂); 34.74 (CH₂); 57.48 [C(CH₂CH₂)₃ gen 2]; 57.55 [C(CH₂CH₂)₃ gen 1]; 123.578, 124.139, 124.196, 124.700, 124.780, 124.886, 126.024, 126.377, 127.151, 127.424, 127.614, 128.152, 129.207, 130.434, 130.838, 136.63 (pireno); 171.532 (CONH gen 1); 172.200 (CONH gen 2).

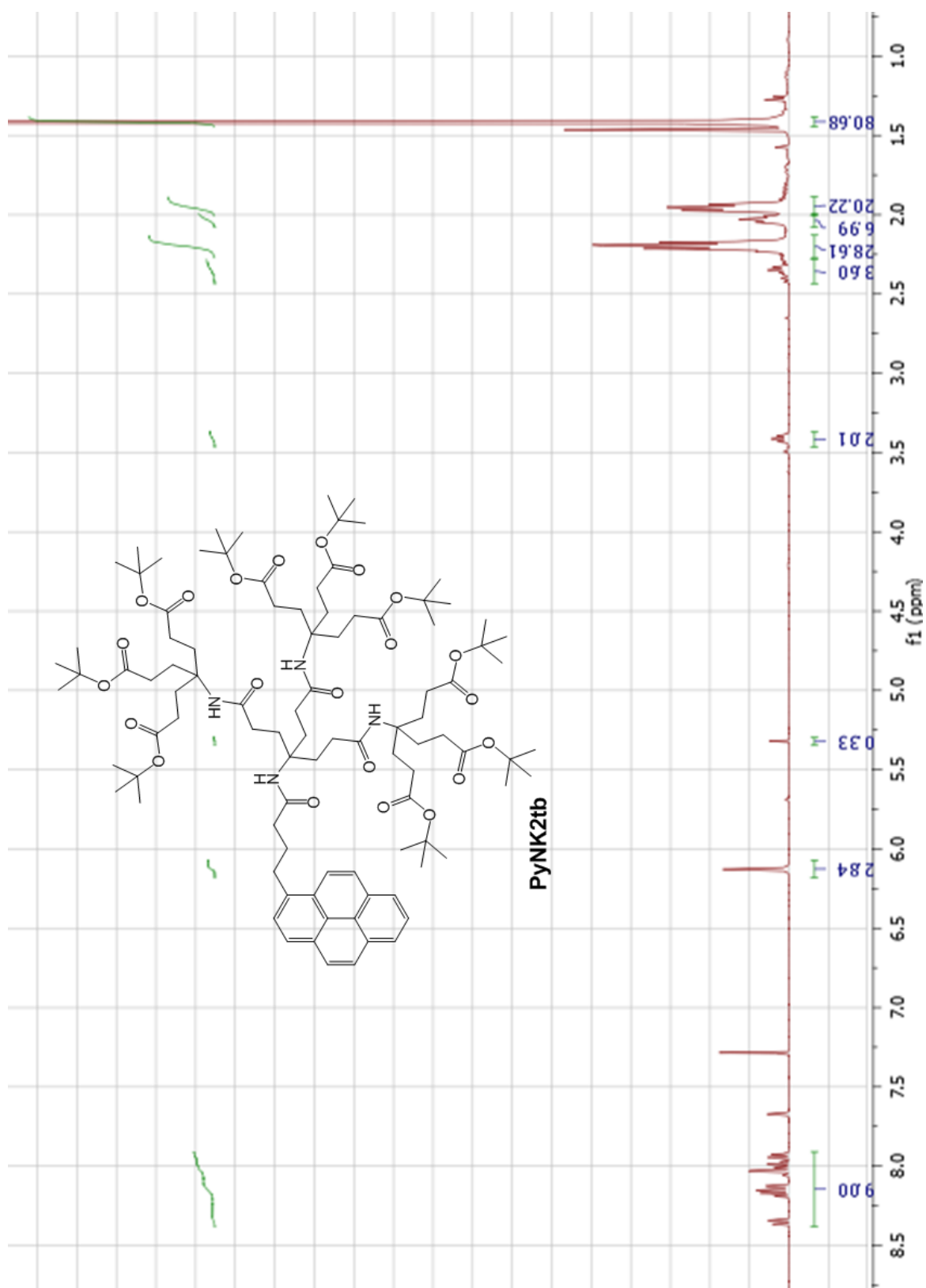


Fig 5.2.12. Espectro ^1H NMR de PyNK2tb.

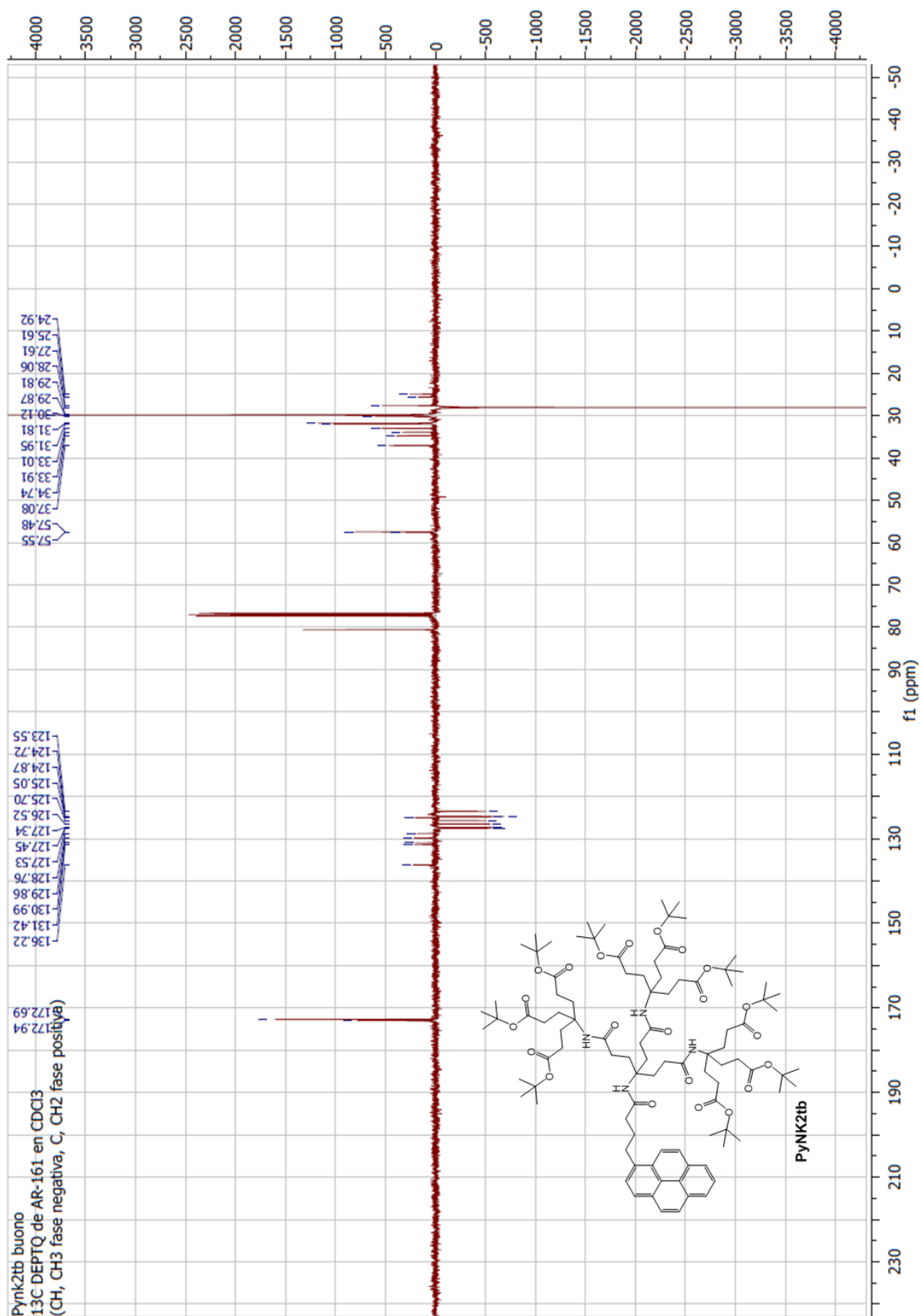


Fig 5.2.13. Espectro ^{13}C NMR de PyNK2tb.

Síntesis del ácido 4,4'-((4-(3-((1,5-dicarboxi-3-(2-carboxietil)pentan-3-il)amino)-3-oxopropil)-4-(4-(piren-1-il)butanamido)heptanedioil)bis(azanedil))bis(4-(2-carboxietil)heptanodioico). (PyNK2OH)

El compuesto PyNK1tb (0.15 g, 0.09 mmol) fue disuelto en 5 mL de CH₂Cl₂ y 10 mL de ácido fórmico. La solución fue puesta bajo atmosfera inerte de nitrógeno y agitada a temperatura ambiente. Después de 48 horas, la solución fue concentrada a presión reducida, obteniéndose un aceite rojo, el cual fue lavado con tolueno para obtener un sólido amarillo. Dicho sólido fue disuelto en acetona hirviendo y después la solución fue enfriada. El producto final resultó ser un sólido cristalino blanco (0.104 g, 99%). ¹H NMR (CD₃OD): δ(ppm) = 1.93-2.05 (CH₂CH₂ gen 2, CH₂CH₂ gen 1), 2.17-2.21 (t, CH₂CONH gen 1, PyCCH₂CCO), 2.21-2.35 (t, PyCCH₂, 2 H), 3.39-3.41 (t, PyCH₂, 2 H), 7.93-8.37 (m, Py, 9 H). ¹³C NMR (CD₃OD): δ(ppm) = 26.43 (CH₂); 27.42, 28.60 (CH₂CH₂ gen 2); 30.03 (CH₂CH₂ gen 1); 32.05 (CH₂); 35.7 (CH₂); 56.240 [C(CH₂CH₂)₃ gen 2]; 122.70, 123.99, 124.13, 124.39, 125.10, 125.78, 126.59, 126.70, 130.49 (pireno); 173.67 (CONH gen 1); 175.30 (CONH gen 2); 185.00 (COOH). MALDI-TOF: 1204 (Calc. 1204).

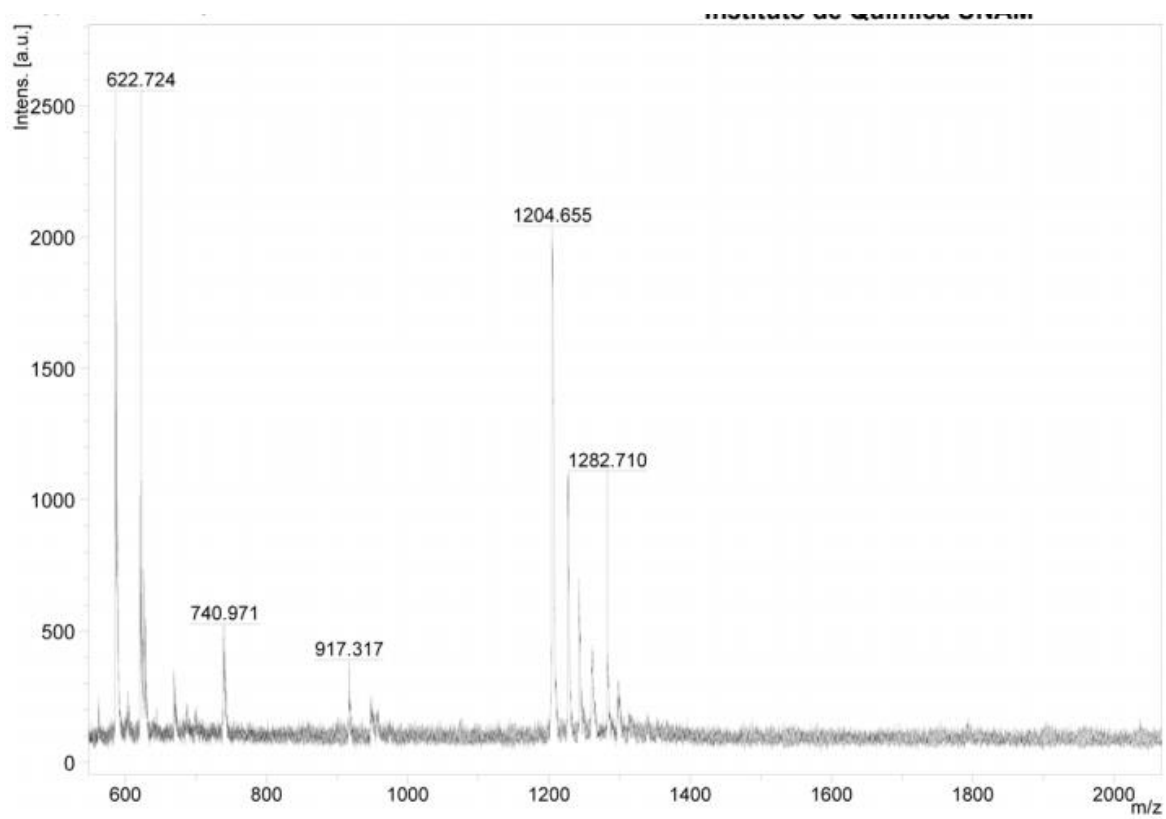


Fig 5.2.14. Espectro MALDI-TOF de PyNK2OH.

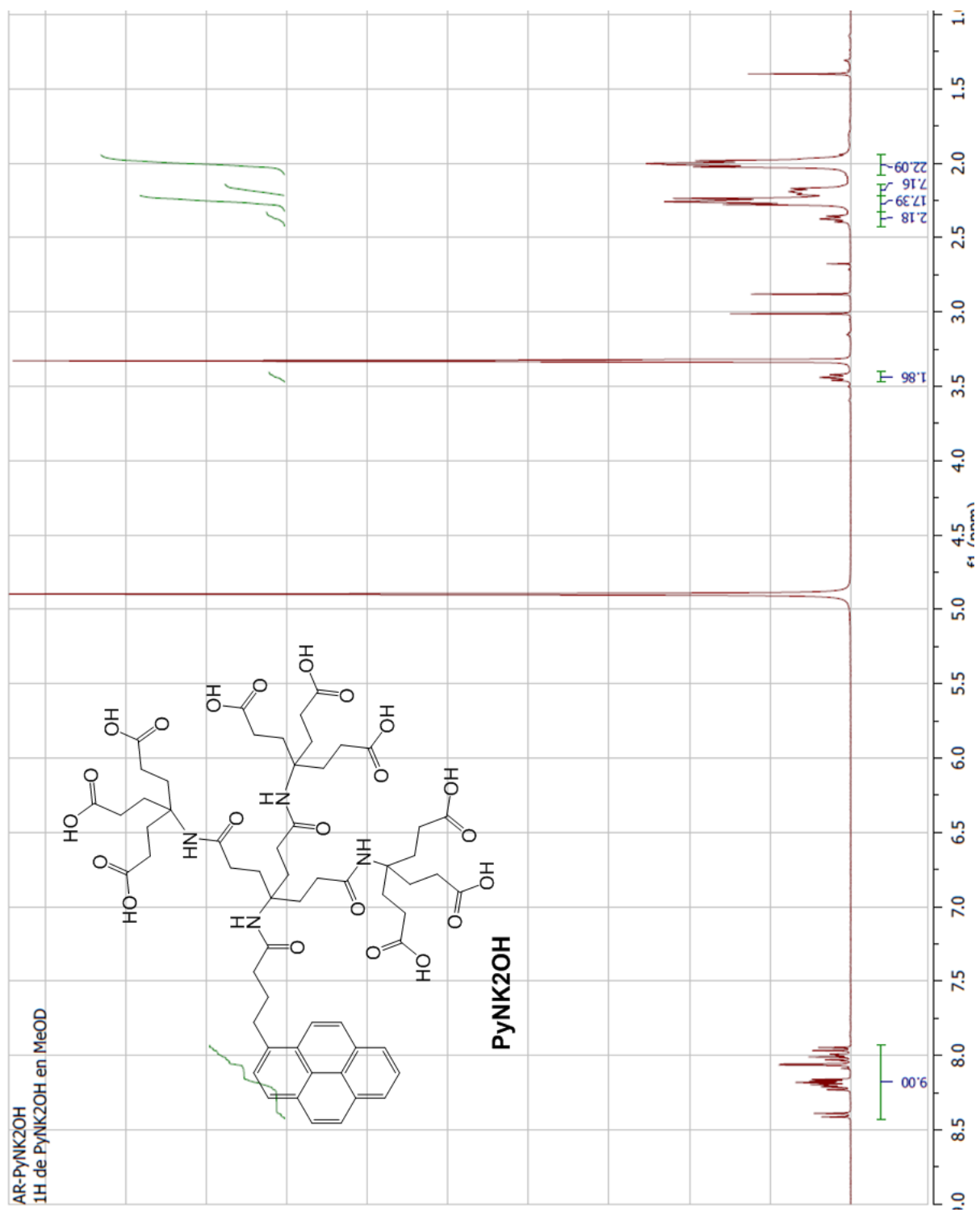


Fig 5.2.15. Espectro ^1H NMR de PyNK2OH.

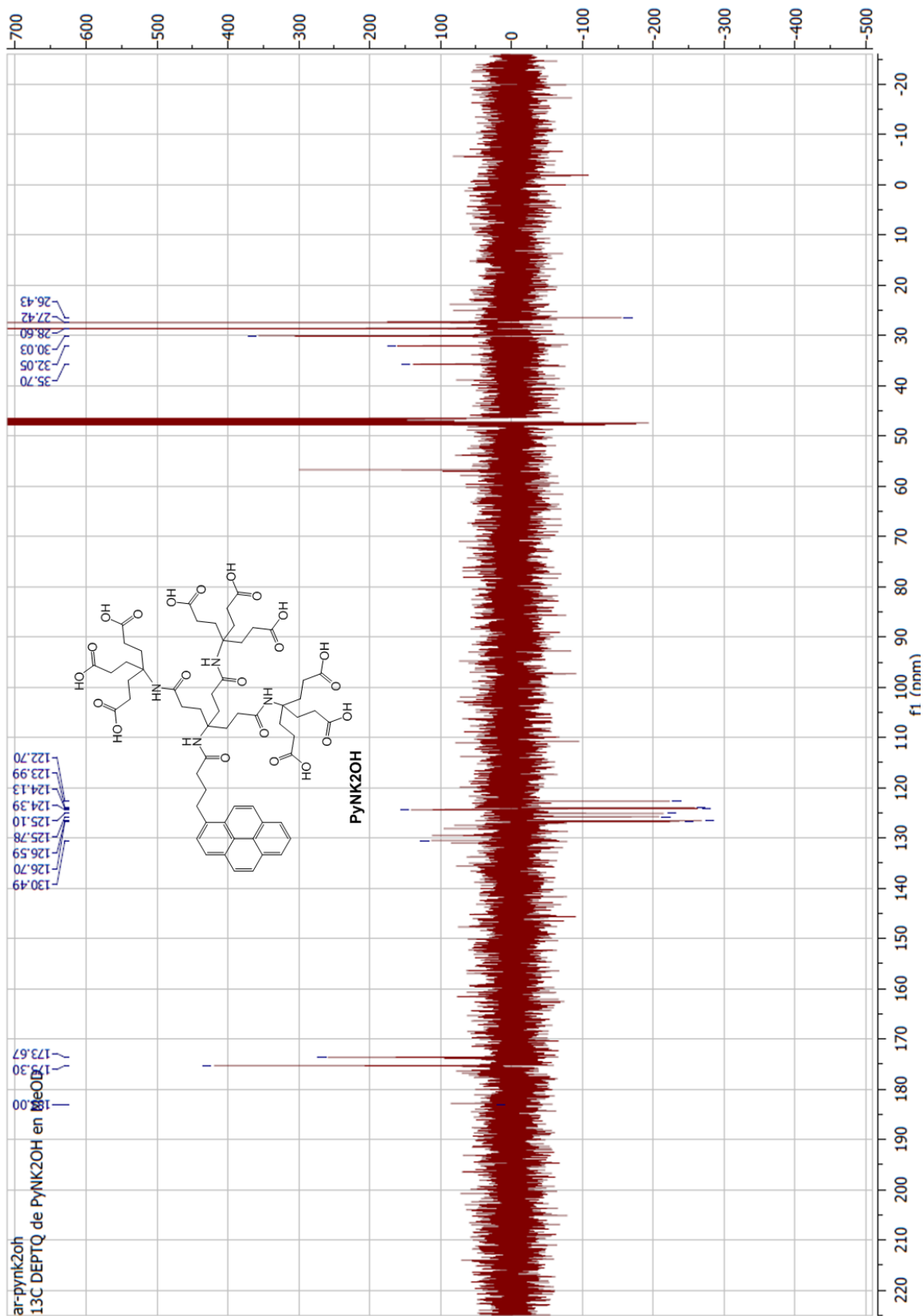


Fig 5.2.16. Espectro ¹³C NMR de PyNK2OH.

5.3 Preparaciones de las soluciones para los estudios de detección o quimiosensoreo de grupos nitro

Para preparar las soluciones analizadas, se hicieron diferentes soluciones con metanol (grado HPLC). Estas soluciones madres fueron preparadas con una concentración de 1.25×10^{-1} M (PyOH = 0.360 g en 10 mL; Pytb = 0.429 g en 10 mL; PyNK1OH = 0.714 g en 10 mL; PyNK1tb = 0.857 g en 10 mL). Después, las soluciones fueron diluidas hasta una concentración de 1.25×10^{-4} M. Al final, a partir de cada solución, 10 μ L fueron llevados a volumen de 5 mL para obtener una concentración final en las soluciones de 2.5×10^{-6} M.

Las soluciones madres fueron preparadas con una metodología similar. Inicialmente, se prepararon soluciones con una concentración de 5×10^{-1} M (**NB** = 0.615 g en 10 mL; **NM** = 0.305 g en 10 mL; **DNB** = 1.012 g en 10 mL). Después, cada solución fue diluida inicialmente a 5×10^{-4} M y luego fueron llevadas a concentraciones de 5×10^{-6} M.

Para preparar las soluciones con concentraciones nM, 10 μ L de las soluciones de los dendrones con pireno y 10 μ L de las soluciones stock de los compuestos nitro (5×10^{-6} M) fueron añadidos en un matraz volumétrico y llevado a 5 mL a fin de obtener una solución con una concentración de 10 nM del nitrocompuesto. Después, soluciones similares fueron preparadas añadiendo desde 10 hasta 1000 μ L de la solución madre de compuesto nitro para aumentar la concentración del sistema nitro.

Para preparar las soluciones con concentraciones μM , 10 μL de las soluciones de dendrones con pireno y 10 μL de las soluciones stock de compuestos nitro ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) fueron añadidos en un matraz volumétrico, el cual fue llevado a 5 mL para obtener una solución con una concentración de 10 nM de nitrocompuesto. Después, soluciones similares fueron preparadas añadiendo desde 10 hasta 800 μL de la solución madre de compuesto nitro para incrementar la concentración de sistema nitro.

5.4 Preparaciones soluciones para la detección o quimiosensoreo de aminas

Para preparar las soluciones analizadas, se hicieron diferentes soluciones a partir de metanol (grado HPLC) y diluciones subsecuentes con agua desionizada. Estas soluciones madres fueron preparadas con una concentración de $5 \times 10^{-1} \text{ M}$ (PyOH = 0.14 g in 10 mL; PyNK1OH = 0.25 g in 10 mL; PyNK2OH = 0.60 g in 10 mL). Después, las soluciones fueron diluidas a una concentración de $5 \times 10^{-6} \text{ M}$. Finalmente, a partir de cada solución, 10 μL fueron llevados a volumen de 5 mL para obtener una concentración final en las soluciones de $1 \times 10^{-8} \text{ M}$.

Las soluciones madres fueron hechas con una metodología similar. Inicialmente, fueron preparadas soluciones con una concentración de $5 \times 10^{-1} \text{ M}$ (**piperidina** = 0.425 g en 10 mL; **dietilamina** = 0.365 g en 10 mL; **trietilamina** = 0.506 g en 10 mL; **N-metilanilina** = 0.535 g en 10 mL; **N,N-dimetilanilina** = 0.606 g en 10 mL). Después, cada solución fue diluida inicialmente a $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ y luego fueron obtenidas concentraciones de $5 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Para preparar las soluciones con concentraciones nM, 10 μL de las soluciones de los dendrones con pireno y 10 μL de las soluciones stock de la amina ($5 \times 10^{-6} \text{ M}$) fueron añadidos en un matraz volumétrico y llevado a 5 mL para obtener una solución con una concentración de 10 nM de amina. Después, soluciones similares fueron preparadas añadiendo desde 10 hasta 1000 μL de la solución madre de compuesto nitro a fin de incrementar la concentración de compuestos con amina.

Para preparar las soluciones con concentraciones μM , 10 μL de las soluciones de los dendrones con pireno y 10 μL de las soluciones stock de la amina ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) fueron añadidos en un matraz volumétrico, el cual fue llevado a 5 mL para obtener una solución con una concentración de 10 nM de amina. Después, soluciones similares fueron preparadas añadiendo desde 10 hasta 800 μL de la solución madre de compuesto nitro para aumentar la concentración de compuestos con amina.

