



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

CARACTERIZACIÓN TERMODINÁMICA Y ESTRUCTURAL DE ASOCIACIÓN DE
ÁCIDOS BORÓNICOS CON CATECOLES, LIGANTES NO DIOLES Y ANIONES.

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. MAYTE ABIGAIL MARTÍNEZ AGUIRRE

TUTOR: DR. ANATOLY K. YATSIMIRSKY
FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**CARACTERIZACIÓN TERMODINÁMICA Y ESTRUCTURAL DE
ASOCIACIÓN DE ÁCIDOS BORÓNICOS CON CATECOLES,
LIGANTES