RESULTADOS Y DISCUSSION

6.1 Síntesis de los dendrones

Los dendrones con pireno empleados como quimiosensores fueron sintetizados de acuerdo al siguiente esquema de síntesis, ilustrado en las Figura 6.1.1 y 6.1.2.

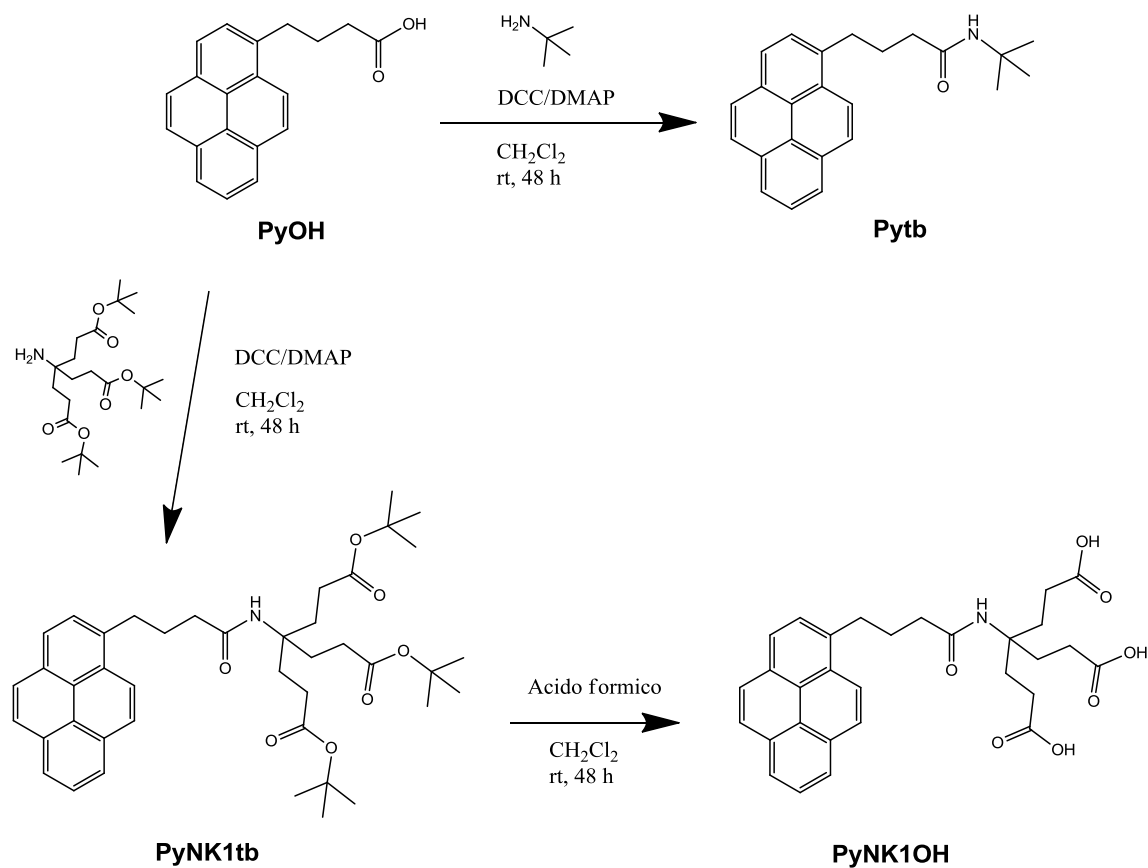


Fig 6.1.1. Síntesis de los dendrones *Pytb*, *PyNK1tb* y *PyNK1OH*.

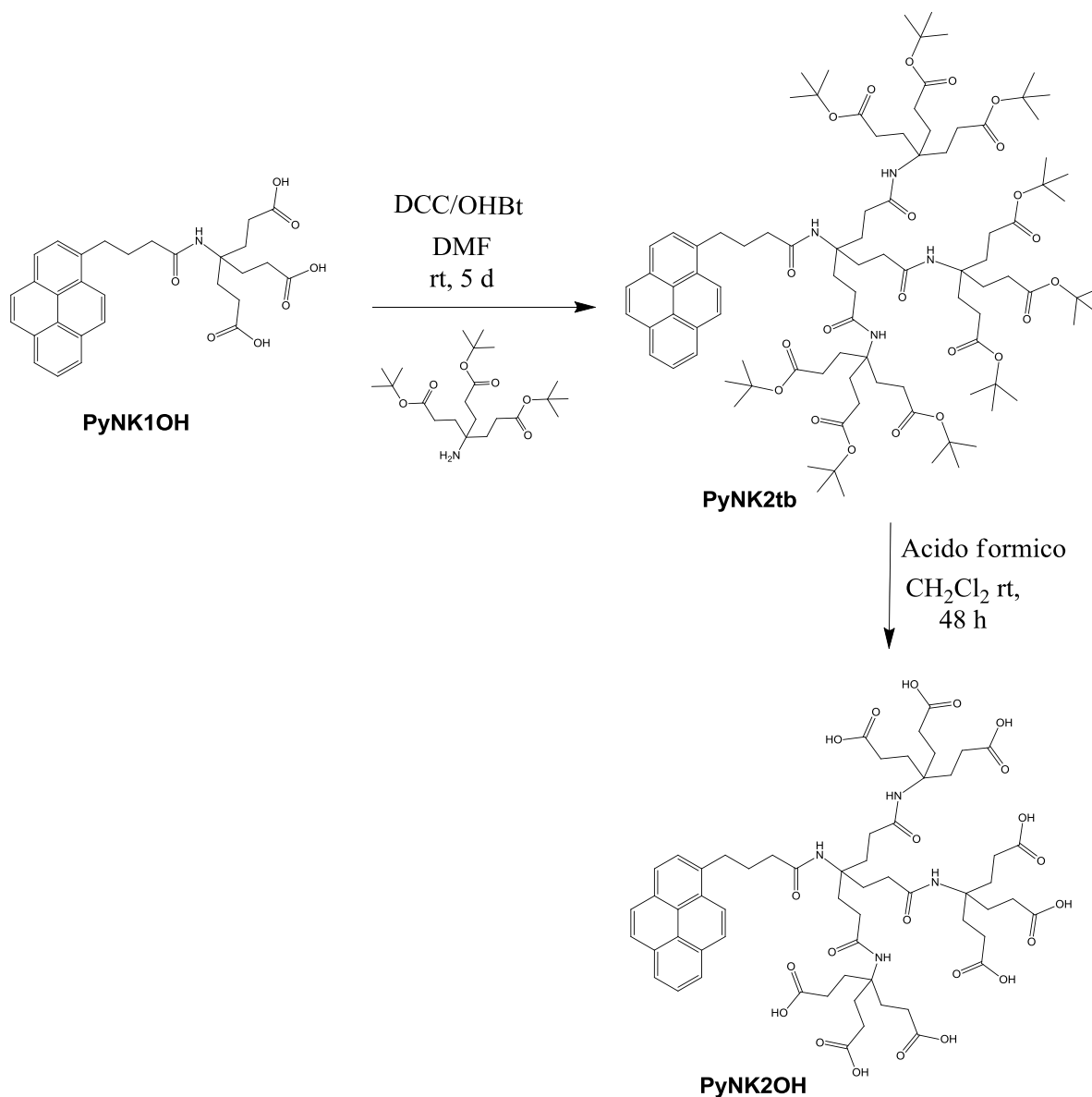


Fig 6.1.2. Síntesis de los dendrones *PyNK2tb* y *PyNK2OH*.

La ruta de síntesis incluye dos diferentes tipos de reacciones: una reacción de Steglich para llevar a cabo los acoplamiento entre los grupos ácidos y las aminas, seguida de una reacción de desprotección para restablecer los grupos ácido carboxílico en la periferia.

En la Figura 6.1.3 se ilustra el esquema de reacción de Steglich para la síntesis de amidas y ésteres.

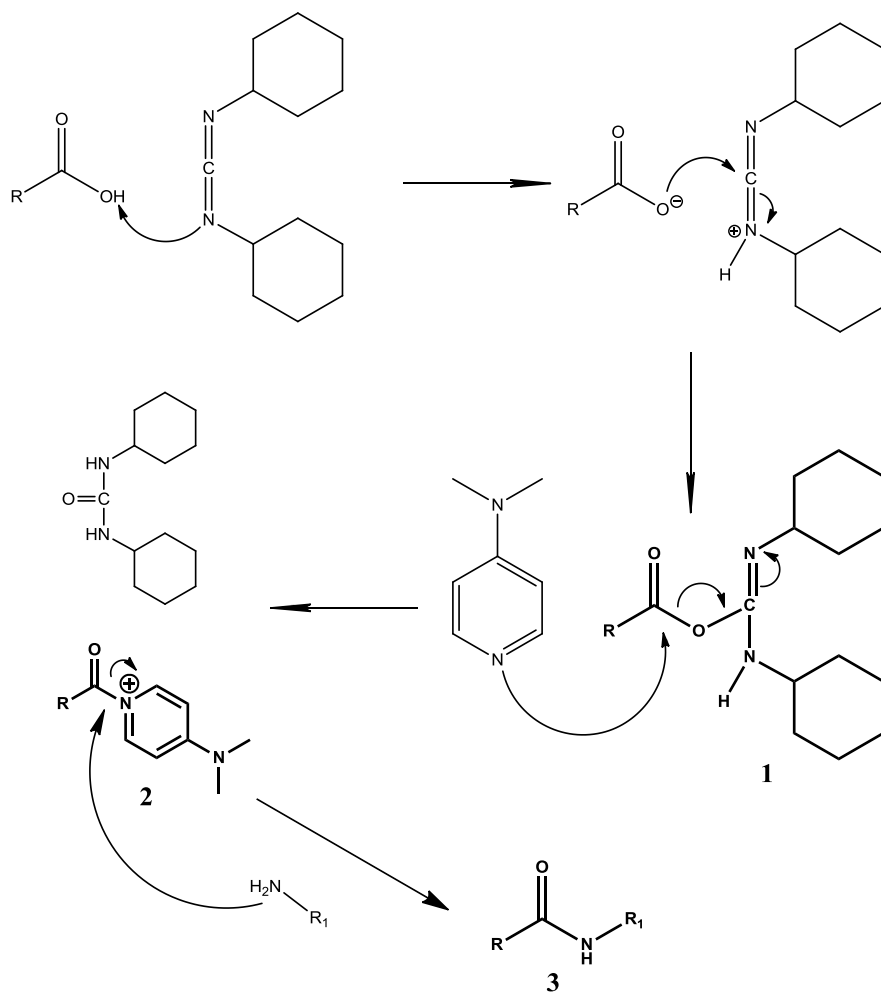


Fig 6.1.3. Esquema general de la reacción de Steglich.

Esta reacción fue utilizada para sintetizar los compuestos Pytb, PyNK1tb y PyNK2tb. Las metodologías de síntesis fueron muy similares para los dendrones de generación cero y uno. Para ambos sistemas, se puso a reaccionar el ácido pirenbutírico disuelto en CH₂Cl₂, en presencia de DCC y DMAP por 48 horas a temperatura ambiente. A estas soluciones se añadieron tert-butilamina para la síntesis de Pytb y aminotriester para el dendrón PyNK1tb. Para estas reacciones

resultan ser muy importantes dos condiciones, ambas relacionadas a la ausencia de agua o humedad en la solución de reacción. De hecho, hay que ocupar CH_2Cl_2 anhidro, el cual se obtiene por destilación del mismo en presencia de CaH_2 ; además de esta precaución, la reacción procede bajo atmósfera inerte de N_2 . Estas precauciones son fundamentales para evitar que trazas de agua puedan reaccionar con la DCC formando la DCU; si esa reacción colateral ocurre, no se podría obtener el intermediario activado **1** de manera óptima (Figura 6.1.3). Otro aspecto importante de esta ruta de síntesis, es la adición de un co-catalizador como la DMAP, debido a que esa última reacciona con la O-ciclohexilurea formando una amida reactiva **2**. La amida reactiva que viene a formarse no puede dar productos colaterales, reaccionando de manera muy rápida con la amina para formar la amida deseada **3**. La DMAP actúa como reactivo que transfiere el grupo acilo. En el caso de los dendrones Pytb y PyNK1tb, la reacción duró 48 horas, las soluciones fueron filtradas para eliminar de la mezcla el DCU que se forma. Ambos sistemas fueron purificados por columna cromatográfica de SiO_2 , usando como mezcla de elución hexano: acetato de etilo en relación 2:1. Mediante esta purificación, se obtuvo el compuesto Pytb puro como sólido blanco, con un rendimiento del 83%. Para el compuesto PyNK1tb fue necesaria una cristalización del compuesto obtenido, usando una mezcla hexano: acetato de etilo 10:1 en refrigeración. Este método permitió obtener el compuesto como cristales con un rendimiento del 81%.

La técnica para obtener el dendrón PyNK2tb sigue de igual forma el mecanismo de la reacción de Steglich, pero se necesitaron algunas modificaciones al método

ilustrado en el párrafo anterior. Dichas modificaciones son debidas al reactivo a partir del cual se construye la generación dos y fueron la variación de disolvente y de los tiempos de reacción. Para la síntesis de la segunda generación, se usó el dendrón PyNK1OH. Este compuesto se caracteriza por tener una baja solubilidad en disolventes poco polares, debido a la presencia de derivados carboxílicos en la periferia y un mayor impedimento estérico. Debido a esto, tuvimos que cambiar el disolvente de reacción, pasando desde CH_2Cl_2 a DMF, y se requirieron mayores tiempos de reacción, los cuales se aumentaron de 48 horas hasta 5 días. Otra modificación del método por la baja reactividad del compuesto ácido PyNK1OH fue el cambio del par DCC/DMAP por el sistema DCC/HOBt. Este sistema, por la presencia del compuesto HOBt, permite la formación de un éter activo que es más reactivo en comparación con el mostrado en la Figura 6.1.3. En este caso se va a formar el intermedio ilustrado en la Figura 6.1.4.

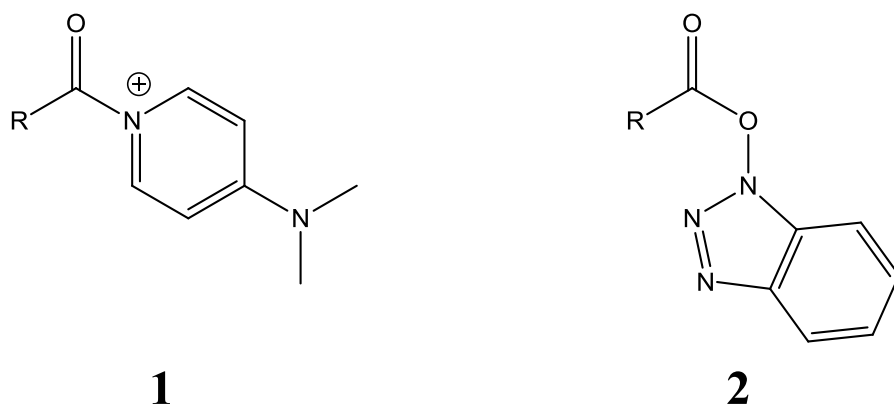


Fig 6.1.4. Intermedio activo para el **1** par DCC/DMAP y el **2** par DCC/HOBt.

El compuesto PyNK2tb fue purificado por cromatografía en columna de SiO_2 , ocupando como mezcla de elución hexano: acetato de etilo en relación 2:1.

Mediante esta purificación, se obtuvo el compuesto PyNK2tb puro como aceite amarillo con un rendimiento del 76%.

Para la caracterización de los compuestos obtenidos con esta técnica, se ocuparon espectroscopia RMN y análisis de DART. En el espectro ^1H -RMN del compuesto PyNK1tb se pueden identificar las diferentes señales dependiendo del protón. Tomando como referencia los 9 protones del pireno, que van en un rango desde 7.7 hasta 8.3 ppm, se encuentra el protón del grupo amida a 5.9 ppm como como un singulete. A campos más altos, se localiza el triplete de los protones en α al grupo pireno a 3.4 ppm. Enseguida, aparecen los protones del precursor butírico y del sistema aminotriester juntos a 2.2 ppm los protones en α y β del grupo butírico y los protones en α al éster periférico. A 2.0 ppm aparecen los protones en posición β al grupo éster. Finalmente, a 1.4 ppm se aprecia el singulete típico de los protones del grupo terbutilo.

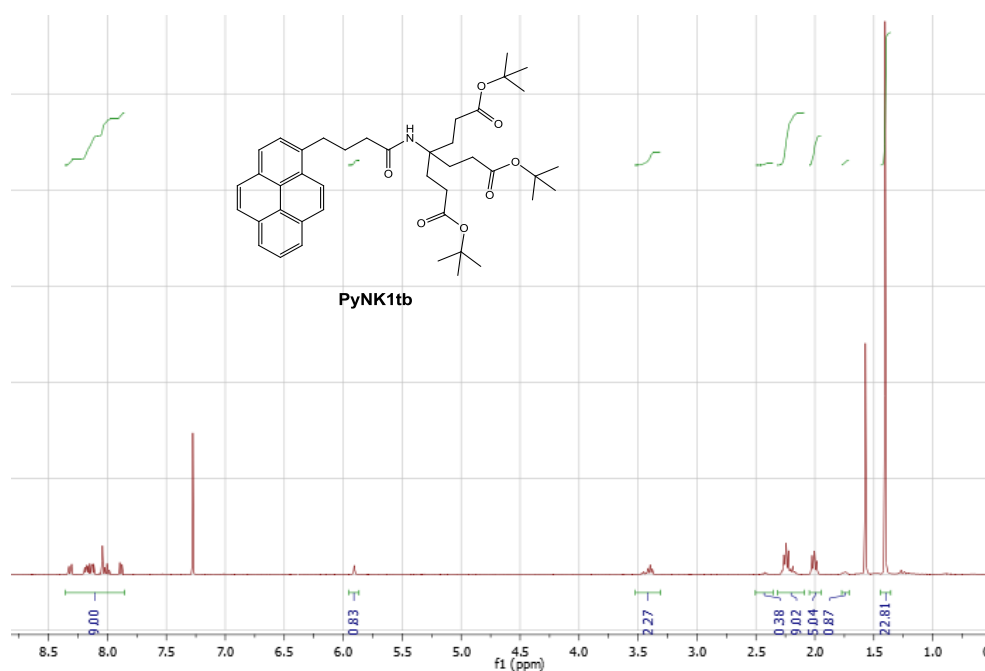
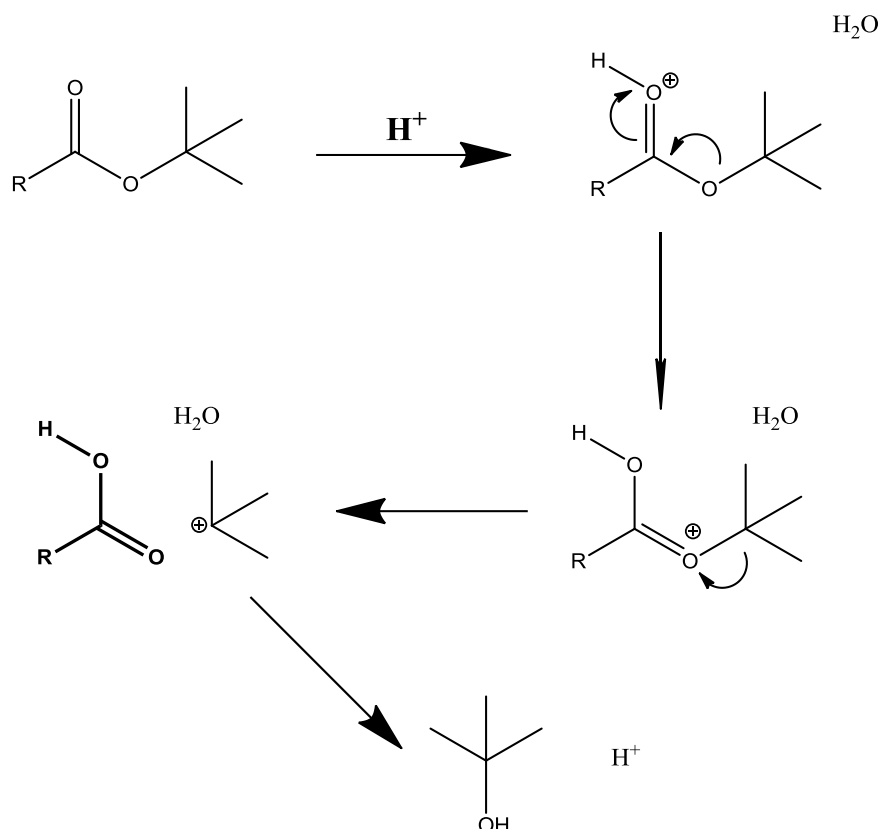


Fig 6.1.5. Espectro RMN ^1H del compuesto PyNK1tb.

En la Figura 6.1.6 se muestra el esquema de reacción para la desprotección para obtener los ácidos carboxílicos en la periferia.

**Fig 6.1.6.** Esquema general de la reacción de desprotección.

Esta técnica fue utilizada para la síntesis de los compuestos PyNK1OH y PyNK2OH. Las desprotecciones se efectuaron disolviendo los respectivos compuestos esteres (PyNK1tb y PyNK2tb) en una solución con relación 2:1 de ácido fórmico y CH_2Cl_2 . Ambas reacciones se efectuaron en atmosfera inerte por 48. Superadas las 48 horas de reacción, las soluciones fueron evaporadas a presión reducida, obteniéndose para ambos sistemas un aceite rojo. Dicho aceite tenía trazas de tolueno y se evaporó varias veces hasta obtener un sólido amarillo.

Este se disolvió en acetona y se calentó hasta hervir, para poder solubilizar los dendrones con 3 y 9 grupos carboxílicos, respectivamente. Después de 30 minutos con este tratamiento, las soluciones se dejaron enfriar, añadiendo gotas de hexano, permitiendo la precipitación de los compuestos puros. Con esta metodología se pudieron obtener los dendrones con grupos pirenos PyNK1OH y PyNK2OH como sólidos blancos, con rendimientos cuantitativos.

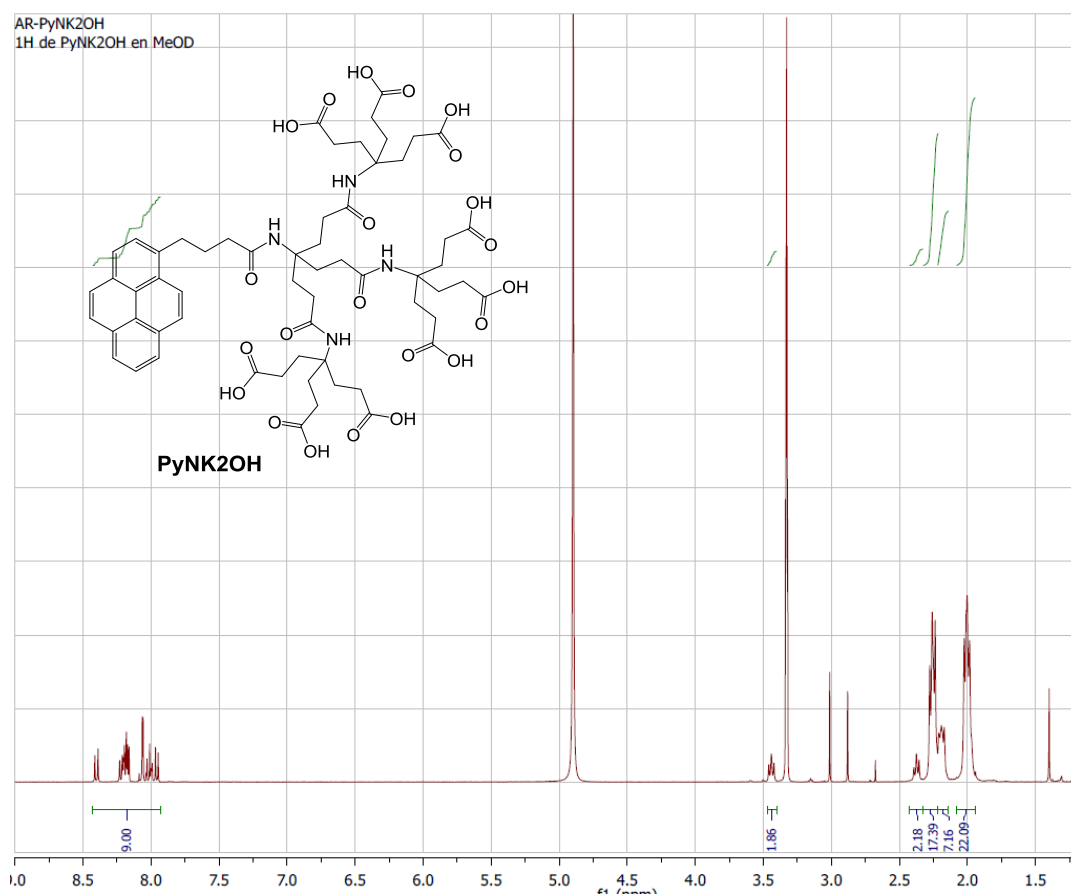


Fig 6.1.7. Espectro RMN ^1H del compuesto PyNK2OH.

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto PyNK2OH se pueden identificar las diferentes señales de los distintos hidrógenos. Los 9 protones del pireno aparecen

en un rango entre 7.9 y 8.4 ppm. Por otro lado, las señales debidas a las ramificaciones del dendron se encuentran a campo más alto. Se observa un triplete debido a los protones α al grupo pireno a 3.4 ppm, mientras que a 2.4 ppm aparece la señal de los protones β . Además, se aprecian los protones del sistema aminotriester de segunda generación α al carboxilo periférico a 2.3 ppm. También, se pueden identificar a 2.2 ppm los protones α al grupo amida del aminotriester de la primera generación. A 1.9 ppm, se observan los protones en posición β a los grupos carboxilo de primera y segunda generación. A 1.45 ppm se encuentra una señal debida a trazas de grasa del hexano ocupado para la precipitación.

6.2 Propiedades ópticas y fotofísicas de los dendrones

Las propiedades ópticas de los dendrones que contienen un grupo pireno en el punto focal, se caracterizaron mediante espectroscopia de absorción y fluorescencia en el rango del UV-visible. Los espectros se corrieron en solución de metanol grado espectroscópico a fin de evitar la presencia de contaminantes que puedan interferir con las propiedades ópticas de los compuestos.

Los primeros análisis de los compuestos empleados como quimiosensores por sus propiedades fotofísicas fueron de absorción de luz en el rango de ultravioleta. Los espectros de absorción (Figura 6.2.1) de todos los dendrones muestran el comportamiento típico de derivados de pireno. De hecho, se pueden identificar de manera bien definida dos diferentes transiciones debido a la presencia de dos bandas: la primera a 275 nm, la cual es típica de la transición $S_0 \rightarrow S_3$; la segunda

banda presenta un máximo de absorción a una longitud de onda más alta, exactamente a 342 nm, debida a la transición $S_0 \rightarrow S_2$. Los valores de longitud de onda de absorción máxima resultaron tener un ligero efecto batocrómico respecto a los típicamente reportados, que son de 280 y 345 nm, debido a la polaridad del disolvente usado en los análisis de espectroscopia de absorción. De hecho, los valores obtenidos coinciden con los datos reportados para sistemas que contienen pireno en solución acuosa⁴¹.

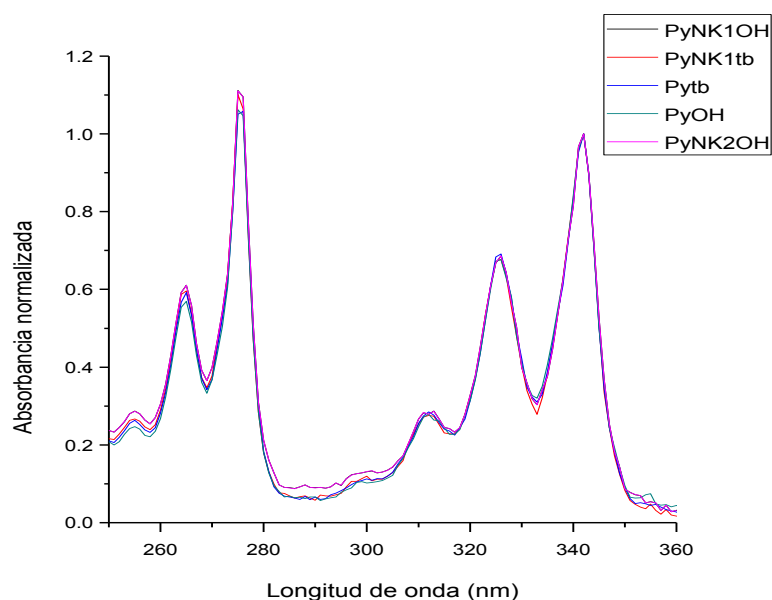


Fig 6.2.1. Espectros de absorción de los dendrones empleados como quimiosensores.

Por medio de estos análisis es posible también calcular el coeficiente de extinción molar en el vacío (ϵ) para estos compuestos. Los datos se reportan en la Tabla 6.2.1. Como se puede ver, los valores son superiores a los $40,000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, el cual coincide como parámetro para determinar la pureza del compuesto⁴²; valores

inferiores a indican la presencia de contaminantes. Otro dato importante es que ni el incremento en las generaciones, ni la presencia de grupos carboxílicos o terbutilos influyen la longitud de onda de la transición $S_0 \rightarrow S_2$.

Tabla 6.2.1. Datos relativos a los parámetros relativos a los espectros de absorción.

	ϵ ($\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ (nm)
PyOH	42 812	342
Pytb	44 547	342
PyNK1OH	48 723	342
PyNK1tb	45 407	342
PyNK2OH	47 394	342

El siguiente análisis para su caracterización, antes de empezar los estudios de quimiosensoreo, fue el de espectroscopia de emisión o fluorescencia. En el detalle, se llevaron a cabo estudios de fluorescencia en estado estacionario, los cuales dan información sobre la intensidad de la emisión de los compuestos, y de fluorescencia de fotón solo “single photon counting”, los cuales dan información sobre los tiempos de vida media en el estado excitado de los compuestos. Para el análisis de estado estacionario, las muestras fueron analizadas en solución con concentración de 2.5×10^{-6} en metanol.

Los estudios de emisión en estado estacionario (Figura 6.2.2) muestran pequeñas diferencias entre la intensidad de la emisión de los dendrones propuestos como

quimiosensores. Se observa un incremento de la intensidad de emisión, pasando desde los grupos terbutilos en comparación con los derivados carboxílicos. Considerando la generación cero, el dendron PyOH tiene una intensidad relativa de emisión de 2.3×10^6 mientras el compuesto Pytb presenta una de 2.6×10^6 . Por otra parte, es muy interesante evaluar la relación I_1/I_3 (la señal I_3 tiene el máximo a 387 nm), la cual es una medida de la polaridad en el entorno del pireno. Cuando esta proporción aumenta, significa un aumento de la polaridad en el ambiente del pireno. Los quimiosensores con grupo ácido carboxílico presentan una relación más alta. Por ejemplo, el análisis del dendron PyNK1OH demuestra una proporción de 2.52, mayor que el dato de su homólogo, el compuesto PyNK1tb, que es igual a 2.31. Estos datos permiten suponer que las periferias se relacionan y protegen el pireno, cambiando sus propiedades ópticas y en consecuencia su capacidad como quimiosensor.

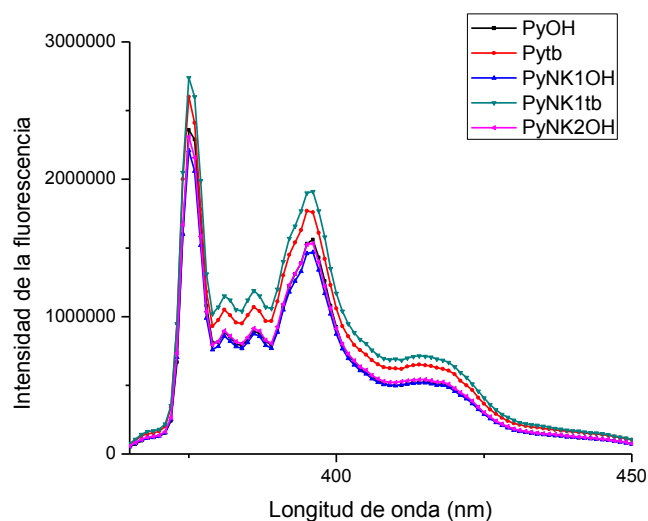


Fig 6.2.2. Espectros de emisión de los dendrones usados como quimiosensores.

Los análisis de “single photon counting”, como dicho anteriormente, dan información valiosa sobre el tiempo de vida media del estado excitado del grupo pireno. De acuerdo a investigaciones realizadas por el grupo de Duhamel ⁴⁴, este tipo de análisis dan también datos importantes sobre el comportamiento del fluoróforo. Espectros de tipo monoexponenciales, indican que el cromóforo no tiene interacciones con otros compuestos, los cuales alteran su emisión. Esta información es fundamental para el estudio de quimiosensores, dado que la presencia de una impureza puede alterar la capacidad de detección del sensor. Todos los quimiosensores estudiados en este trabajo mostraron un tipo de relajación de tipo monoexponencial, dando perfiles de decaimiento de fluorescencia como el que se ilustra en la Figura 6.2.3.

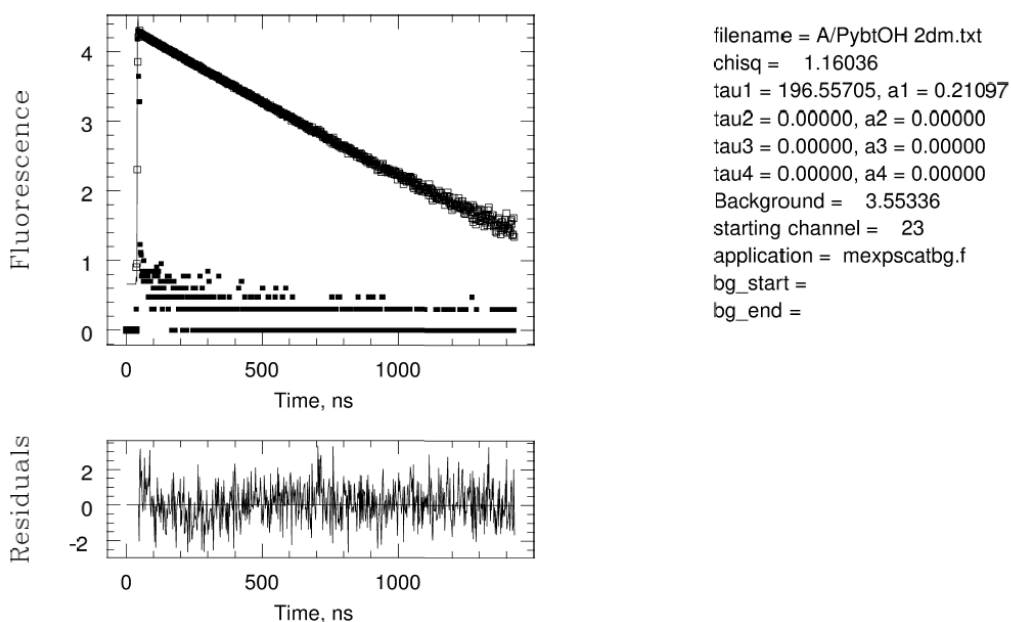


Fig 6.2.3. Ejemplo de estudio de single photon counting para el compuesto PyOH.

Un dato interesante es que, con el aumento de la generación, se obtuvo un aumento importante de los tiempos de vida, como el reportado en la Tabla 6.2.2. De la misma forma, se reporta que para la misma generación, los sistemas con terminaciones terbutil tienen un tiempo de vida medio más largo que los que presentan grupos carboxilo terminales. Este dato confirma que el tipo de terminación y el impedimento estérico debido al aumento de generación tienen una influencia significativa en las propiedades fluorescentes de estos quimiosensores. Esta información, conjuntamente con la obtenida en los estudios de fluorescencia en estado estacionario, permite afirmar que los grupos periféricos se doblan para recubrir al pireno. Este fundamento es de suma importancia en la naturaleza de un quimiosensor, porque también las ramificaciones van a jugar un papel importante en la capacidad de detención de los analitos.

Los datos relativos a los análisis de emisión se muestran en la Tabla 6.2.2.

Tabla 6.2.2. Datos relativos a los parámetros relativos a los análisis de emisión.

	λ_{em}^{max} (nm)	I.F. ¹	I_1/I_3^2	Φ	τ (ns)
PyOH	375	2.36×10^6	2.65	0.621	196.55
Pytb	375	2.59×10^6	2.44	0.694	215.75
PyNK1OH	375	2.21×10^6	2.52	0.649	224.48
PyNK1tb	375	2.73×10^6	2.31	0.716	227.64
PyNK2OH	375	2.37×10^6	2.49	0.678	231.36

6.3 Estudio de detección de grupos nitro por los quimiosensores.

Para investigar la capacidad de detección de grupos nitro de los quimiosensores propuestos, se decidió utilizar tres diferentes compuestos modelo, típicamente ocupados en laboratorios de síntesis orgánica: nitrobenceno, 1-cloro-2,4-dinitrobenceno y nitrometano. Estos compuestos fueron escogidos porque son altamente tóxicos, debido a sus efectos cancerígenos y a que causan irritación si están en contacto con la piel o la vías respiratorias^{45,46}. Además, en particular el nitrobenceno y el nitrometano son compuestos usados como explosivos⁴⁷.

La respuesta de los diferentes quimiosensores fue estudiada con diferentes concentraciones de analito. La generación cero (PyOH y Pytb) fue analizada en presencia de concentraciones muy bajas de sistemas nitrados, específicamente desde 10 nM hasta 1 μ M. La primera generación (PyNK1OH and PyNK1tb) fue probada con concentraciones mayores de analito, desde 1 μ M hasta 80 μ M, ya que para concentraciones inferiores no se encontraron respuestas. Los datos serán analizados separadamente para cada compuesto.

Todas las análisis fueron elaboradas en función del parámetro I_q/I_0 y aproximadas con una curva de tipo exponencial, de manera a otros trabajos de detección de analitos por quimiosensores ópticos⁴⁸.

Todos los análisis fueron hechos por triplicado, obteniéndose una reproducibilidad adecuada: el margen de error en los análisis es igual a $\pm 2\%$. El estudio de estos sistemas fue hecho en metanol, manteniendo constante la concentración del quimiosensor (2.5×10^{-6} M).

6.3.1 Estudio de detección de grupos nitro con PyOH

El estudio empezó con el compuesto comercial PyOH como quimiosensor. El primer analito analizado fue el nitrobenzono y se prepararon soluciones como se reportó en la parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.1.

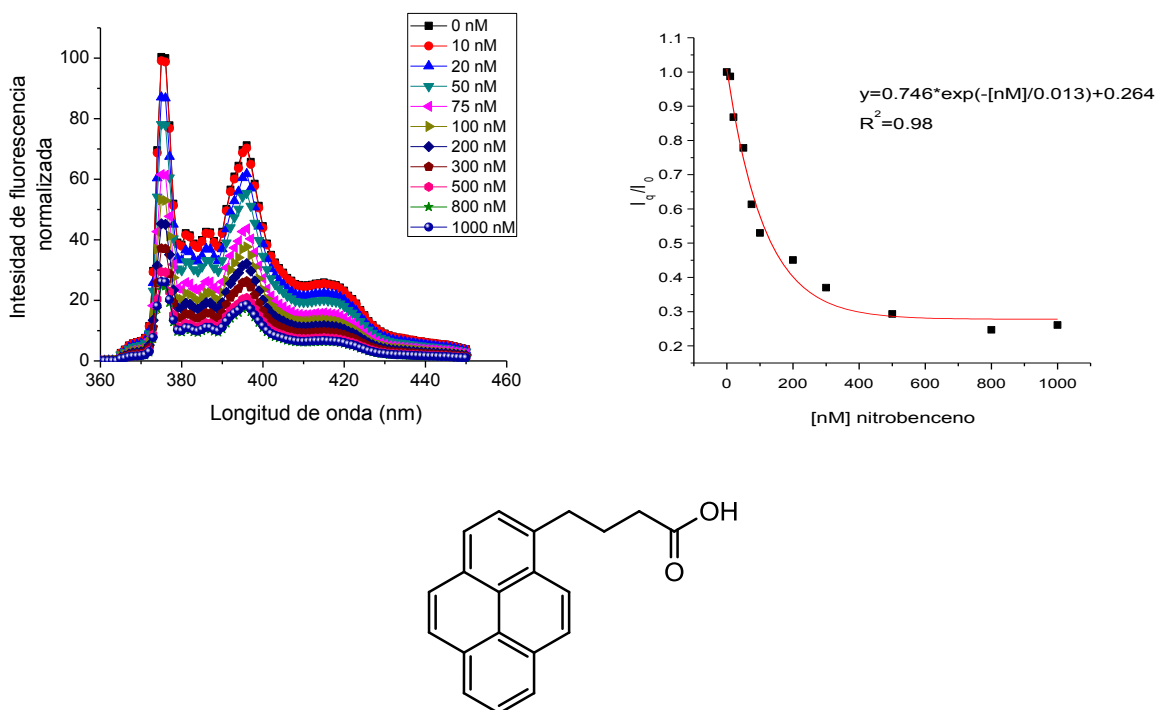


Fig 6.3.1. Estudio de detección de **NB** con el compuesto PyOH, con estructura del quimiosensor.

La presencia de **NB** causa una rápida disminución en la primera parte del análisis, reduciendo su emisión en 50% cuando hay la presencia de 100 nM del nitro compuesto. Al continuar agregando nitrobenzono, la fluorescencia sigue disminuyendo hasta llegar a 300 nM de analito: en ese momento se alcanzó un

equilibrio de emisión, con un decremento no significativo de la misma. La emisión fue reducida hasta el 30% en presencia del quencher.

El segundo analito investigado fue el 1-cloro-2,4-dinitrobenzono. Los resultados de este análisis son reportados en la Figura 6.3.2.

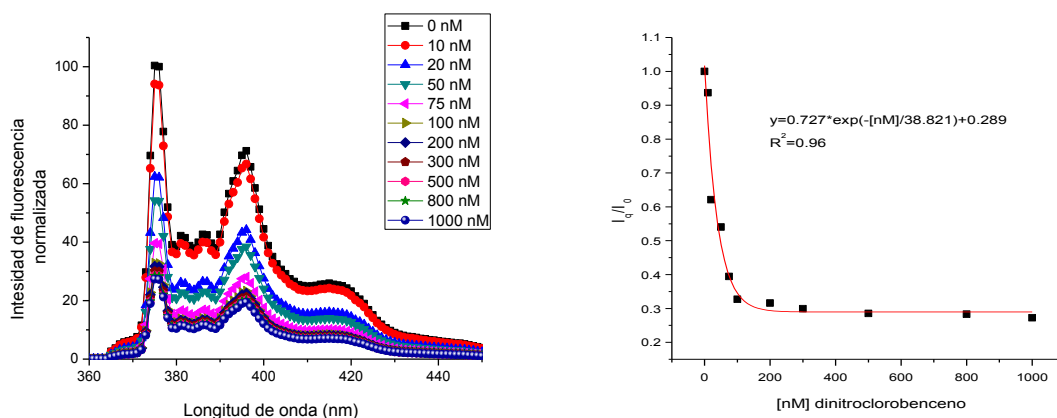


Fig 6.3.2. Estudio de detección de **DNB** para el compuesto PyOH.

El **DNB** mostró una capacidad de quenching mayor en comparación con el compuesto **NB**: la emisión es apagada en un 60% con solo 75 nM de nitro compuesto. El equilibrio se alcanza a los 100 nM de **DNB**, con un quenching final igual al 70 %. Ese comportamiento es debido al incremento de grupos nitro en el analito. Este compuesto, en particular, tiene dos grupos nitro, los cuales provocan una reducción más significativa de la emisión por parte del pireno.

El tercer analito investigado fue el nitrometano. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.3.

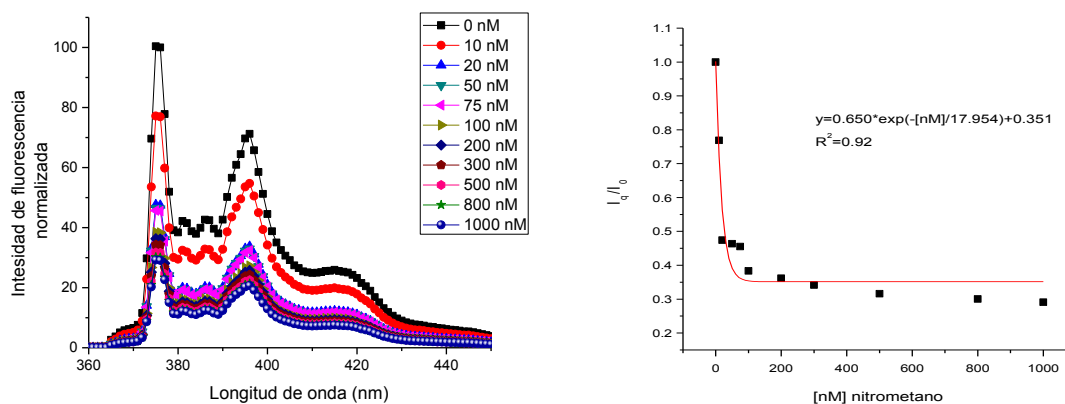


Fig 6.3.3. Estudio de detección de **NM** con el compuesto PyOH.

El **NM**, debido a su menor impedimento estérico, es el candidato que debería mostrar una mayor eficiencia en el apagamiento de la fluorescencia. Esta hipótesis se confirmó en estos análisis: la reducción de la emisión fue mucho más rápida que con los otros analitos aromáticos, ya que se alcanzó el 50% de quenching a solo 20 nM del compuesto nitrado. El equilibrio se alcanzó a concentraciones ligeramente superiores, obteniéndose un 60% de apagamiento con 100 nM de **NM**.

6.3.2 Estudio de detección de grupos nitro con Pytb

El estudio continuó empleando el compuesto obtenido Pytb como quimiosensor. El primer analito analizado fue el nitrobeneno. Se prepararon las soluciones como se indica en la parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.4.

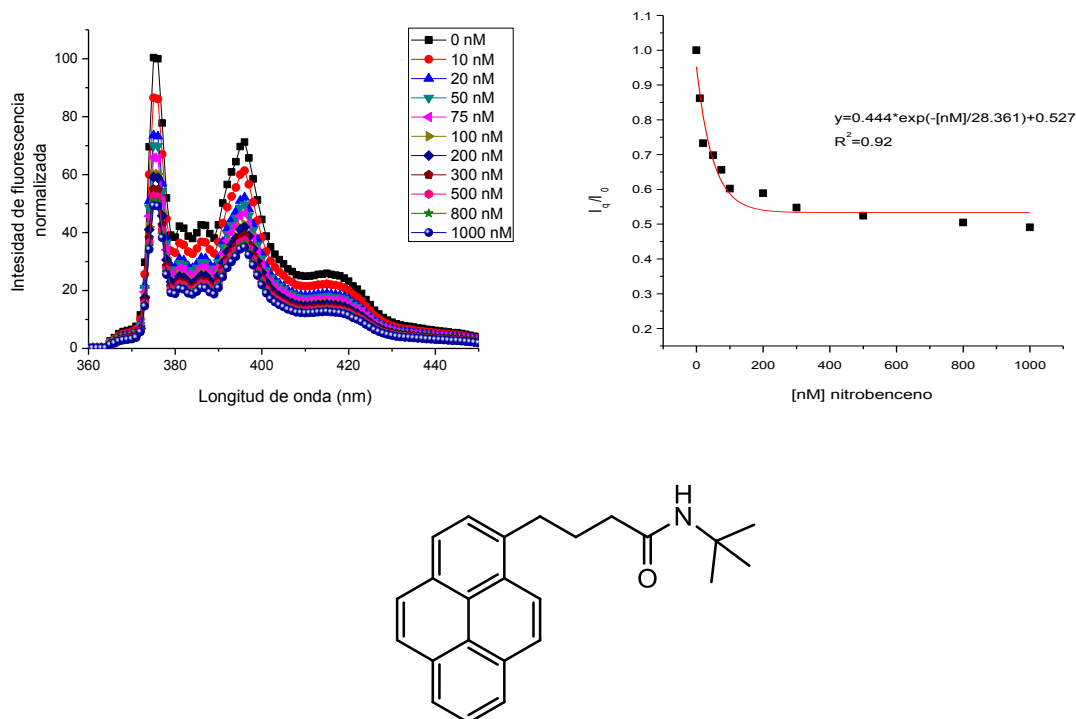


Fig 6.3.4. Estudio de detección de **NB** con el compuesto Pytb con estructura del quimiosensor.

El **NB** mostró una buena respuesta de apagamiento para este quimiosensor, reduciendo la emisión hasta el 50% con una concentración de 200 nM. Para los sistemas con grupos tertbutilos este valor de apagamiento fue el máximo obtenido. La presencia de este grupo en la periferia del quimiosensor causa que la reducción de emisión llegue hasta el 50%, en lugar del 30%, como se observó con los análogos derivados de pireno con grupo ácido como grupo periférico. Este efecto puede ser atribuido al mayor impedimento estérico de la estructura dendrítica por la presencia del grupo tertbutilo, el cual hace más difícil el acercamiento del analito al pireno, el cual representa la parte activa de estos quimiosensores.

El segundo analito investigado fue el 1-cloro-2,4-dinitrobenceno. Los resultados de este análisis se ilustran en la Figura 6.3.5.

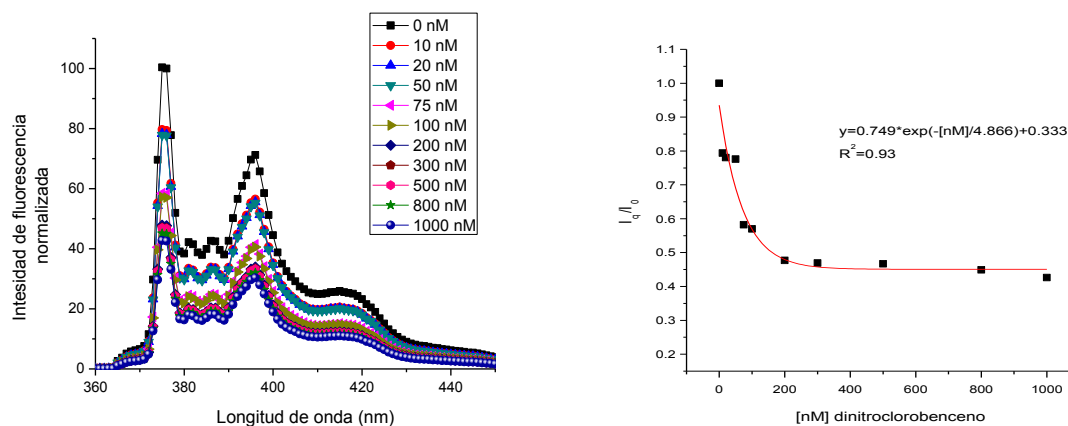


Fig 6.3.5. Estudio de detección de **DNB** con el compuesto Pytb.

En este caso, la presencia de dos grupos nitro para el analito **DNB** no parece causar importantes diferencias en comparación con el **NB**. Como se discutió en el párrafo anterior, el apagamiento máximo resulta ser del 50% con una concentración de 200 nM de **DNB**. Al mismo tiempo, se pueden notar varias irregularidades en la gráfica I_q/I_0 , en particular a bajas concentraciones de compuestos. Esta consideración nos permite afirmar que este quimiosensor no resultó ser un buen sensor para este analito específico, aunque el coeficiente de correlación es similar a los obtenidos para los demás sistemas.

El tercer analito investigado fue el nitrometano. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.6.

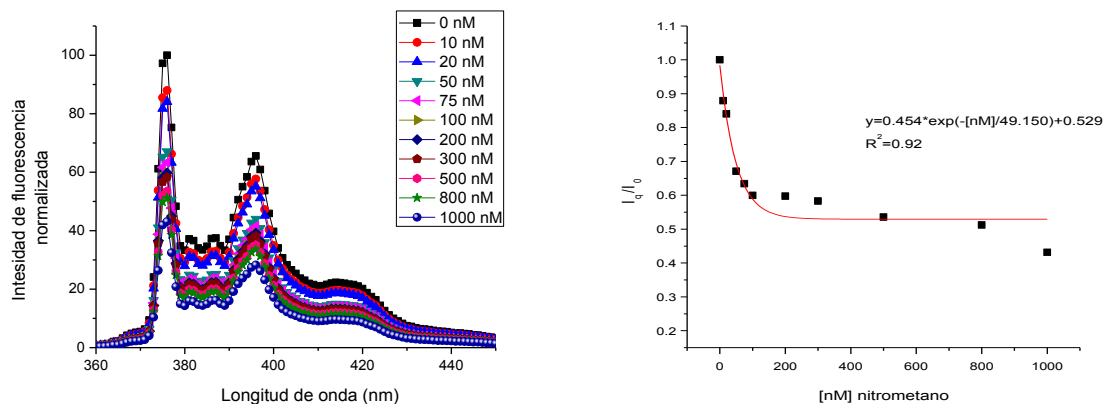


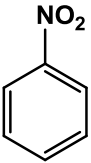
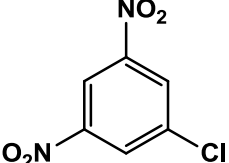
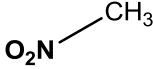
Fig 6.3.6. Estudio de detección de **NM** con el compuesto **Pytb**.

Al final, el analito **NM** mostró un comportamiento interesante, ya que el apagamiento alcanza un primer equilibrio a una concentración de 100 nM, con una disminución del 40 % de la emisión. Con un ulterior incremento de **NM**, la fluorescencia continua disminuyendo hasta una concentración de 1 μ M, la cual fue determinada como valor máximo para la generación cero. Como se mencionó previamente para el quimiosensor **PyOH**, la mayor capacidad de apagamiento para el **NM** es debida a su pequeño tamaño. El comportamiento particular mencionado anteriormente, puede ser explicado imaginando un cambio conformacional gradual del arreglo espacial del quimiosensor en presencia de una alta concentración de **NM**.

6.3.3 Comparación entre *PyOH* y *Pytb*

Todos los datos discutidos anteriormente se resumen en la Tabla 6.3.1.

Tabla 6.3.1. Datos relativos a la detección para los sistemas PyOH y Pytb.

	NB		DNB		NM	
						
	%		%		%	
	Quenching	Equilibrio	Quenching	Equilibrio	Quenching	Equilibrio
	Max		Max		Max	
PyOH	24	300 nM	27	100 nM	29	100 nM
Pytb	49	200 nM	42	200 nM	43	100 nM

La diferencia estructural entre los quimiosensores de generación cero (PyOH y Pytb) está representada por la presencia de un grupo tertbutilo en la periferia, el cual se comporta como protector para el cromóforo pireno, haciendo más difícil que el analito se acerque al fluoróforo. Este efecto causa un incremento en los límites de detección de los compuestos nitrados. Por otra parte, disminuye el apagamiento total de la fluorescencia, debido a la presencia del grupo tertbutilo. De hecho, el quimiosensor PyOH es apagado hasta el 30% de la emisión inicial por todos los analitos. En contraste, el dendron Pytb se ve afectado en menor grado, con un apagamiento total del 50% (Figura 6.3.7). Un aspecto muy importante está representado por la alta sensibilidad en la detección: los

quimiosensores de generación cero resultan ser sensibles a concentraciones del orden de 10-15 nM por todos los analitos.

Además, cabe resaltar que en la literatura hay únicamente seis reportes⁴⁸⁻⁵³ de detección a nivel nanomolar de quimiosensores con grupos pireno, de los cuales uno es el nuestro y se presenta en este trabajo de tesis⁵⁴.

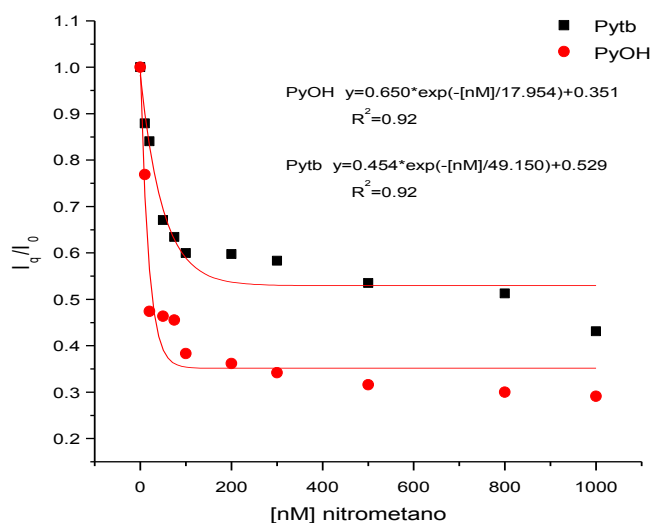


Fig 6.3.7. Comparación de relación I_q/I_0 para los quimiosensores PyOH y Pytb.

6.3.4 Estudio de detección de grupos nitro con PyNK1OH

Los sistemas de primera generación fueron estudiados de manera similar a los descritos anteriormente. Los sistemas dendriméricos más complejos no resultaron ser responsivos a concentraciones nanomolares del analito, y por esto fue necesario estudiar un rango de concentraciones más altas, más

especificadamente a nivel micromolar (desde 1 μM a 80 μM). Al igual que los compuestos anteriores, su eficiencia como quimiosensores fue probada usando como analitos modelos: nitrobenzono, 1-cloro-2,4-dinitrobenzono y nitrometano.

El primer analito investigado fue el nitrobenzono y los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.8.

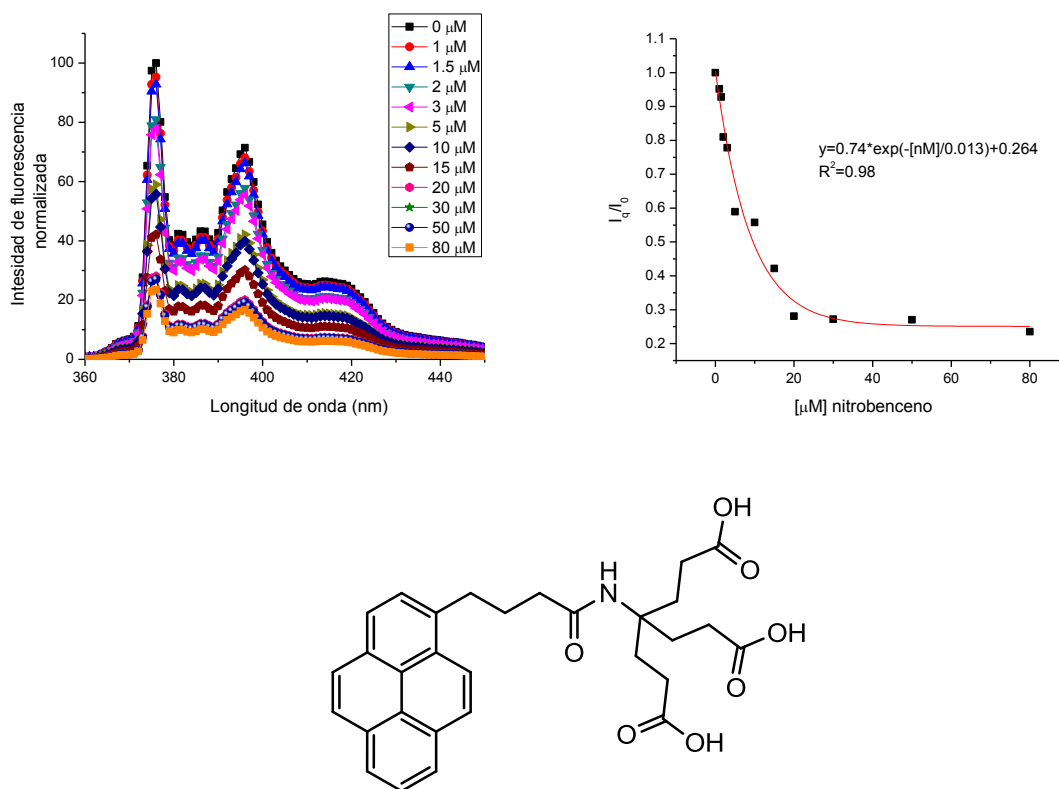


Fig 6.3.8. Estudio de detección de **NB** con el compuesto PyNK1OH, con estructura del quimiosensor.

El quimiosensor PyNK1OH mostró una rápida respuesta a la presencia de **NB**, con una reducción de la emisión del 5 % a una concentración de 1 μM . El equilibrio se alcanzó a una concentración de analito igual a 15 μM , con un decremento de la

fluorescencia del 70% en comparación con el sistema sin quencher. Aun incrementando ulteriormente la concentración de **NB** hasta los 80 μM , no se observaron disminuciones significativas de la emisión de este sistema. Este dato señala que el valor obtenido por este par representa el máximo apagamiento posible por parte del quimiosensor de primera generación PyNK1OH.

El segundo analito investigado fue el 1-cloro-2,4-dinitrobenceno. Los resultados de este análisis se ilustran en la Figura 6.3.9.

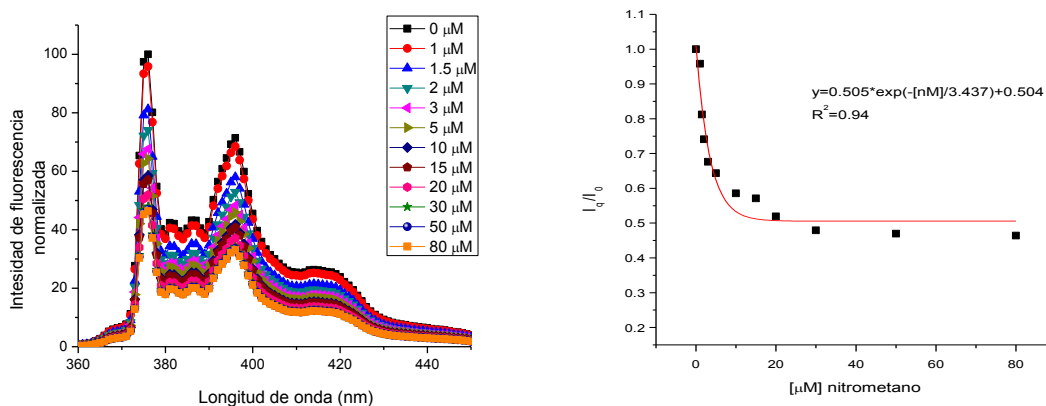


Fig 6.3.9. Estudio de detección de **DNB** con el compuesto PyNK1OH.

El analito **DNB** mostró un comportamiento similar al de **NB** como efecto en la fluorescencia de este quimiosensor. Se pudo registrar una rápida disminución de la emisión, llegando a un equilibrio a una concentración de 15 μM . Este valor resultó ser sorprendentemente superior al registrado para su análogo mononitrado, obteniendo como máximo apagamiento un valor del 55 % en comparación con el sistema en ausencia de quencher. Este fenómeno puede ser debido a las repulsiones electrostáticas entre los grupos nitro parcialmente

cargados del analito y los ácidos carboxílicos en la ramificación del quimiosensor, las cuales se encuentran cerca del grupo pireno, haciendo de esta manera más difícil el acercamiento del quencher al cromóforo fluorescente.

El tercer analito investigado fue el nitrometano. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.3.10.

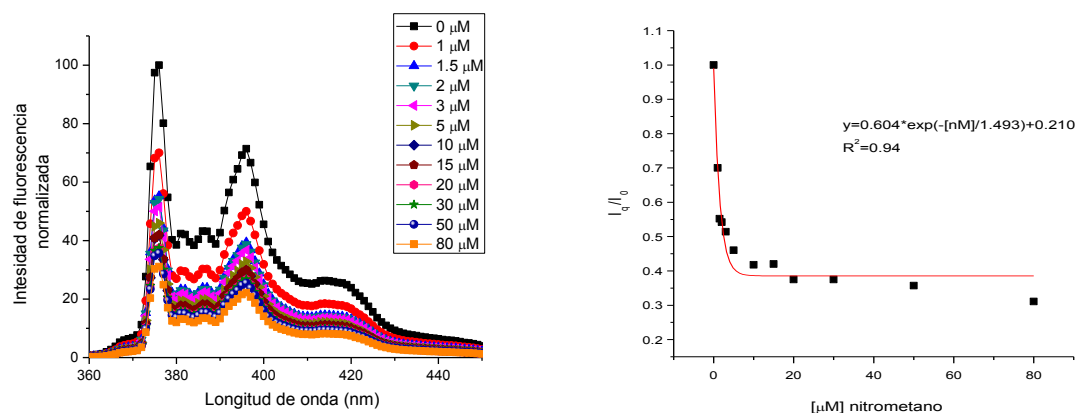


Fig 6.3.10. Estudio de detección de **NM** con el compuesto PyNK1OH.

Debido a las dimensiones reducidas de este analito, el **NM** causa una disminución de la fluorescencia de manera muy rápida, ya que la emisión se reduce hasta el 50% de la inicial a una concentración de solo 3 μM . El equilibrio también se alcanza a concentraciones inferiores a las medidas anteriormente, exactamente a 15 μM , con la fluorescencia que se encuentra reducida hasta el 31 % de la medida en ausencia de analito. Como se ha mencionado anteriormente, las dimensiones reducidas del nitrometano permiten superar el impedimento estérico, permitiendo un rápido apagamiento de la emisión del pireno.

6.3.5 Estudio de detección de grupos nitro con PyNK1tb

El estudio continuó con el compuesto obtenido PyNK1tb como quimiosensor. El primer analito analizado fue el nitrobenzeno. Se prepararon las soluciones como se describe en la parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.3.11.

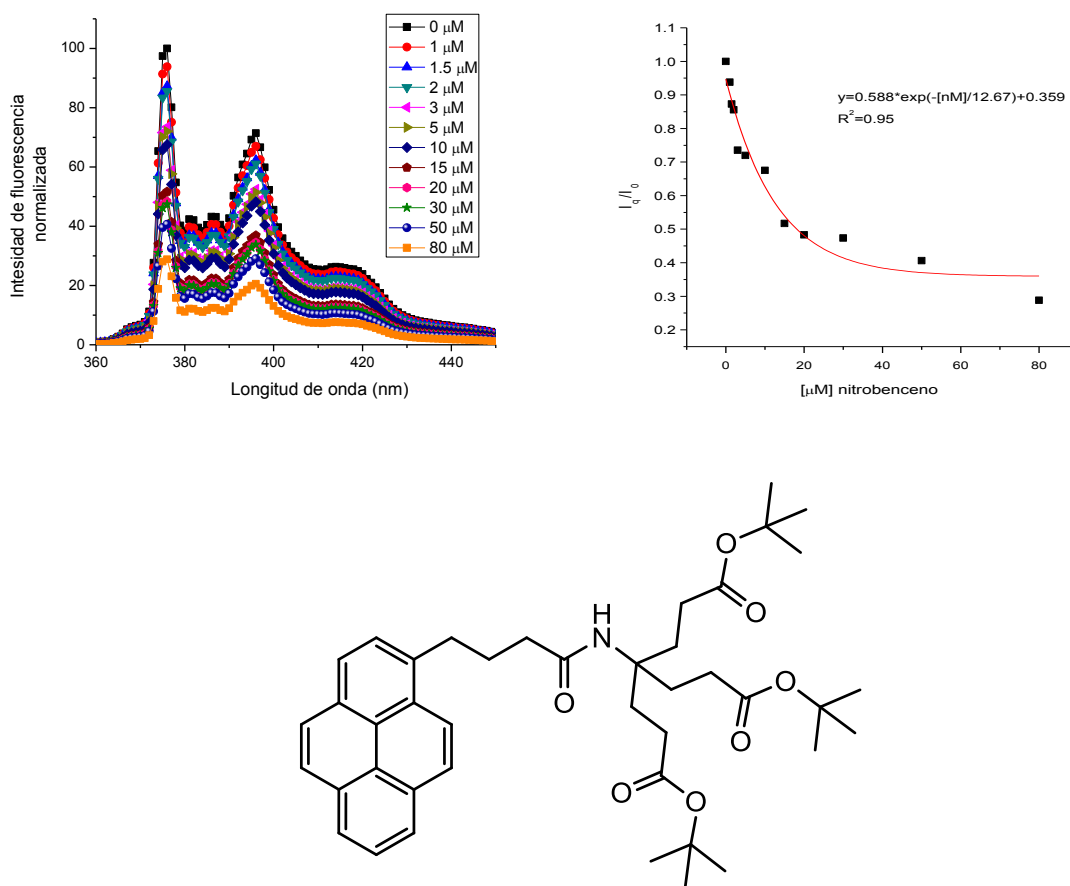


Fig 6.3.11. Estudio de detección de **NB** para el compuesto PyNK1tb, con estructura del quimiosensor.

Este quimiosensor, el cual difiere del compuesto PyNK1OH por la presencia de grupos tertbutilos en la periferia, fue preparado para verificar la importancia de los

grupos funcionales presentes en el sistema. El dendron PyNK1tb mostró un amplio límite de detección para el analito **NB**. Se pudo registrar una primera reducción de la emisión a solo 1 μM , igual al 7% de la fluorescencia inicial. Después de esta reducción inicial, no se alcanzó a registrar la obtención de un equilibrio. De hecho, la fluorescencia continúa disminuyendo de manera proporcional para todas las concentraciones investigadas, hasta llegar a los 80 μM , el cual fue el límite seleccionado para esta generación de quimiosensores. Este decremento gradual de la emisión permite una determinación efectiva de este analito en todo el rango de concentraciones analizadas.

El segundo analito investigado fue el 1-cloro-2,4-dinitrobenzoceno. Los resultados por este análisis se reportan en la Figura 6.3.12.

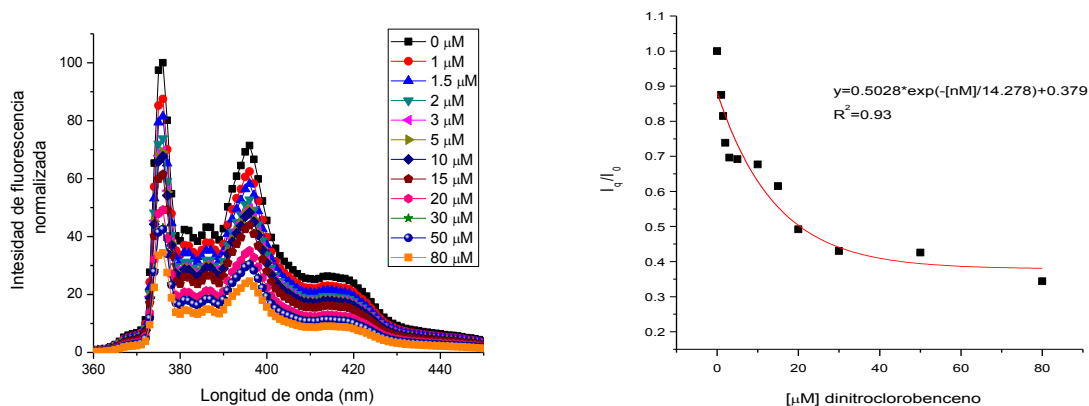


Fig 6.3.12. Estudio de detección de **DNB** para el compuesto PyNK1tb.

El analito **DNB** causó un apagamiento muy rápido a concentraciones bajas, con un apagamiento igual al 11% a una concentración de 1 μM . Después de este rápido apagamiento, este proceso se regularizó, obteniéndose un gradual decremento

hasta el equilibrio, el cual fue alcanzado a una concentración del analito igual a 20 μM . De manera anómala, en este caso no se pudieron medir significativas diferencias en la detección de **DNB** en comparación con el analito **NB** debidas al mayor poder de apagamiento del sistema con dos grupos nitro.

El tercer analito investigado fue el nitrometano. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.3.13.

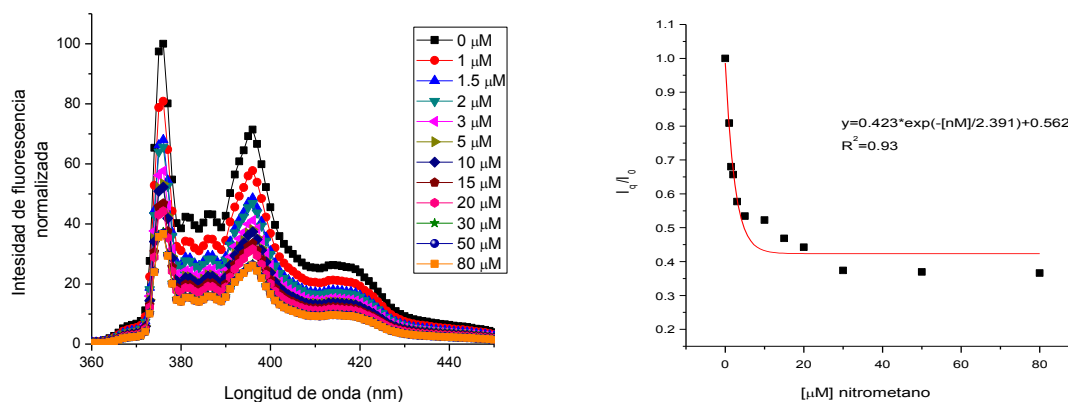


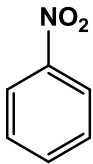
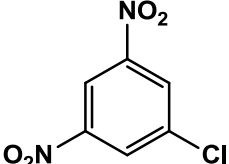
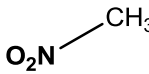
Fig 6.3.13. Estudio de detección de **NM** con el compuesto PyNK1tb.

De manera similar a lo visto anteriormente, el analito **NM** causa un apagamiento rápido de la fluorescencia del quimiosensor PyNK1tb; a una concentración de 1.5 μM la emisión se encuentra reducida en 30% de la emisión en ausencia de analito. El equilibrio se alcanza a una concentración de 30 μM , encontrando la fluorescencia con una intensidad igual al 36% de la intensidad inicial. El valor de 30 μM es más amplio que el registrado para el analito **DNB** y este incremento del límite de detección es debido a las menores dimensiones del analito alifático.

6.3.6 Comparación entre *PyNK1OH* y *PytNK1tb*.

Todos los datos discutidos anteriormente se resumen en la Tabla 6.3.2.

Tabla 6.3.2. Datos relativos a la detección para los sistemas *PyNK1OH* y *PyNK1tb*.

	NB		DNB		NM	
						
	%		%		%	
	Quenching	Equilibrio	Quenching	Equilibrio	Quenching	Equilibrio
	Max		Max		Max	
PyNK1OH	23	20 μ M	46	20 μ M	31	20 μ M
PyNK1tb	28	50 μ M	34	20 μ M	36	30 μ M

Ambos quimiosensores resultaron tener un comportamiento similar (Fig 6.3.14), con algunas excepciones como en el caso del **NB**. Los límites de detección y el apagamiento inicial resultaron similares para ambos sistemas en cada estudio registrado; aun el dendron con grupos tertbutilos en la periferia muestra mejores constantes de correlación. A diferencia de lo que se había registrado para la generación cero, para estos quimiosensores no se alcanza a observar un claro equilibrio en respuesta a la presencia de compuestos nitrados: la emisión continúa disminuyendo en todo el rango de concentraciones analizado.

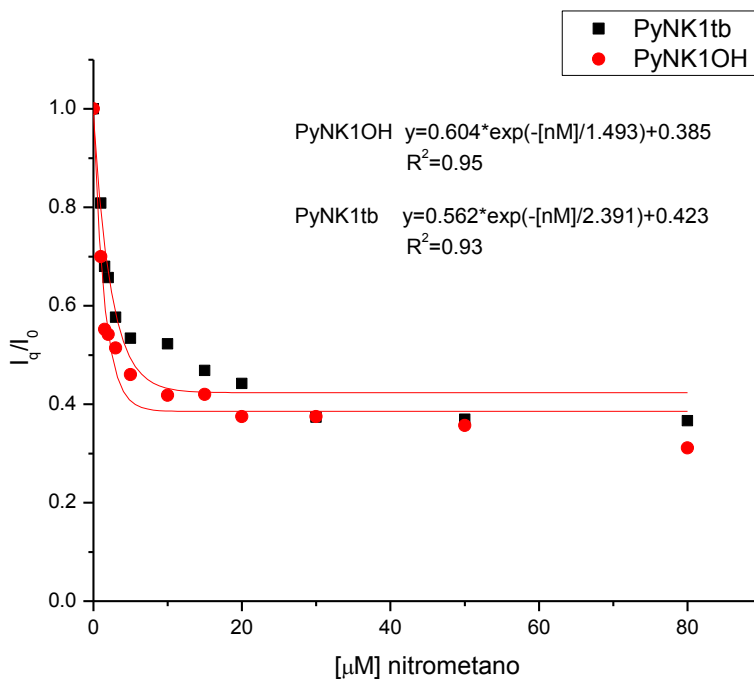


Fig 6.3.14. Comparación de relación I_q/I_0 para los quimiosensores PyNK1OH y PyNK1tb.

6.4 Estudio de detección de aminas con los quimiosensores.

Con el objetivo de investigar la capacidad de detección de aminas para los quimiosensores propuestos, se decidió utilizar cinco compuestos modelo diferentes, de uso frecuente en los laboratorios químicos: piperidina, dietilamina, trietilamina, N-metilnilina y N,N-dimetilnilina. Estos compuestos fueron seleccionados debido a que se consideran tóxicos y son investigados como potenciales agentes cancerígenos ^{55,56}.

Debidos a los datos obtenidos con los sistemas estudiados en el párrafo anterior, se pudo establecer que el impedimento estérico juega un papel fundamental sobre

la capacidad de detección de los quimiosensores propuestos, de manera que pierde relevancia la influencia de la tipología de grupo funcional en la periferia del dendron. Empezando por esta consideración y teniendo en cuenta las metodologías con las cuales es posible entrar en contacto con aminas, se decidió usar para este estudio exclusivamente compuestos solubles en soluciones acuosas. Con la motivación de hacer análisis en agua desionizada, fueron elegidos para esta investigación los dendrones PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH.

Así, los análisis fueron efectuados en agua desionizada, marcando diferencias sustanciales en el espectro de excitación y emisión de los quimiosensores que contienen pireno, como se puede ver en la Figura 6.4.1.

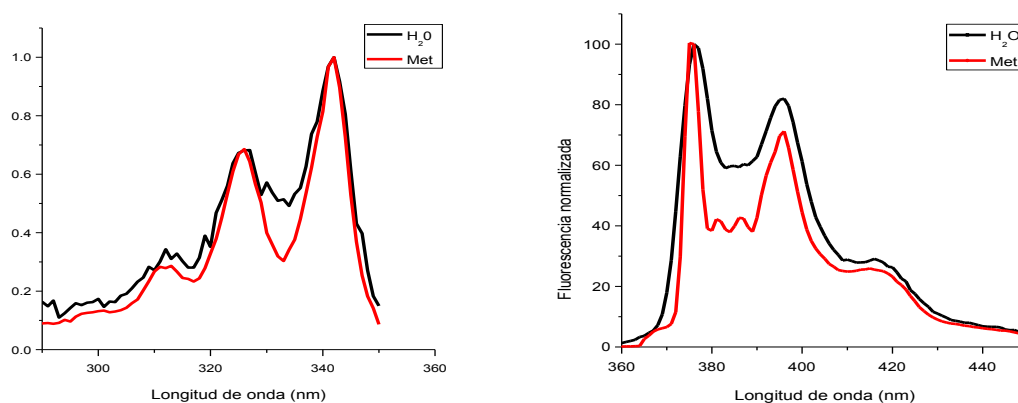


Fig 6.4.1. Comparación de los espectros de excitación y de emisión en agua y metanol para el quimiosensor PyNK1OH.

Como se puede apreciar en los datos de la Tabla 6.4.1, se detectan fuertes diferencias entre los dos disolventes, agua y metanol. El valor máximo de emisión sufrió un leve efecto batocrómico, pasando de 375 nm a 376 nm. Resultan aún más marcadas las diferencias, controlando los valores referidos a la relación

Pico/valle y I_1/I_3 . La relación pico/valle es una medida de la agregación del cromóforo, mientras que I_1/I_3 se usa para determinar el efecto de la polaridad alrededor del mismo. Ambos valores sufren una caída muy importante para todos los quimiosensores elegidos. Considerando la baja concentración con la cual se obtuvieron estos resultados (10^{-6} para el sistema en metanol y 10^{-8} para el sistema en agua), evitando en consecuencia la formación de agregados intermoleculares, se puede suponer de manera muy clara que la estructura de los quimiosensores en el disolvente más polar se encuentra cerrada, envolviendo al cromóforo. Esta morfología causa entonces que los grupos terminales ácido carboxílico se encuentren cerca del cromóforo: es entonces posible imaginar que los ácidos tengan una fuerte capacidad de atraer las aminas, incrementando la capacidad de detección para estos quimiosensores.

Tabla 6.4.1. Datos relativos a los parámetros relativos los análisis de emisión.

	Metanol			H ₂ O		
	λ_{em}^{max} (nm)	Pico/valle	I_1/I_3	λ_{em}^{max} (nm)	Pico/valle	I_1/I_3
PyOH	375	3.30	2.65	376	1.47	1.66
PyNK1OH	375	3.24	2.52	376	2.03	1.78
PyNK2OH	375	3.27	2.49	376	1.69	1.70

Todos los análisis fueron hechos por triplicado, obteniéndose una reproducibilidad adecuada: el margen de error en los análisis es igual a $\pm 2\%$. El estudio de estos

sistemas fue hecho en agua desionizada, manteniendo constante la concentración del quimiosensor (1×10^{-8} M).

6.4.1 Estudio de detección de aminas con PyOH

El estudio empezó con el compuesto comercial PyOH como quimiosensor. El primer analito analizado fue la piperidina. Se prepararon las soluciones como se describe en la parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.4.2.

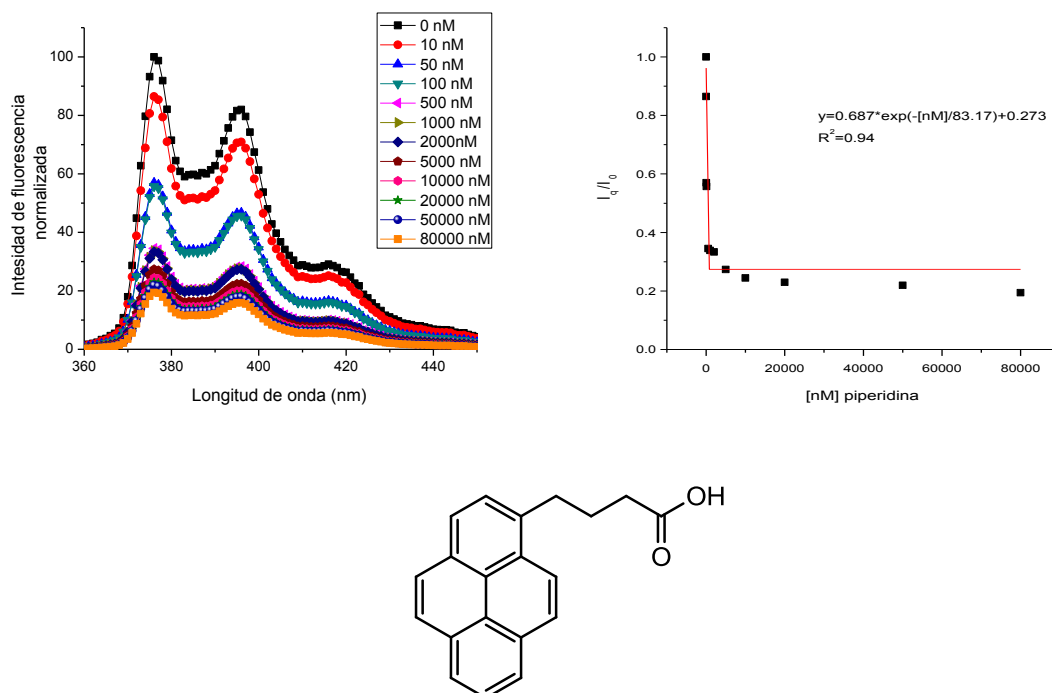


Fig 6.4.2. Estudio de detección de piperidina con el compuesto PyOH, con estructura del quimiosensor.

La presencia de piperidina causa una rápida disminución de la emisión del quimiosensor a bajas concentraciones, con una reducción del 40% con 50 nM del quencher. Continuando con la adición del analito, la fluorescencia continua

disminuyendo de forma muy rápida, alcanzando el equilibrio a concentraciones de $1\mu\text{M}$ de la amina utilizada como modelo; en este punto la emisión se ha reducido hasta el 30 % de la intensidad original en ausencia de analito. Incrementando ulteriormente la concentración del quencher, la emisión sigue mostrando valores similares, ya que al pasando de 1 mM hasta 80 mM causa una reducción de la emisión de tan solo el 10%, en comparación con la registrada anteriormente.

El segundo analito investigado fue la dietilamina. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.4.3.

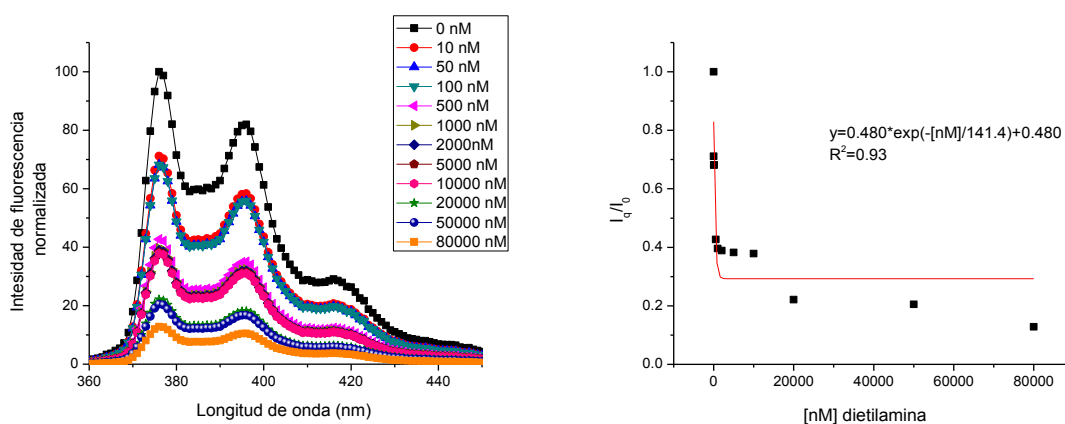


Fig 6.4.3. Estudio de detección de **dietilamina** con el compuesto PyOH.

La **dietilamina** mostró comportamiento similar al obtenido con la **piperidina**: la emisión decreció rápidamente a bajas concentraciones, llegando al 40% de la intensidad de la fluorescencia a 100 nM del analito. En este punto se registra un primer equilibrio hasta llegar a los $20\mu\text{M}$ de la amina secundaria. Aquí se registra un ulterior decremento de la emisión, llegando al 20% de la fluorescencia en ausencia de **dietilamina**: a esta concentración se registra otro equilibrio, que se mantiene constante en todo el rango de concentraciones investigado.

El tercer analito investigado fue la trietilamina. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.4.4.

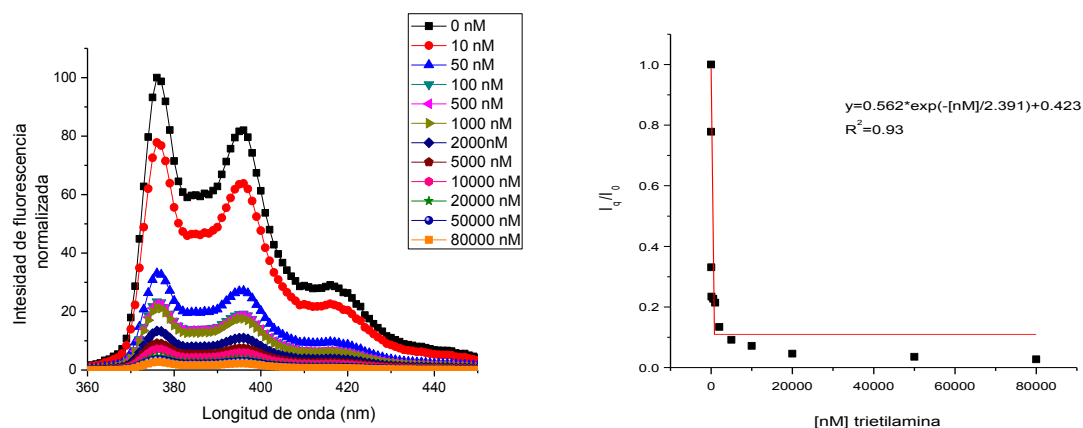


Fig 6.4.4. Estudio de detección de **trietilamina** con el compuesto PyOH.

La **trietilamina** demostró ser el quencher más efectivo con este quimiosensor, debido a sus reducidas dimensiones y a la mayor eficiencia de apagamiento de aminas terciarias en comparación con las secundarias. Como en los casos anteriores, el apagamiento inicial es muy rápido, reduciéndose hasta el 40% de la intensidad inicial a una concentración de analito igual a 100 nM. Incrementando la presencia de **trietilamina**, la fluorescencia se reduce hasta el 4% de la emisión en ausencia de analito, llegando a un equilibrio cuando se añaden 2 μM de la amina terciaria.

El cuarto analito investigado fue la N-metilnilina. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.4.5.

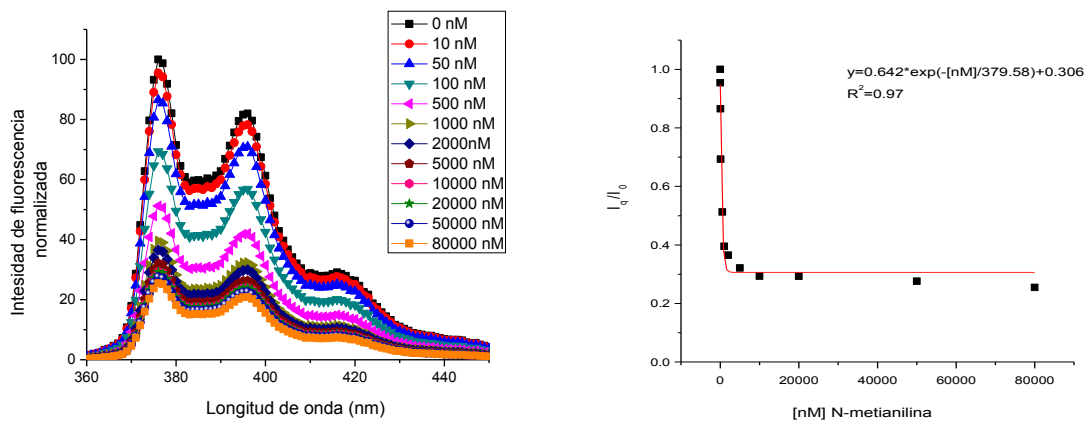


Fig 6.4.5. Estudio de detección de **N-metilanilina** para el compuesto PyOH.

En este caso, la presencia de un grupo aromático como sustituyente causa algunas diferencias con sus homologas las aminas secundarias alifáticas. La presencia de un grupo aromático reduce la eficacia en el apagamiento de la fluorescencia. Con estos sistemas es necesario llegar hasta 500 nM de analito para observar una reducción de la emisión igual al 50% de la inicial, en comparación con la obtenida a una concentración 200 nM con las aminas secundarias alifáticas. Un posterior aumento de la concentración de la **N-metilanilina** permite una reducción de la intensidad de fluorescencia hasta llegar al equilibrio con 2 μ M de amina. Un ulterior incremento de quencher no afecta de manera significativa la emisión.

El quinto analito investigado fue la N,N-dimetilanilina. Los resultados de este análisis se ilustran en la Figura 6.4.6.

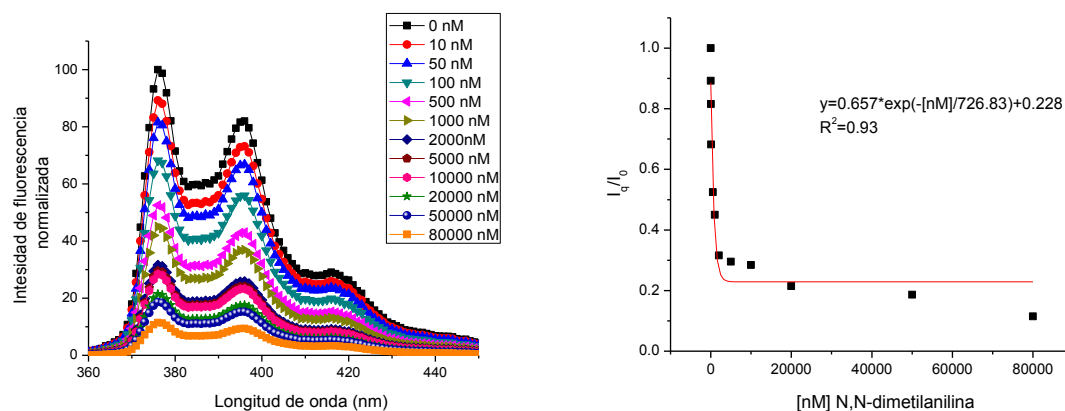


Fig 6.4.6. Estudio de detección de **N,N-dimetilanilina** con el compuesto PyOH.

Finalmente, se estudió la capacidad de detección de una amina aromática secundaria. Como para las aminas secundarias similares, se obtuvo una reducción gradual de la emisión, la intensidad se redujo en 50% a una concentración de 500 nM, de manera análoga a lo analizado anteriormente. También, el equilibrio se alcanzó a una concentración igual a 2 μ M, mostrando diferencias no significativas con la **N-metilanilina**. La mayor capacidad de apagamiento, marcando la diferencia entre una amina secundaria y una terciaria, se registra alcanzando una concentración del analito igual a 80 μ M. La amina terciaria **N,N-dimetilanilina** logra apagar la emisión del quimiosensor hasta el 11% de la intensidad original en ausencia de analito, en lugar del 25% registrado con la amina secundaria aromática.

6.4.2 Estudio de detección de aminas con PyNK1OH.

El estudio continuó usando el compuesto PyNK1OH como quimiosensor. El primer analito analizado fue la piperidina. Se prepararon las soluciones se indica en la

parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.3.7.

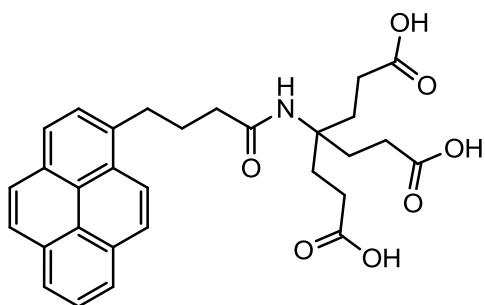
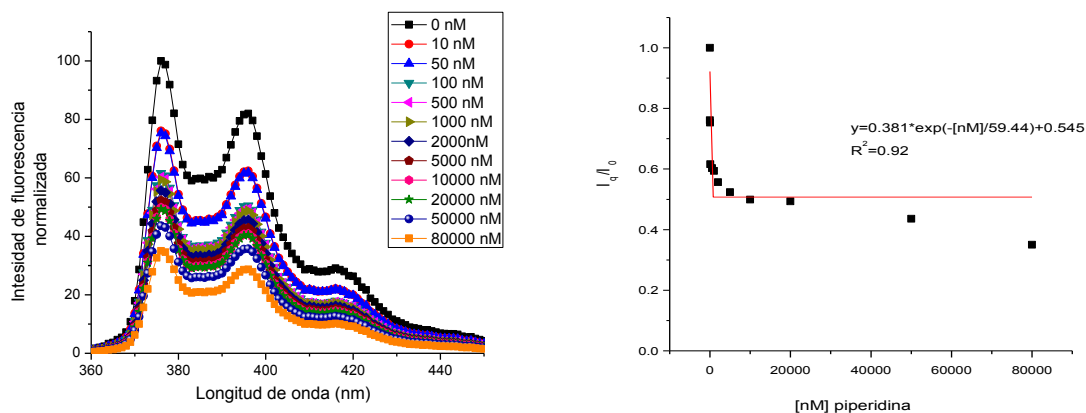


Fig 6.4.7. Estudio de detección de **piperidina** para el compuesto PyNK1OH, con estructura del quimiosensor.

Sorprendentemente, el quimiosensor PyNK1OH dio respuesta a concentraciones nanomolares del analito. De hecho, con una concentración de 10 nM de **piperidina** se registró una reducción del 25% de la intensidad de la emisión. El equilibrio se observó a una concentración de 5 mM de analito. Cuando se alcanzó el equilibrio, la emisión se redujo al 50% en comparación con la intensidad inicial en ausencia de analito. El apagamiento entonces resulta inferior a lo medido para

el sistema PyOH: este dato se debe al incremento del impedimento estérico, el cual hace el contacto con el analito menos accesible al cromóforo.

El segundo analito investigado fue la dietilamina. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.4.8.

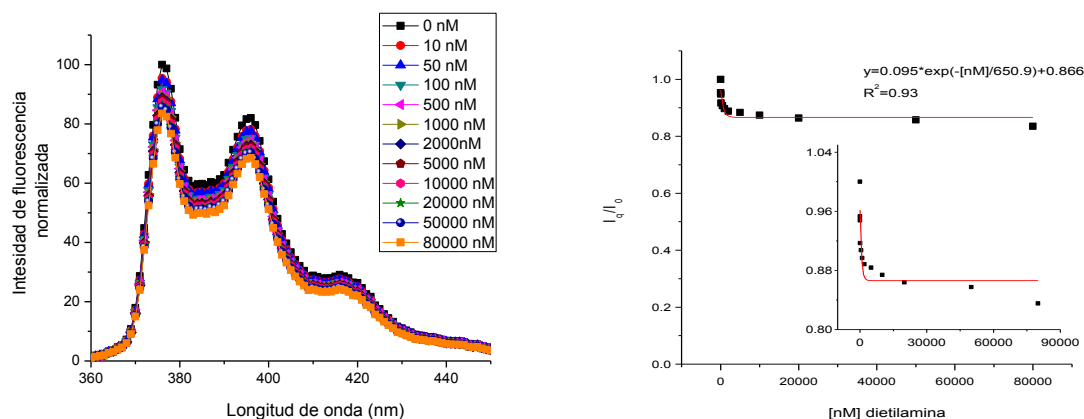


Fig 6.4.8. Estudio de detección de **dietilamina** con el compuesto PyNK1OH.

El analito **dietilamina** mostró una capacidad mínima de apagamiento con el quimiosensor propuesto. Analizando todo el amplio rango de análisis, comenzando con una concentración de 10 nM hasta la concentración de 80 μ M, se registró un decremento de la emisión del 15% en comparación con la fluorescencia del dendron puro. Este comportamiento es debido a dos factores diferentes: la baja eficiencia de apagamiento de las aminas secundarias y el impedimento estérico del quimiosensor de primera generación. Aun así, es posible observar una excelente linealidad a nivel nanomolar, hasta a una concentración de 100 nM.

El tercer analito investigado fue la trietilamina y los resultados por este análisis se muestran en la Figura 6.4.9.

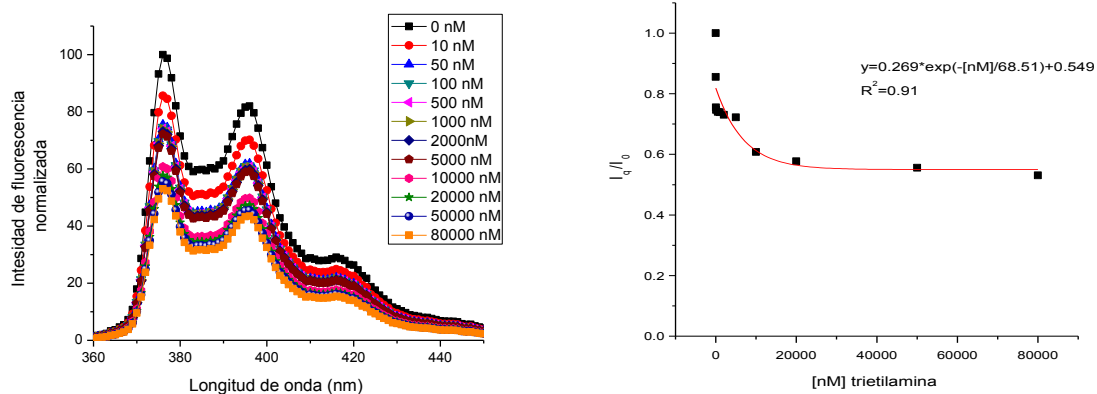


Fig 6.4.9. Estudio de detección de **trietilamina** con el compuesto PyNK1OH.

La detección de la **trietilamina** por parte del quimiosensor de primera generación mostró ser eficaz a concentraciones nanomolares, con una reducción de intensidad del 25% a una concentración de 100 nM. Al aumentar la cantidad de analito, la intensidad de la emisión sufrió un decremento, hasta llegar al 60% de la fluorescencia inicial; el equilibrio se alcanzó a una concentración de 10 μ M.

El cuarto analito investigado fue la N-metilnilina. Los resultados de este análisis se ilustran en la Figura 6.4.10.

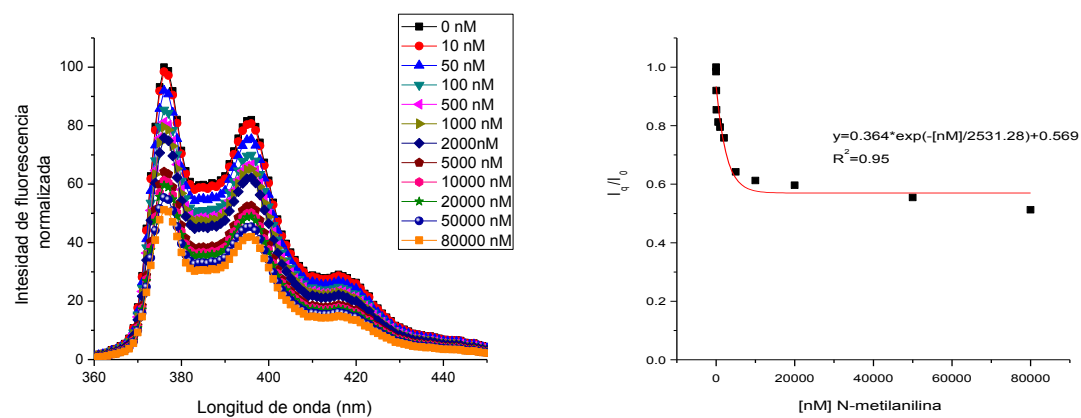


Fig 6.4.10. Estudio de detección de **N-metilnilina** con el compuesto PyNK1OH.

Los análisis del analito **N-metilanilina** demostraron una buena capacidad de detección por parte del quimiosensor de primera generación. Los datos señalan una buena linealidad en los análisis hasta llegar a una concentración de amina aromática igual a 2 μM , con un decremento de la intensidad de la fluorescencia hasta del 75% de la emisión inicial. El equilibrio se alcanzó con una concentración de 5 μM ; aun así la emisión sufre una posterior disminución no relevante por ulteriores incrementos del analito. La diferencia, en comparación con la **dietilamina**, se debe a una mayor afinidad del compuesto aromático con el cromóforo; el analito aromático tiene una menor afinidad al ambiente acuoso en cual se hicieron los análisis con respecto a la amina secundaria alifática, haciendo más probable la interacción entre el analito y el cromóforo.

El quinto analito investigado fue la N,N-dimetilanilina. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 6.4.11.

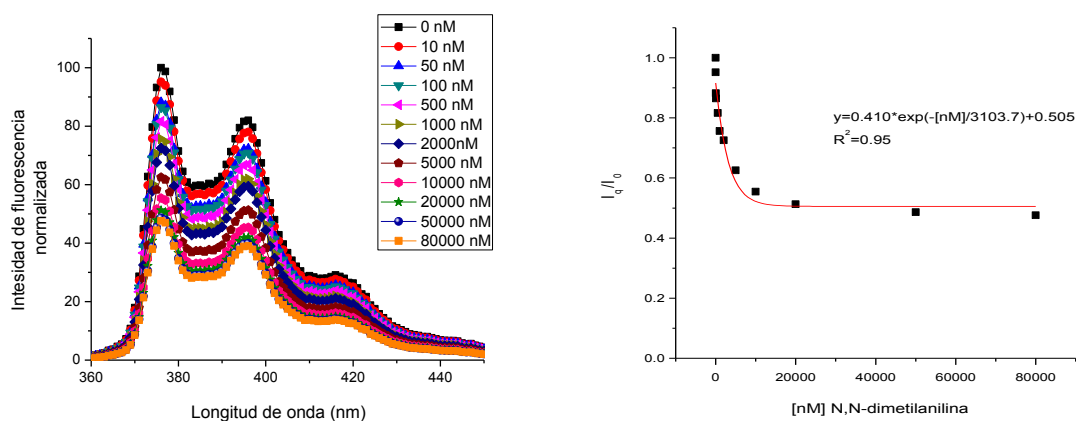


Fig 6.4.11. Estudio de detección de **N,N-dimetilanilina** con el compuesto PyNK1OH.

El analito **N,N-dimetilanilina** causó un apagamiento de la emisión del quimiosensor en concentraciones nanomolares, como se observó con los sistemas anteriores; el decremento de la intensidad de fluorescencia resultó ser del 25% a una concentración de 1 μM . El estudio mantuvo una buena correlación entre fluorescencia y concentración del analito aromático, llegando al equilibrio a una concentración de 10 μM . El decremento de la intensidad de emisión en el punto de equilibrio era del 45% en comparación con la emisión en ausencia de quencher. Como en los análisis con el quimiosensor PyOH, se aprecia una mayor eficiencia de apagamiento para las aminas terciarias en comparación con sus análogas las aminas secundarias.

6.4.3 Estudio de detección de aminas con PyNK2OH.

En el estudio también se utilizó el compuesto PyNK2OH como quimiosensor. El primer analito analizado fue la piperidina. Se prepararon las soluciones como se indica en la parte de desarrollo experimental. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.4.12.

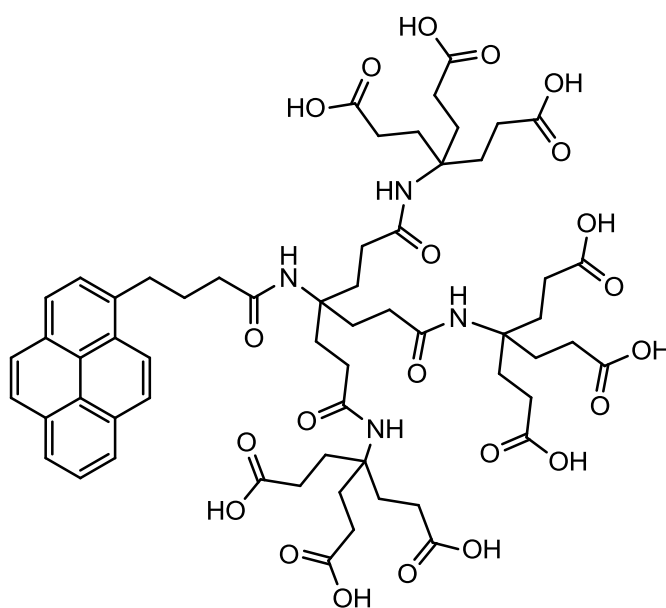
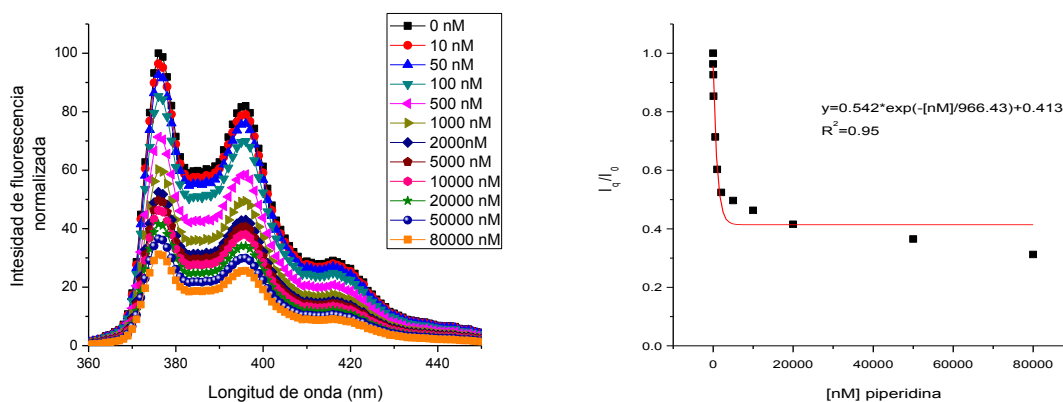


Fig 6.4.12. Estudio de detección de **piperidina** con el compuesto PyNK2OH, con estructura del quimiosensor.

El estudio sobre la detección de **piperidina** por el quimiosensor PyNK2OH mostró ser eficaz desde concentraciones nanomolares. Se midió un decremento de la intensidad de emisión del 15% a concentraciones de 100 nM de analito. El apagamiento se comporta de manera lineal hasta llegar a una concentración de 1 μM , con la emisión que resulta ser el 60% de la medida en ausencia de amina. El equilibrio se alcanzó a una concentración de 2 μM de analito. Aun así, la

intensidad de la emisión sigue decreciendo de manera poco significativa para concentraciones más altas; esta ulterior reducción no se considera relevante debido a los grandes aumentos de quencher, la intensidad disminuye de manera no proporcional.

El segundo analito investigado fue la dietilamina. Los resultados obtenidos de este análisis se reportan en la Figura 6.4.13.

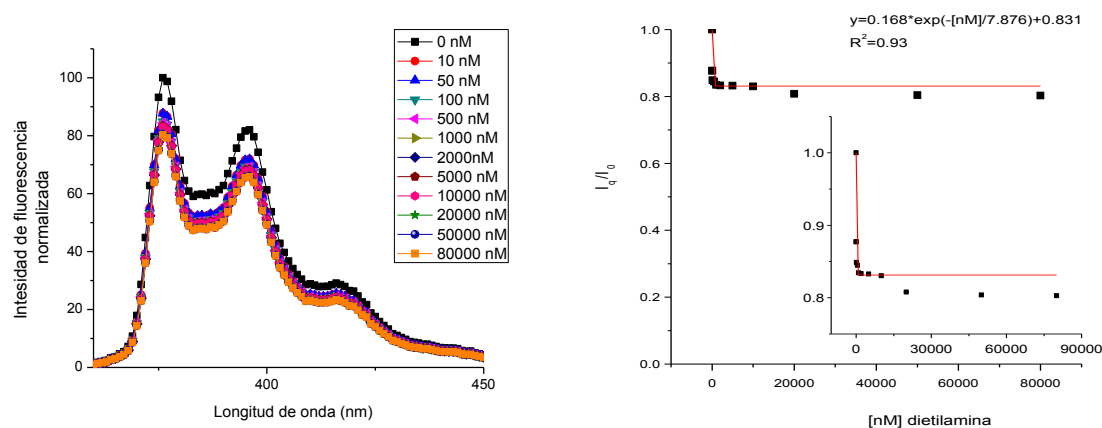


Fig 6.4.13. Estudio de detección de **dietilamina** para el compuesto PyNK2OH.

El comportamiento del quimiosensor de segunda generación para la detección de la **dietilamina** resultó ser similar al observado con el dendron de primera generación. De hecho, aun se pudo observar una rápida disminución de la intensidad de emisión a baja concentración; el apagamiento total en el rango estudiado resultó ser del 20% en comparación con el sistema sin analito. De cualquier forma, la detección resultó ser lineal hasta llegar a una concentración de analito igual a 100 nM, alcanzando un equilibrio para concentraciones superiores. Este análisis confirma una baja eficiencia en el apagamiento por la **dietilamina** para quimiosensores con alto impedimento estérico.

El tercer analito investigado fue la trietilamina. Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la Figura 6.4.14.

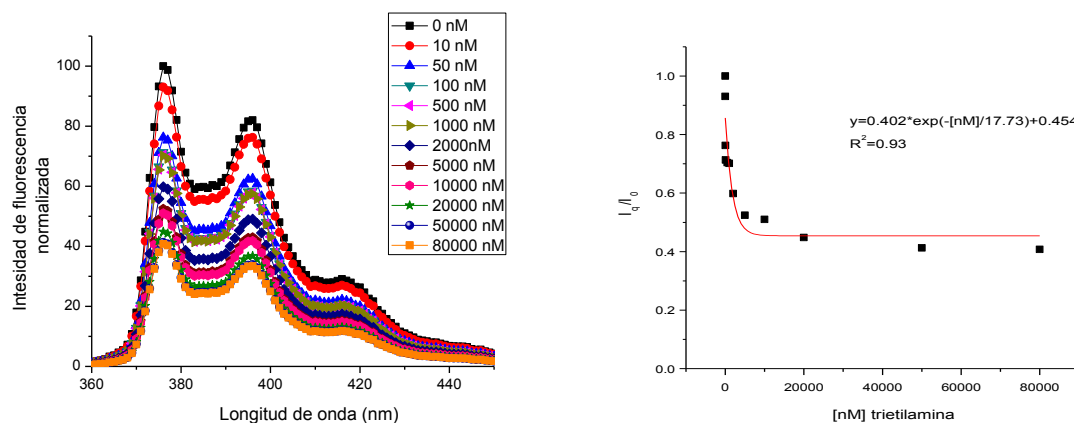


Fig 6.4.14. Estudio de detección de **trietilamina** con el compuesto PyNK2OH.

El analito **trietilamina** causó un apagamiento muy rápido a bajas concentraciones, con una reducción de la intensidad de emisión del 25% a una concentración de 100 nM. El decremento de la emisión siguió de forma regular hasta llegar a una concentración de 5 μM , donde se alcanzó un primer equilibrio; aumentando la cantidad de analito se pudo observar una ulterior disminución de la emisión, la cual resultó ser continua para todo el rango de análisis.

El cuarto analito investigado fue la N-metilnilina. Los resultados de este análisis se reportan en la Figura 6.4.15.

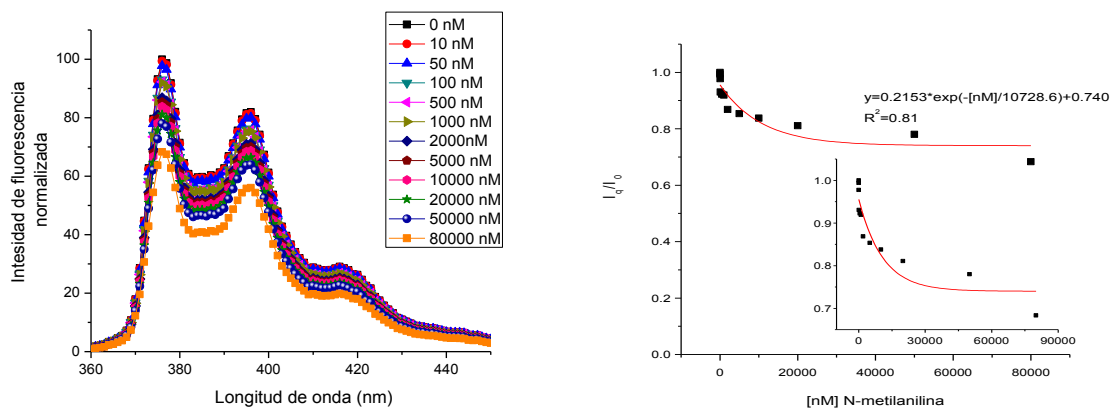


Fig 6.4.15. Estudio de detección de **N-metilanilina** con el compuesto PyNK2OH.

El análisis para el analito **N-metilanilina** con PyNK2OH mostró un comportamiento diferente en comparación a los analizados anteriormente para la misma amina. El estudio mostró un rápido decremento de la emisión, de forma lineal, en un rango de concentraciones hasta 2 μ M. Un posterior aumento de la concentración de analito causa un ulterior decremento de la intensidad de fluorescencia del quimiosensor, ampliando el rango accesible de detección para todo el campo de análisis. Este estudio puede dividir el intervalo de análisis en nivel nanomolar y nivel micromolar, dando un amplio rango de detección para la amina aromática secundaria **N-metilanilina**.

El quinto analito investigado fue la N,N-dimetilanilina. Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la Figura 6.4.16.

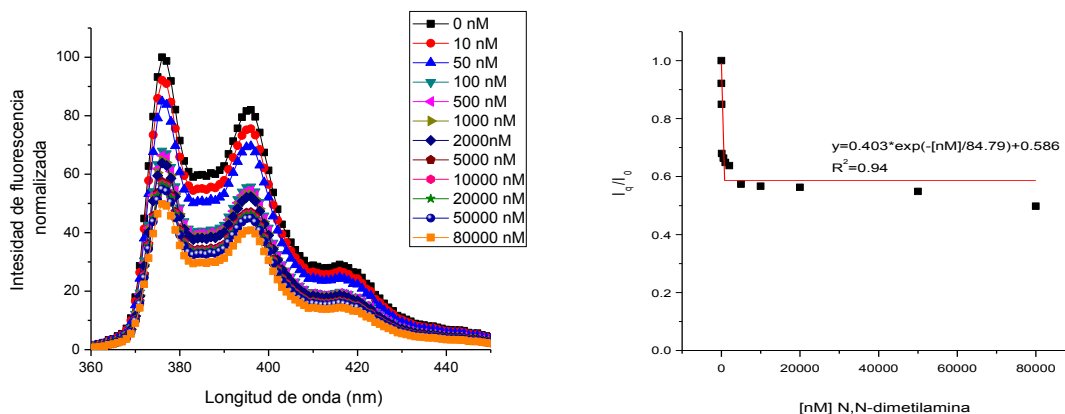


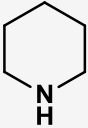
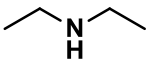
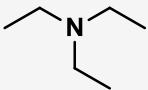
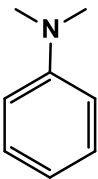
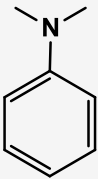
Fig 6.4.16. Estudio de detección de **N,N-dimetilanilina** con el compuesto PyNK2OH.

El analito **N,N-dimetilanilina** causó un quenching muy rápido a concentraciones bajas, con un apagamiento igual al 30% a una concentración de 200 nM. Después de este rápido apagamiento, este proceso se regularizó, mostrando una gradual disminución en intensidad hasta el equilibrio, alcanzado a una concentración del analito igual a 5 μ M. El diferente comportamiento en la detección de la **N,N-dimetilanilina** en comparación con el analito **N-metilanilina** se debe al mayor poder de apagamiento de las aminas terciarias en comparación con las secundarias.

6.4.4 Comparación entre PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH.

Todos los datos discutidos anteriormente se resumen en la Tabla 6.4.2.

Tabla 6.4.2. Datos relativos a la detección empleando los sistemas: PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH.

			PyOH	PyNK1OH	PyNK2OH
Piperidina		% Quenching Max	19	35	31
		Equilibrio	1000 nM	5000 nM	2000 nM
Dietilamina		% Quenching Max	12	83	80
		Equilibrio	1000 nM	100 nM	100 nM
Trietilamina		% Quenching Max	2	53	40
		Equilibrio	2000 nM	10000 nM	5000 nM
N- metilanilina		% Quenching Max	25	51	68
		Equilibrio	2000 nM	5000 nM	2000 nM
N,N- dimetilaniлина		% Quenching Max	11	47	49
		Equilibrio	2000 nM	10000 nM	5000 nM

Los quimiosensores resultaron tener un comportamiento influenciado por el aumento del impedimento estérico, al pasar desde la generación cero (PyOH) para llegar a generaciones superiores (PyNK_xOH) (Fig 6.4.17). Los límites de detección resultaron ser inferiores, en particular, para el quimiosensor PyOH, dadas sus menores dimensiones; esto permite un acercamiento más rápido para los analitos,

causando un apagamiento más rápido de la emisión de pireno. Por otra parte, este sistema resulta ser el que sufre una mayor disminución de la emisión, llegando al 2% de la emisión original en ausencia de analito, en el caso de la trietilamina. Las diferencias entre los quimiosensores PyNK1OH y PyNK2OH resultaron ser menores, teniendo en común un elevado impedimento estérico. En ese caso, entra también en juego una mayor presencia del grupo ácido carboxílico (3 vs 9). La mayor polaridad en la periferia del quimiosensor de segunda generación causa un apagamiento más rápido, vía la formación de interacciones de tipo ácido-base entre los grupos ácido carboxílico y amina. Por otro lado, el mayor impedimento estérico no permite un mayor acercamiento de los analitos, causando un bajo apagamiento de la emisión. Teniendo en consideración todos estos factores, el mejor candidato para la detección de aminas es el quimiosensor de primera generación PyNK1OH.

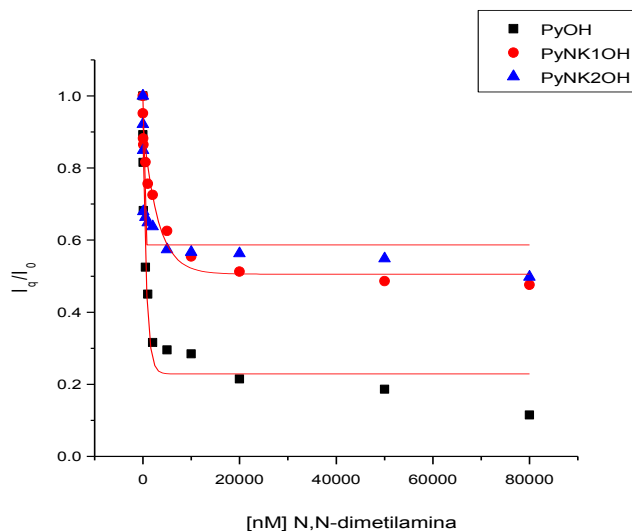


Fig 6.4.17. Comparación de relación I_q/I_0 para los quimiosensores PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH.

Un aspecto muy importante está representado por la alta sensibilidad en la detección; los quimiosensores resultaron ser sensibles a concentraciones en el orden de 10-15 nM para todos los analitos. Estos valores son cercanos a los propuestos por el EPA (Environmental Protection Agency) como límite para aplicaciones comerciales. Además, cabe resaltar que en la literatura hay exclusivamente seis reportes⁴⁸⁻⁵³ de detección a nivel nanomolar por quimiosensores con grupos pireno, de los cuales uno es el reportado en este trabajo de tesis⁵⁴.

7. CONCLUSIONES

- Se sintetizó exitosamente una serie de compuestos dendríticos tipo Newkome, empleando como agente ramificante la amina de Behera y núcleo de pireno. Las estructuras fueron caracterizadas por espectroscopias $^1\text{H-RMN}$, $^{13}\text{C-RMN}$ y espectroscopia de masas.
- Se estudiaron las propiedades ópticas y fotofísicas de estos compuestos en solución de metanol. Los espectros de absorción de los dendrones mostraron dos bandas de absorción, debidas a las transiciones $S_0 \rightarrow S_3$ y $S_0 \rightarrow S_2$, respectivamente a 278 nm y 342 nm. Se calcularon los coeficientes de extinción molar para los compuestos, obteniéndose valores por arriba de $45,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, los cuales coinciden con los valores típicos reportados en literatura.
- Se estudiaron las propiedades fotofísicas de emisión en metanol. Se pudo observar que el espectro de fluorescencia tenía un máximo de emisión a 375 nm para todos los compuestos analizados, debidos a la transición $S_1 \rightarrow S_0$, según la regla de Kasha. La intensidad máxima de emisión mostró ser mayor para los compuestos con grupos terminales tertbutilo (Pytb, PyNK1tb) que para los que tienen terminación ácido carboxílico (PyOH, PyNK1OH y PyNK2OH). El rendimiento cuántico se calculó y dio valores encima de 0.6 para todos los sensores, cumpliendo una característica típica para los quimiosensores ópticos. Los tiempos de vida se incrementaron al aumentar el impedimento estérico, midiendo

los tiempos de vida media, que van desde 196 ns (PyOH) hasta 231 ns (PyNK2OH).

- Se investigó la capacidad de sensoreo de sistemas con grupos nitro con los compuestos PyOH y Pytb en metanol. Estos compuestos mostraron excelente capacidad de detección para este tipo de analitos, alcanzando a cuantificar cantidades nanomolares de los mismos. Este aspecto es muy importante para una eventual comercialización de estos quimiosensores, siendo ubicado a nivel nanomolar el requisito para la comercialización de los mismos. Además, este trabajo representa el sexto reporte de detección nanomolar para quimiosensores con grupo pireno.
- Se investigó la capacidad de sensoreo de sistemas con grupos nitro con los compuestos PyNK1OH y PyNK1tb en metanol. Estos compuestos mostraron excelente capacidad de detección para este tipo de analitos, llegando a cuantificar cantidades micromolares de los mismos. Estos quimiosensores, conjuntamente con los discutidos anteriormente, permiten la medición de concentraciones de compuestos con grupos nitro desde concentraciones iguales a 10^{-8} hasta 10^{-5} M.
- Se investigó la capacidad de sensoreo de aminas con los compuestos PyOH, PyNK1OH y PyNk2OH en agua. Estos compuestos mostraron excelente capacidad de detección para este tipo de analitos, logrando cuantificar cantidades nanomolares de los mismos. La influencia del impedimento estérico se pudo verificar con el cambio de límites de detección, siendo mayores para el quimiosensor PyNK1OH.

8. PERSPECTIVAS

- Probar la capacidad de sensoreo de los compuestos sintetizados con compuestos con grupo nitro ocupados como explosivos, por ejemplo trinitrotolueno, ácido pícrico y octanitrocubano.
- Probar la capacidad de sensoreo de aminas con mayor potencial cancerígeno como bencidina, 2-naftilamina y 4-aminodifenilo.
- Probar la capacidad de sensoreo de aminas en medios biológicos.
- Funcionalización de la periferia de los dendrimeros para incrementar la selectividad en el sensoreo.
- Probar la capacidad de sensoreo de los quimiosensores con otros quencher de pireno (metales y sistemas halogenados).
- Desarrollar modelo matemático para cuantificación de constantes de detección a nivel nanomolar.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Webster, J. G.; Eren, H. *The Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook on CD-ROM*; CRC Press, 1999.
- (2) Rogers, C. *Coord Chem Rev* **2002**, 233-234, 341–350.
- (3) Anslyn, E. V. *J Org Chem* **2007**, 72, 687–699.
- (4) Buhleier, E.; Wehner, W.; Vögtle, F. *Synthesis (Mass)* **1978**, 1978, 155–158.
- (5) Boas, U.; Heegaard, P. M. H. *Chem Soc Rev* **2004**, 33, 43–63.
- (6) Fischer, M.; Vögtle, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 884–905.
- (7) Hawker, C.; Fréchet, J. M. J. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1990**, 1010–1013.
- (8) Touzani, R. *Journal of materials and enviromental science* **2011**, 2, 201–214.
- (9) Astruc, D.; Chardac, F. *Chem Rev* **2001**, 101, 2991–3024.
- (10) Ornelas, C.; Pennell, R.; Liebes, L. F.; Weck, M. *Org Lett* **2011**, 13, 976–979.
- (11) Lee, C. C.; MacKay, J. A.; Fréchet, J. M. J.; Szoka, F. C. *Nat Biotechnol* **2005**, 23, 1517–1526.
- (12) Zeng, Y.; Li, Y.-Y.; Chen, J.; Yang, G.; Li, Y. *Chem Asian J* **2010**, 5, 992–1005.
- (13) Abbasi, E.; Aval, S. F.; Akbarzadeh, A.; Milani, M.; Nasrabadi, H. T.; Joo, S. W.; Hanifehpour, Y.; Nejati-Koshki, K.; Pashaei-Asl, R. *Nanoscale Res Lett* **2014**, 9, 247.
- (14) Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. *J Am Chem Soc* **2000**, 122, 8168–8179.
- (15) Brunner, H.; Janura, M.; Stefaniak, S. *Synthesis (Mass)* **1998**.
- (16) Duncan, R. *Pharm Sci Technol Today* **1999**, 2, 441–449.
- (17) Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. *Chem Rev* **1999**, 99, 2293–2352.
- (18) Raymond, K. N.; Pierre, V. C. *Bioconjug Chem* **2005**, 16, 3–8.
- (19) Longmire, M.; Choyke, P. L.; Kobayashi, H. *Curr Top Med Chem* **2008**, 8, 1180–1186.

- (20) Zaragoza-Galán, G.; Fowler, M. A.; Duhamel, J.; Rein, R.; Solladié, N.; Rivera, E. *Langmuir* **2012**, *28*, 11195–11205.
- (21) *Expanding the vision of sensor materials*; National Academies Press: Washington, D.C., 1995.
- (22) Kalantar-zadeh, K. In *Sensors*; Springer US: Boston, MA, 2013; pp. 11–28.
- (23) Boyle, R. *The Experimental History of Colours*; 1664.
- (24) Bell, T. W.; Hext, N. M. *Chem Soc Rev* **2004**, *33*, 589–598.
- (25) Sun, W.; Guo, S.; Hu, C.; Fan, J.; Peng, X. *Chem Rev* **2016**, *116*, 7768–7817.
- (26) Obare, S. O.; De, C.; Guo, W.; Haywood, T. L.; Samuels, T. A.; Adams, C. P.; Masika, N. O.; Murray, D. H.; Anderson, G. A.; Campbell, K.; Fletcher, K. *Sensors Basel Sensors* **2010**, *10*, 7018–7043.
- (27) Wu, J.; Liu, W.; Ge, J.; Zhang, H.; Wang, P. *Chem Soc Rev* **2011**, *40*, 3483–3495.
- (28) Salinas, Y.; Martínez-Máñez, R.; Marcos, M. D.; Sancenón, F.; Costero, A. M.; Parra, M.; Gil, S. *Chem Soc Rev* **2012**, *41*, 1261–1296.
- (29) Kim, H. N.; Guo, Z.; Zhu, W.; Yoon, J.; Tian, H. *Chem Soc Rev* **2011**, *40*, 79–93.
- (30) Grady, T.; Harris, S. J.; Smyth, M. R.; Diamond, D.; Hailey, P. *Anal Chem* **1996**, *68*, 3775–3782.
- (31) Xu, M.-H.; Lin, J.; Hu, Q.-S.; Pu, L. *J Am Chem Soc* **2002**, *124*, 14239–14246.
- (32) Focsaneanu, K.-S.; Scaiano, J. C. *Photochem Photobiol Sci* **2005**, *4*, 817–821.
- (33) Janowski, V.; Severin, K. *Chem Commun (Camb)* **2011**, *47*, 8521–8523.
- (34) Klein, G.; Kaufmann, D.; Schürch, S.; Reymond, J.-L. *Chem. Commun.* **2001**, 561–562.
- (35) Badea, M.; Amine, A.; Palleschi, G.; Moscone, D.; Volpe, G.; Curulli, A. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2001**, *509*, 66–72.
- (36) Oberg, K. I.; Hodyss, R.; Beauchamp, J. L. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2006**, *115*, 79–85.
- (37) Grady, T.; Harris, S. J.; Smyth, M. R.; Diamond, D.; Hailey, P. *Anal Chem* **1996**, *68*, 3775–3782.

- (38) Lu, X.; Quan, Y.; Xue, Z.; Wu, B.; Qi, H.; Liu, D. *Colloids Surf B Biointerfaces* **2011**, *88*, 396–401.
- (39) *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; 3rd ed.; Springer US: Boston, MA, 2006.
- (40) Kasha, M. *Discuss Faraday Soc* **1950**, *9*, 14.
- (41) Winnik, F. M. *Chem Rev* **1993**, *93*, 587–614.
- (42) Duhamel, J. *Langmuir* **2012**, *28*, 6527–6538.
- (43) Birks, J. B. *Reports on Progress in Physics* **1975**, *38*, 903–974.
- (44) Yip, J.; Duhamel, J.; Bahun, G. J.; Adronov, A. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114*, 10254–10265.
- (45) Zhao, S.; Ramette, A.; Niu, G.-L.; Liu, H.; Zhou, N.-Y. *FEMS Microbiol Ecol* **2009**, *70*, 159–167.
- (46) Paramasivan, P.; Lai, C.; Pickard, C.; Ardern-Jones, M.; Healy, E.; Friedmann, P. S. *Br J Dermatol* **2010**, *162*, 594–597.
- (47) Sun, X.; Wang, Y.; Lei, Y. *Chem Soc Rev* **2015**, *44*, 8019–8061.
- (48) Beyazkilic, P.; Yildirim, A.; Bayindir, M. *Nanoscale* **2014**, *6*, 15203–15209.
- (49) Thirupathi, P.; Neupane, L. N.; Lee, K.-H. *Anal Chim Acta* **2015**, *873*, 88–98.
- (50) Neelakandan, P. P.; Jiménez, A.; Nitschke, J. R. *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 908–915.
- (51) Naskar, B.; Dhara, A.; Modak, R.; Maiti, D. K.; Prodhan, C.; Chaudhuri, K.; Requena, A.; Cerón-Carrasco, J. P.; Goswami, S. *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 2512–2519.
- (52) Dai, Q.; Liu, W.; Zhuang, X.; Wu, J.; Zhang, H.; Wang, P. *Anal Chem* **2011**, *83*, 6559–6564.
- (53) Xiao, W.; Xiao, D.; Xia, J.; Chen, Z. *Microchimica Acta* **2011**, *173*, 73–78.
- (54) Ruiu, A.; Vonlanthen, M.; Porcu, P.; Gonzalez-Méndez, I.; Rivera, E. *Journal of inorganic and organometallic polymers and materials* **2017**, 1–9.
- (55) Greim, H.; Bury, D.; Klimisch, H. J.; Oeben-Negele, M.; Ziegler-Skylakakis, K. *Chemosphere* **1998**, *36*, 271–295.
- (56) Ambs, S.; Neumann, H. *Toxicology and applied pharmacology* **1996**, *139*, 186–194.

10. ARTICULO

J Inorg Organomet Polym
DOI 10.1007/s10904-017-0686-6



Highly Sensitive Sensors for the Detection of Nitro Compounds Based on Pyrene Labeled Dendrons

Andrea Ruiu¹ · Mireille Vonlanthen¹ · Pasquale Porcu¹ · Israel Gonzalez-Méndez¹ · Ernesto Rivera¹

Received: 12 July 2017 / Accepted: 20 September 2017
© Springer Science+Business Media, LLC 2017

Abstract In this paper, we describe the synthesis and characterization of four novel pyrene labeled compounds, some of them dendritic, which can act as potential sensors for the detection of nitro compounds in methanol solution. Methanol was selected as solvent due to its polar properties, which provide similar characteristics to water. The obtained pyrene labeled molecules (PyOH, Pytb, PyNK1OH and PyNK1tb) were studied by UV–Vis and steady state fluorescence spectroscopy. Their application as sensors has been tested with three different nitro compounds: nitrobenzene, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and nitromethane. PyOH and Pytb showed a detection concentration limit for the analyzed quenchers in the order of nM, making these compounds suitable for high-sensitive sensing. PyNK1OH and PyNK1tb displayed high sensibility at μM concentration. All the sensors showed an accurate response towards quencher analytes.

Keywords Pyrene · Dendrons · Sensor · Quenching · Nitro compounds

1 Introduction

The development of sensors for nitro compounds has attracted the attention of many scientists and has been

improved in the last years [1–4]. Nitro compounds, in particular nitroaromatic molecules, represent a main risk for biological organisms [5]. Nowadays, the most common methods for their detection are X-ray imaging [6], ion mobility spectroscopy [7], gas chromatography mass spectroscopy (GC–MS) [8, 9], surface enhanced Raman spectroscopy [10, 11], and electrochemical methods [12, 13]. Although the good sensibility of these techniques, the development of new fluorescent methods for nitro compounds is ongoing, thanks to their portability and ease of use. For instance, metal organic frameworks (MOFs) [14, 15], nanomaterials [16], conjugated polymers [17–20], fluorescent dyes [4, 21] have showed good performance as fluorescent sensors for the detection of nitroaromatic pollutants, exhibiting a good sensibility on the detection of these contaminants.

Pyrene is one of the most studied fluorescent probes due to its outstanding photophysical properties such as high quantum yield, well defined absorption and emission bands, long lifetime and the ability to form excimers. This is just a brief list of the properties which allow an extensive study of pyrene-labeled molecules [22, 23]. Indeed, pyrene has been incorporated in a large variety of chemical structures, such as peptides [24, 25], oligothiophenes [26–28], molecules exhibiting energy transfer [29–32] and in MOFs [33, 34]. In addition, pyrene has been used as sensor for different pollutants, due to its high sensibility to the presence of quenchers [35–37]. In particular, it has been employed as probe for nitro compounds [38], oxygen [39, 40], heavy atoms [41, 42] and amines [43, 44].

Usually the quenching by nitro compounds on fluorescence emission is due to a PET mechanism (photo-induced electron transfer) [3]. This mechanism occurs because of the donor–acceptor interaction between electron rich fluorophore (pyrene) and electron poor group (nitro compound). In this phenomenon, the electron in the excited state of the

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s10904-017-0686-6) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Ernesto Rivera
riverage@unam.mx

¹ Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Ciudad de México, Mexico

Published online: 30 September 2017

Springer

fluorophore is transferred to the ground state of the nitro compound so that this electron transfer leads to the formation of an excited complex. This specie usually returns to ground state without a photon emission, except in some cases, where an exciplex emission is detected.

An interesting way to modulate the sensitivity of luminescent-labeled sensors is to modify their peripheral structure. In this work, we decided to modify the outer structure by functionalizing the pyrene substrate with the Behera's amine [45–48] in order to obtain a dendritic system similar to those developed by Newkome. This specific dendritic structure has been studied by labeling using different derivatives as photosensitizers [49–52] and it has been used in biological devices [53–56], as drug delivery agent [57–59] and for surface modification [60–62]. Thanks to this particular amine, the synthesis of dendritic systems became much easier, with a simple method of coupling-cleavage. The peripheral groups can be trivially functionalized, allowing us to obtain a water soluble or a more apolar system.

In this work, we report the synthesis of four novel pyrene-labeled molecules and the study of their quenching behavior in the presence of three different nitro compounds [nitrobenzene (NB), dinitrochlorobenzene and nitromethane (NM)] in methanol. These pyrene-labeled compounds showed to be suitable sensors for this kind of pollutants.

2 Experimental

2.1 Materials

Pyrenbutyric acid (PyOH, 97%, Sigma Aldrich), tert-butylamine (98%, Sigma Aldrich), *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 99%, Sigma Aldrich), 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP, 99%, Sigma Aldrich), formic acid (95%, Sigma Aldrich), aminotriester (Frontier Scientific), NB, (99%, Sigma Aldrich), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (DNB, %97, Sigma Aldrich), NM (99%, Sigma Aldrich) were employed as starting materials. Methanol (HPLC grade) was used in the spectroscopical studies.

2.2 Synthesis of the Pyrene Derivatives

2.2.1 *N*-(*tert*-butyl)-4-(pyren-1-yl)butanamide (Pytb)

Pyrenbutyric acid (0.1 g, 0.34 mmol) was dissolved in 20 mL of CH_2Cl_2 with DCC (0.078 g, 0.38 mmol), DMAP (0.005 g, 0.04 mmol) and tertbutyl amine (0.028 g, 0.38 mmol). The solution was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere. After 48 h, the solution was filtered and purified by column chromatography (SiO_2 , hexane:ethyl acetate 2:1). The final product was obtained as a white powder (0.098 g, 83%). ^1H NMR (CDCl_3):

δ 1.34 (s, CCH_3 , 9 H), δ 2.20 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$, 4 H), δ 3.41 (t, PyCH_2 , 2 H), δ 5.19 (s, CONH, 1 H), δ 7.87–8.33 (m, Py, 9 H). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 27.00 (CH_2), δ 28.35 (CH_3), δ 32.15, 36.40 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2$), δ 36.68 (CH_2), δ 50.67 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], δ 122.96, δ 124.28, δ 124.41, δ 124.60, δ 125.36, δ 126.20, δ 126.87, δ 126.93, δ 126.99, δ 128.31, δ 129.42, δ 130.42, δ 130.93, δ 135.54 (pyrene), δ 171.34 (CONH) ppm.

2.2.2 *Di-tert-butyl*4-(3-(*tert*-butoxy)-3-oxopropyl)-4-(4-(pyren-1-yl)butanamido) heptanedioate (PyNK1tb)

Pyrenbutyric acid (0.2 g, 0.68 mmol) was dissolved in 20 mL of CH_2Cl_2 with DCC (0.156 g, 0.76 mmol), DMAP (0.01 g, 0.08 mmol) and aminotriester (0.315 g, 0.76 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 week. The solution was filtered and purified by column chromatography (SiO_2 , hexane:ethyl acetate 2:1). The final product was obtained as a white powder (0.377 g, 81%). ^1H NMR (CDCl_3): δ 1.40 (s, CCH_3 , 27 H) δ 2.00 (t, CCH_2 , 6 H), δ 2.20 (m, $\text{PyCCH}_2\text{CCO—CH}_2\text{COOt}$, 10 H), δ 3.40 (t, PyCH_2 , 2 H), δ 5.91 (s, CONH, 1 H), δ 7.83–8.33 (m, Py, 9 H). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 27.38 (CH_2), δ 27.90 (CH_3), δ 29.79, δ 29.88 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2$), δ 32.68 (CH_2), δ 36.68 (CH_2), δ 57.27 [$\text{C}(\text{CH}_2\text{—CH}_2)_3$], δ 80.51 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], δ 123.24, δ 124.59, δ 124.62, δ 124.69, δ 124.83, δ 124.93, δ 125.65, δ 126.48, δ 127.24, δ 127.32, δ 128.59, δ 129.57, δ 130.76, δ 131.24, δ 135.77 (pyrene), δ 171.96 (CONH), δ 172.77 [$\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$] ppm.

2.2.3 4-(2-Carboxyethyl)-4-(4-(pyren-1-yl)butanamido) heptanedioic acid (PyNK1OH)

PyNK1OH (0.2 g, 0.29 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (5 mL) and formic acid (10 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere. After 48 h, it was concentrated at reduced pressure and the obtained red oil was washed until it became a yellow solid. This compound was dissolved in boiling acetone and then cooled down. The pure product was obtained as a white powder (0.150 g, 99%). ^1H NMR (CD_3OD): δ 2.07 (t, CCH_2 , 6 H), δ 2.20 (q, PyCCH_2CCO , 2 H), δ 2.32 (t, CH_2COOt , 6 H), δ 2.38 (t, PyCH_2 , 2 H), δ 5.19 (s, CONH, 1 H), δ 7.92–8.37 (m, Py, 9 H). ^{13}C NMR (CD_3OD): δ 27.38 (CH_2), δ 29.79, δ 29.88 ($\text{CH}_2\text{—CH}_2$), δ 32.68 (CH_2), δ 36.68 (CH_2), δ 57.27 [$\text{C}(\text{CH}_2\text{—CH}_2)_3$], δ 80.51 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], δ 123.24, δ 124.59, δ 124.62, δ 124.69, δ 124.83, δ 124.93, δ 125.65, δ 126.48, δ 127.24, δ 127.32, δ 128.59, δ 129.57, δ 130.76, δ 131.24, δ 135.77 (pyrene), δ 174.96 (CONH), δ 176.77 [COOH] ppm.

2.2.4 Materials

^1H and ^{13}C NMR spectra of these compounds in CDCl_3 and CD_3OD solution were recorded at room temperature on a Bruker Avance 400 MHz spectrometer, operating at 400 and 100 MHz for ^1H and ^{13}C , respectively. For UV–Vis and fluorescence experiments, methanol spectrum grade was purchased from Aldrich. The absorption spectra of the final compounds in solution were recorded on a Unicam UV300 UV/Vis spectrophotometer using 1 cm quartz cells and solute concentrations of $1\text{--}3 \times 10^{-5}$ M for the dendritic compounds. It has been verified that the Beer–Lambert law applies for the used concentrations. Fluorescence spectra corrected for the emission detection were recorded on a Fluorolog 3 Horiba spectrofluorometer with a Xenon lamp as light source. The slits widths were set to 1 nm on excitation and 1 nm on emission. Each solution was excited at 342 nm, using a 1 cm quartz cell. For all compounds, a pyrene concentration of 2.5×10^{-6} M was employed to ensure that the solutions would have an absorbance of 0.1 at 342 nm in order to avoid any inner filter effect; the samples were excited at 342 nm. The fluorescence cells were cleaned with a solution of ammonium persulphate in concentrated sulphuric acid before use. Fresh solvent was used each day and checked for pyrene contamination prior to the preparation of the samples. Before recording the emission spectra, methanol solutions of the compounds were first degassed for 5 min and recorded on the spectrophotometer.

2.2.5 Samples Preparation

To prepare the analyzed solutions, different starting solutions were prepared with methanol (HPLC grade). These stock solutions were prepared to give a concentration of 1.25×10^{-1} M (PyOH = 0.360 g in 10 mL; Pytb = 0.429 g in 10 mL; PyNK1OH = 0.714 g in 10 mL; PyNK1tb = 0.857 g in 10 mL). Then, the solutions were diluted up to a concentration of 1.25×10^{-4} M. Then, from each solution, 10 μL were brought to a volume of 5 mL in order to obtain a final concentration of 2.5×10^{-6} M.

The nitro compounds stock solutions were prepared similarly. Initially, we prepared solutions with a concentration of 5×10^{-1} M (NB = 0.615 g in 10 mL; NM = 0.305 g in 10 mL; DNB = 1.012 g in 10 mL). Then, these solutions were diluted respectively up to 5×10^{-4} M and then diluted until a concentration of 5×10^{-6} M was obtained.

To prepare nM analyzed solutions, 10 μL of pyrene-labeled compound solution and 10 μL of nitro compound stock solution (5×10^{-6} M) were added into a volumetric flask and brought to a volume of 5 mL to obtain a 10 nM concentration solution. Then, similar solutions were prepared by adding from 10 to 1000 μL of nitro compound stock solution in order to increase the nitro concentration.

To prepare μM analyzed solutions, 10 μL of pyrene-labeled compound solution and 10 μL of nitro compound stock solution (5×10^{-4} M) were added in a volumetric flask and brought to a volume of 5 mL to give a 1 μM concentration solution. After that, similar solutions were prepared by adding from 10 to 800 μL of the nitro stock solution in order to increase the nitro concentration.

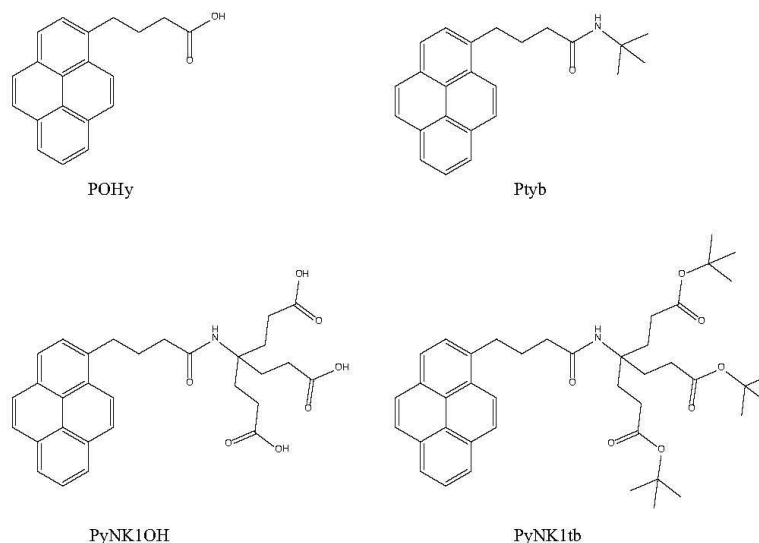
3 Results and Discussion

3.1 UV–Vis and Steady State Fluorescence Studies in the Absence of Quencher

The obtained compounds proposed as sensors in this work are shown in Fig. 1. Their synthesis and structural characterization is presented in the experimental part. The optical and photophysical properties of the designed molecules were studied by absorption and fluorescence spectroscopy. The maximum absorption wavelength (λ_{max}), molar extinction coefficient (ϵ), emission wavelength (λ_{em}) and fluorescence intensity (F.I.) of all compounds are summarized in Table 1.

The absorption spectra were obtained in methanol solution with a concentration of 2.5×10^{-5} M. All the samples exhibited ϵ values that goes from 4.2×10^4 to 4.8×10^4 , with a little increase between the zero generation and the first generation. The absorption spectra exhibit the typical $S_0 \rightarrow S_3$ and $S_0 \rightarrow S_2$ transitions of pyrene, at 275 and 342 nm, respectively, showing a hypsochromic shift with respect to less polar solvents; these wavelengths are typical for aqueous solutions of pyrene labeled systems [44]. The peak-to-valley ratio, equal to 3.3 for all the samples, clearly reveals the absence of pyrene–pyrene interactions, which prevents the formation of excimers.

The steady state spectra of the dendritic compounds were recorded in methanol solution, exciting at 342 nm at room temperature, with a concentration of 2.5 μM . The emission spectra of the compounds are shown in Fig. 2. All compounds exhibited maximum emission at 375 nm. The fluorescence intensity increases from the acid derivatives to the tertbutyl esters: in generation zero, the intensity augments from 2.36×10^6 to 2.59×10^6 , showing an increase of ca. 10%. However, in the first generation dendron, it augments from 2.21×10^6 to 2.73×10^6 , showing an emission rise of about 20%. This phenomenon suggests an interaction between pyrene and the terminal group (carboxylic acid and tertbutyl ester). A significant change in the pyrene environment was noticed by calculating I_1/I_3 ratio in the emission of the pyrene dendrons. In fact, this ratio was considerably lower for the tertbutyl ester derivatives, thereby confirming an effective influence of the terminal groups on pyrene fluorescence behavior. These considerations allow us to affirm the presence of an “umbrella effect”, which can be

Fig. 1 Structure of pyrene labeled molecules**Table 1** Optical properties of the pyrene derivatives: UV-Vis and fluorescence parameters

	ε (cm ⁻¹ M ⁻¹)	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ (nm)	F.I. ^a (a.u.)	I_1/I_3 ^b
PyOH	42 812	342	375	2.36×10^6	2.65
Ptyb	44 547	342	375	2.59×10^6	2.44
PyNK1OH	48 723	342	375	2.21×10^6	2.52
PyNK1tb	45 407	342	375	2.73×10^6	2.31

^aFluorescence intensity^b I_3 at 386 nm

relevant to evaluate the performance of these molecules as quencher sensors, in particular because of the sensitivity of these compounds.

3.2 Fluorescence Quenching

In order to study the behavior of the pyrene derivatives in the presence of nitro groups, we decided to use three different nitro compounds usually employed in an organic synthesis laboratory as analytes: **NB**, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and **NM**. These compounds are very toxic, due to their carcinogenic effects and they cause irritation if they enter into contact with skin and respiratory ways [63, 64].

The dendron generation response was studied using different quencher concentrations. Zero generation response (PyOH and Ptyb) was analyzed in the presence of a very low concentration of quencher, specifically from 10 nM to 1 μ M. Unlikely, first generation (PyNK1OH and PyNK1tb)

response was studied at higher concentrations of quencher, from 1 to 80 μ M. The influence of the quencher on the fluorescence will be discussed separately for each dendron. In order to verify the differences between all dendritic compounds, we have taken into account two different parameters: namely, when I_1/I_0 is equal to 0.5 and when the quenched emission reaches a stationary value and does not change any more even by adding larger amounts of quencher.

3.2.1 PyOH in the Presence of Quencher

We started our study using a commercially available compound, pyrenbutyric acid (PyOH) as sensor and **NB** as detection target or quencher. The presence of **NB** causes a quite fast decrease in fluorescence intensity, where the emission diminishes to a half just using a 75 nM solution of quencher. On the other hand, the fluorescence intensity reaches a stationary state at a concentration of 300 nM, showing a significant quenching. The emission at this point decreased about 30% with respect to that observed in the absence of quencher.

The second analyzed nitro compound was 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (**DNB**) (Fig. 3), which exhibited a significant quenching about 50%, more rapidly than **NB**, at a concentration of 50 nM. The quenching equilibrium is attained faster than in the case of **NB**, with a concentration of 100 nM. This remarkable difference can be attributed to the presence of two nitro groups in the aromatic ring, which provokes a more effective quenching of the pyrene emission.

The third quencher tested in this study was **NM**. This compound was supposed to exhibit the highest quenching

40% of the initial emission. Then, the emission continues decreasing by adding more quencher agent up to concentration of 1 μM , which was fixed as superior limit for this generation. As we explained before, this faster quenching is due to the smaller size of NM. Further emission reduction can be explained by gradual conformational changes in the sensor structure in the presence of a higher amount of the small quencher NM.

3.2.3 Comparison Between PyOH and Pytb

All the previously discussed results are summarized in Table 2. Emission spectra and the I_q/I_0 vs quencher concentration graphs are included in the Supporting Information. The main structural difference between PyOH and Pytb is the presence of a tertbutyl as terminal group in the chain, which acts as pyrene protector. This effect results in an increase on the detection limit of quencher concentrations (Fig. 4). On the other hand, the total quenching was reduced by the presence of the tertbutyl moieties. In fact, the PyOH is quenched to 30% of initial intensity by all the quenchers; instead Pytb only to 50% of its initial emission intensity. An important observation for all these compounds used as nitro compound sensors, is the high detection sensitivity, which is in order of 10–15 nM. These values are close to that suggested by EPA as recognition limit for real applications.

3.2.4 PyNK1OH in the Presence of Quencher

We studied the ability of the first generation dendron as sensor; it was found a lack of response at nanomolar quencher concentrations. In fact, the range of studied concentrations goes from 1 to 80 μM . Like the previously studied sensors, the sensing efficiency of PyNK1OH and PyNK1tb was tested in the presence of NB, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (DNB) and NM.

PyNK1OH shows a fast response towards the presence of NB exhibiting a decrease in emission intensity equal to 5% at a concentration of 1 μM . The 50% quenching was achieved between 7 and 10 μM , displaying a good range of analysis. The quenching equilibrium was reached at 15 μM , with a fluorescence reduction of 30% with respect to the non-quenched one. Even by increasing generously the amount of NB up to 80 μM the quenching process

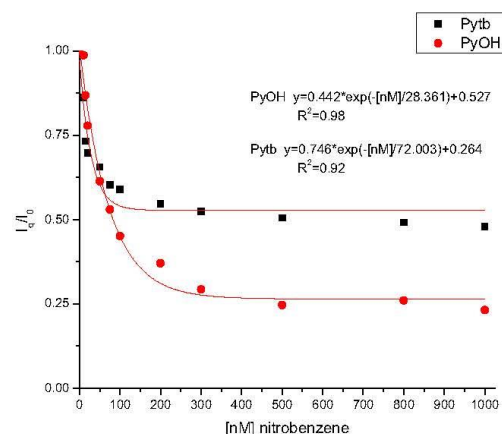


Fig. 4 I_q/I_0 ratio in function of NB amount for PyOH and Pytb

remains constant, showing that the reduction to 30% of the initial emission is the maximum decrease in fluorescence intensity for this dendron.

The DNB exhibited a similar effect like NB on PyNK1OH fluorescence, where there is an intense quenching up to 1.5 μM , equal to an emission decrease of 20%. After this diminution, 50% quenching was surprisingly obtained at 15 μM , a higher concentration than that of NB. The maximum quenching value attained with this sensor was 55%, compared to the non-quenched dendron (Fig. 5). This can be due to electrostatic repulsions between the partially charged nitro groups and the carboxylic groups present the dendron branches, which are very close to the pyrene moiety, making more difficult for the quencher to encounter the fluorescent chromophore.

Due to its smaller size, NM causes a decrease in fluorescence intensity of 45% at 1.5 μM . Then, the 50% quenching was rapidly obtained at 3 μM , a lower concentration than that used with the other quencher. The quenching equilibrium was reached at 10 μM , with an emission equal to 31% of the starting one. As we mentioned before, the small size of NM allows overcoming the steric hindrance, thereby permitting a rapid quenching of the pyrene emission.

Table 2 Comparison between PyOH and Pytb in function of the quencher

Sample	NB		DNB		NM	
	50% quench. (nM)	Maximum detection	50% quench. (nM)	Maximum detection	50% quench. (nM)	Maximum detection
PyOH	75	300 nM	50	100 nM	20	100 nM
Pytb	200	–	200	–	100	–

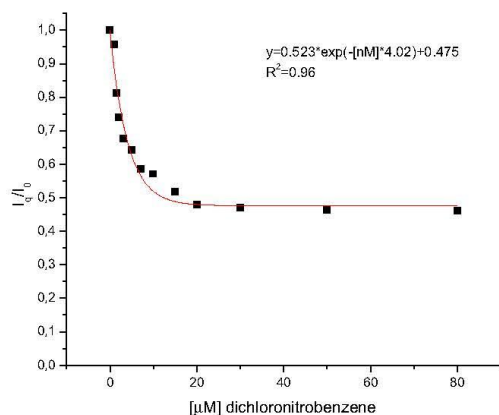


Fig. 5 I_q/I_0 ratio in function of the DNB amount for PyNK1OH

3.2.5 PyNK1tb in the Presence of Quencher

For the first generation dendrons, we proposed an alternative tertbutyl end-capped compound (PyNK1tb) to make a comparison with PyNK1OH. PyNK1tb exhibits a wide detection limit for NB. The first decrease at 1 μM is equal to 7%; after this concentration the decrease does not reach a real equilibrium. In fact, the quenching is proportional to the nitro compound concentration until a superior limit of 80 μM , as we can observe in Fig. 6. This gradual decrease allows an effective detection of NB along the analyzed range of concentrations.

The DNB quenching showed a fast-initial quenching of 11% in the non-quenched emission at 1 μM . The 50% decrease in fluorescence intensity of the PyNK1tb sensor was achieved at 15 μM . With a further increase of DNB, the emission declined slowly until 30% with respect to the initial emission at 80 μM . This different behavior in sensing DNB, compared to NB, is due to the strong quenching power of the dinitroaromatic system.

Similarly, NM causes a fast quenching of PyNK1tb fluorescence; to be precise at 1.5 μM the emission is reduced to 70% with respect to the initial emission in the absence of quencher. The 50% quenching was achieved at a quencher concentration of 10 μM . The equilibrium was reached at 30 μM , when the emission decreased to 36% compared to the pure sensor. This range of 30 μM is larger related to DNB and this increased detection limit is undoubtedly due to the smaller dimension of NM.

3.2.6 Comparison Between PyNK1OH and PyNK1tb

The emission spectra and the I_q/I_0 versus quencher amount graphs are included in the Supporting Information. Both

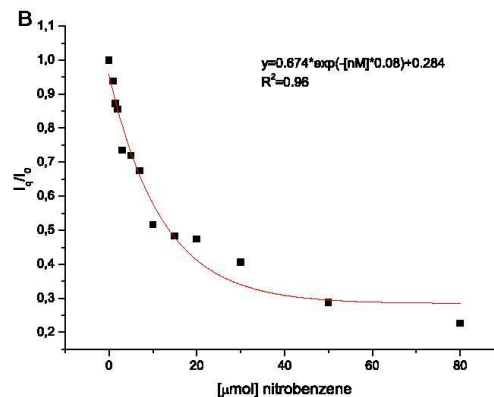
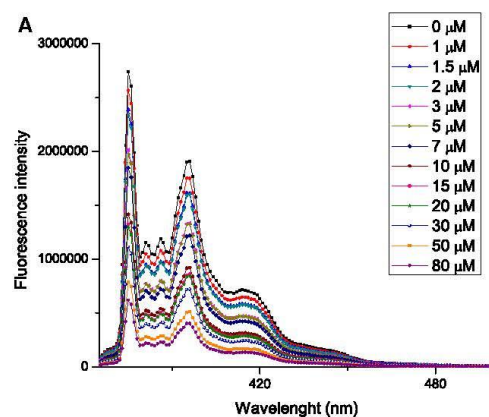


Fig. 6 Steady state (a) and I_q/I_0 ratio (b) in function of the NB amount for PyNK1tb

sensors showed similar response to the different analyzed quencher, as shown for NB quenching (Fig. 7). The inferior detection limits and the initial quenching are close for both sensors in each study, but usually the dendron bearing tert-butyl terminal groups exhibits higher regression constant values. The response towards the presence of nitro groups does not afford a clear equilibrium and the emission continues diminishing even at higher concentrations of quencher.

According to the classical mechanism there is a photo-induced electron transfer (PET) from the donor group (pyrene derivative) to the acceptor (nitro compound). In a typical PET The excited state of the donor fluorophore (pyrene derivative) donates an electron to the ground state of the acceptor (nitro compound) thereby forming a complex, which return to the ground state without the emission of a photon. Then, the additional electron on the acceptor returns to the donor group. The energy gap between the LUMO of

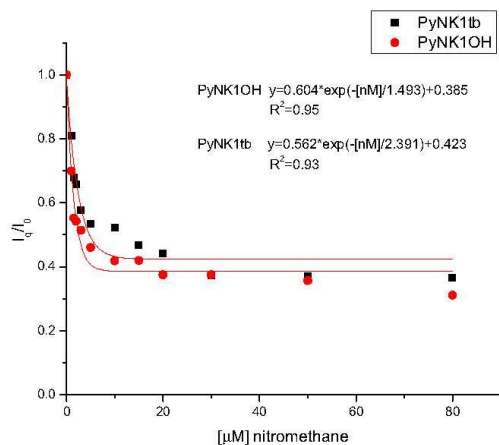


Fig. 7 I_f/I_0 ratio in function of amount of NM for PyNK1OH and PyNK1tb

the donor (pyrene derivative) and that of the acceptor (nitro compound) thermodynamically allows this process so that the quenching efficiency depends on a big measure on the electron transfer [3].

The fluorescence quenching requires the molecular interaction between the fluorophore (pyrene derivative) and the quencher (nitro compound) by diffusion giving rise to a dynamic complex, which is the case in our systems. Since the donor (pyrene derivative) and the acceptor (nitro compound) are located in different molecules and separated in the medium. When both donor and acceptor groups are located in the same molecule the formation of static complexes is possible. Dynamic and static complexes can be distinguished by life time decays, concentration, viscosity, temperature effects [3].

In our systems, it is evident that we have a dynamic quenching mechanism since the fluorophore (pyrene) and the quencher (nitro compound) are situated in different molecules; their interaction is totally by diffusion in solution and strongly depends on the concentration of the species. We can observe a variation of the fluorescence intensity of the donor (pyrene) in function of the added amount of acceptor (nitro compound) until we reach a stationary state. The detection sensibility varies in function of the structure of our sensors and the size and number of nitro groups present in the quenchers.

4 Conclusions

In this work we described the synthesis and characterization of four pyrene labeled compounds, some of them dendritic,

for the detection of nitro compounds in methanol solution, to be specific: **NB**, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and **NM**. The dendrons possess different size and terminal groups, having two different generations and the presence of acid or tertbutyl terminal groups in the periphery. The resulting compounds showed diverse responses depending on the size and the terminal groups: the generation zero sensors showed a decrease in fluorescence intensity at nM concentrations of quencher, giving a good linear correlation constant up to 1 μ M concentration. The first-generation sensors showed a higher detection limit; their response was significant in μ M concentration for all the nitro analytes. On the other hand, PyNK1OH and PyNK1tb exhibited good correlation constants. The good response to the quencher presence makes these pyrene labeled compounds potential sensors for nitro compounds. Thanks to the easy synthetic and purification methods and the good response towards different concentrations of quenchers, these pyrene labeled Newkome type dendrons may be used as potential candidates for the detection of explosives based on nitro compounds. As expected, the quenching process occurs via a dynamic mechanism.

Acknowledgements We thank Miguel A. Canseco Martínez and Gerardo Cedillo for their technical assistance in the characterization of the sensing compounds. We are also grateful to CONACYT (Project 253155) and PAPIIT (Project IN-100316) for financial support. Mireille Vonlanthen is grateful to the Swiss National Science Foundation for a postdoctoral fellowship (P2ZHP2-148707). A. Ruiu, P. Porcu and I. González-Méndez thank Posgrado en Ciencias Químicas UNAM and CONACYT for scholarship and financial support, respectively.

References

1. A. Azhdari Tehrani, L. Esrafil, S. Abedi, A. Morsali, L. Carlucci, D.M. Proserpio, J. Wang, P.C. Junk, T. Liu, *Inorg. Chem.* **56**, 1446 (2017)
2. Y. Sun, J. Liu, G. Frye-Mason, S. Ja, A.K. Thompson, X. Fan, *Analyst (Lond)* **134**, 1386 (2009)
3. X. Sun, Y. Wang, Y. Lei, *Chem. Soc. Rev.* **44**, 8019 (2015)
4. H. Ma, F. Li, Z. Zhang, M. Zhang, *Sens. Actuators B* **244**, 1080 (2017)
5. N. Hannink, S.J. Rosser, C.E. French, A. Basran, J.A. Murray, S. Nicklin, N.C. Bruce, *Nat. Biotechnol.* **19**, 1168 (2001)
6. R.D. Luggar, M.J. Farquharson, J.A. Horrocks, R.J. Lacey, *X-Ray Spectrom.* **27**, 87 (1998)
7. D.S. Moore, *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 2499 (2004)
8. K. Håkansson, R.V. Coorey, R.A. Zubarev, V.L. Talrose, P. Håkansson, *J. Mass Spectrom.* **35**, 337 (2000)
9. A.S. Chajistamatiou, E.B. Bakeas, *Talanta* **151**, 192 (2016)
10. A.K.M. Jamil, A. Sivanesan, E.L. Izake, G.A. Ayoko, P.M. Fredericks, *Sens. Actuators B* **221**, 273 (2015)
11. J.M. Sylvia, J.A. Janni, J.D. Klein, K.M. Spencer, *Anal. Chem.* **72**, 5834 (2000)
12. E.S. Forzani, D. Lu, M.J. Lerright, A.D. Aguilar, F. Tsow, R.A. Iglesias, Q. Zhang, J. Lu, J. Li, N. Tao, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 1390 (2009)
13. J. Mbah, K. Moor, L. Pacheco-Londoño, S. Hernandez-Rivera, G. Cruz, *Electrochim. Acta* **88**, 832 (2013)

14. Y.-N. Gong, L. Jiang, T.-B. Lu, *Chem. Commun. (Camb)* **49**, 11113 (2013)
15. Q. Wang, Z. Li, D.-D. Tao, Q. Zhang, P. Zhang, D.-P. Guo, Y.-B. Jiang, *Chem. Commun. (Camb)* **52**, 12929 (2016)
16. F. Akhgari, H. Fattahi, Y.M. Oskoei, *Sens. Actuators B* **221**, 867 (2015)
17. S. Rochat, T.M. Swager, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 4488 (2013)
18. A. Rose, Z. Zhu, C.F. Madigan, T.M. Swager, V. Bulović, *Nature* **434**, 876 (2005)
19. J.-S. Yang, T.M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 11864 (1998)
20. L. Feng, H. Li, Y. Qu, C. Lü, *Chem. Commun. (Camb)* **48**, 4633 (2012)
21. H. Li, Y. Zhu, J. Zhang, Z. Chi, L. Chen, C.-Y. Su, *RSC Adv.* **3**, 16340 (2013)
22. H. Siu, J. Duhamel, *Macromolecules* **37**, 9287 (2004)
23. F.M. Winnik, *Chem. Rev.* **93**, 587 (1993)
24. B. Adhikari, J. Nanda, A. Banerjee, *Chemistry (Easton)* **17**, 11488 (2011)
25. N. Maneelun, T. Vilaivan, *Tetrahedron* **69**, 10805 (2013)
26. K. Takemoto, M. Karasawa, M. Kimura, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **4**, 6289 (2012)
27. K.P. Gan, M. Yoshio, T. Kato, *J. Mater. Chem. C* **4**, 5073 (2016)
28. E. Rodríguez-Alba, J. Ortíz-Palacios, E.G. Morales-Espinoza, M. Vonlanthen, B.X. Valderrama, E. Rivera, *Synth. Met.* **206**, 92 (2015)
29. M. Vonlanthen, A. Cevallos-Vallejo, E. Aguilar-Ortíz, A. Ruiu, P. Porcu, E. Rivera, *Polymer (UK)* **99**, 13 (2016)
30. D.P. Bhopate, P.G. Mahajan, K.M. Garadkar, G.B. Kolekar, S.R. Patil, *RSC Adv.* **4**, 63866 (2014)
31. G. Zaragoza-gala, M.A. Fowler, J. Duhamel, R. Rein, N. Solladie, E. Rivera, *Languimir* **28**, 11195 (2012)
32. G. Zaragoza-Galán, M.A. Fowler, J. Duhamel, R. Rein, N. Solladié, E. Rivera, *Langmuir* **28**, 11195 (2012)
33. T.C. Wang, N.A. Vermeulen, I.S. Kim, A.B.F. Martinson, J.F. Stoddart, J.T. Hupp, O.K. Farha, *Nat. Protoc.* **11**, 149 (2016)
34. S. Shanmugaraju, P.S. Mukherjee, *Chem. Commun. (Camb)* **51**, 16014 (2015)
35. M. Graetzel, J.K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 6885 (1973)
36. E. Miller, D. Józwick-Styczyńska, *Colloid Polym. Sci.* **285**, 1561 (2007)
37. J.M.G. Martinho, A.T. Reis e Sousa, M.E. Oliveira Torres, A. Fedorov, *Chem. Phys.* **264**, 111 (2001)
38. P. Beyazkılıç, A. Yıldırım, M. Bayindir, *Nanoscale* **6**, 15203 (2014)
39. M. Okamoto, F. Tanaka, *J. Phys. Chem. A* **106**, 3982 (2002)
40. M.W. Geiger, N.J. Turro, *Photochem. Photobiol.* **22**, 273 (1975)
41. X.-L. Ni, Y. Wu, C. Redshaw, T. Yamato, *Dalton Trans* **43**, 12633 (2014)
42. J.M.G. Martinho, *J. Phys. Chem.* **93**, 6687 (1989)
43. R.A. Beecroft, R.S. Davidson, D. Goodwin, J.E. Pratt, X.J. Luo, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **82**, 2393 (1986)
44. C.M. Cardona, T. Wilkes, W. Ong, A.E. Kaifer, T.D. McCarley, S. Pandey, G.A. Baker, M.N. Kane, S.N. Baker, F.V. Bright, *J. Phys. Chem. B* **106**, 8649 (2002)
45. G.R. Newkome, Z. Yao, G.R. Baker, V.K. Gupta, *J. Org. Chem.* **50**, 2003 (1985)
46. G.R. Newkome, A. Nayak, R.K. Behera, C.N. Moorefield, G.R. Baker, G. Newkome, A. Nayak, R. Behera, C. Moorefield, G. Baker, *J. Org. Chem.* **57**, 358 (1992)
47. G.R. Newkome, K.K. Kotta, C.N. Moorefield, *J. Org. Chem.* **70**, 4893 (2005)
48. G.R. Newkome, C.D. Weis, C.N. Moorefield, I. Weis, *Macromolecules* **30**, 2300 (1997)
49. C.D. Schmidt, N. Lang, N. Jux, A. Hirsch, *Chemistry (Easton)* **17**, 5289 (2011)
50. U. Hartnagel, D. Balbinot, N. Jux, A. Hirsch, *Org. Biomol. Chem.* **4**, 1785 (2006)
51. C. Ornelas, R. Lodescar, A. Durandin, J.W. Canary, R. Pennell, L.F. Liebes, M. Weck, *Chemistry (Easton)* **17**, 3619 (2011)
52. F. Spänig, M. Ruppert, J. Dannhäuser, A. Hirsch, D.M. Guldi, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 9378 (2009)
53. D.J. Berry, Y. Ma, J.R. Ballinger, R. Tavaré, A. Koers, K. Sunassee, T. Zhou, S. Nawaz, G.E.D. Mullen, R.C. Hider, P.J. Blower, *Chem. Commun. (Camb)* **47**, 7068 (2011)
54. E. Rivero-Buceta, E.G. Doyagüez, I. Colomer, E. Quesada, L. Mathys, S. Noppen, S. Liekens, M.-J. Camarasa, M.-J. Pérez-Pérez, J. Balzarini, A. San-Félix, *Eur. J. Med. Chem.* **106**, 34 (2015)
55. H. Destecroix, C.M. Renney, T.J. Mooibroek, T.S. Carter, P.F.N. Stewart, M.P. Crump, A.P. Davis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **54**, 2057 (2015)
56. T. Zhou, H. Neubert, D.Y. Liu, Z.D. Liu, Y.M. Ma, X.L. Kong, W. Luo, S. Mark, R.C. Hider, *J. Med. Chem.* **49**, 4171 (2006)
57. N. Dib, L. Fernández, L. Otero, M. Santo, M. Calderón, M. Martinelli, M. Strumia, *J. Inclusion Phenom. Macrocy. Chem.* **82**, 351 (2015)
58. L. Fernandez, M. Calderón, M. Martinelli, M. Strumia, H. Cerecetto, M. González, J.J. Silber, M. Santo, *J. Phys. Org. Chem.* **21**, 1079 (2008)
59. C. Ornelas, R. Pennell, L.F. Liebes, M. Weck, *Org. Lett.* **13**, 976 (2011)
60. M.C. Strumia, A. Halabi, P.A. Pucci, G.R. Newkome, C.N. Moorefield, J.D. Epperson, *J. Polym. Sci. Part A* **38**, 2779 (2000)
61. G.R. Newkome, K.S. Yoo, C.N. Moorefield, *Des. Monomers Polym.* **5**, 67 (2002)
62. A. Amin, R. Sarkar, C.N. Moorefield, G.R. Newkome, *Polym. Eng. Sci.* **53**, 2166–2174 (2013)
63. S. Zhao, A. Ramette, G.-L. Niu, H. Liu, N.-Y. Zhou, *FEMS Microbiol. Ecol.* **70**, 159 (2009)
64. P. Paramasivan, C. Lai, C. Pickard, M. Arden-Jones, E. Healy, P.S. Friedmann, *Br. J. Dermatol.* **162**, 594 (2010)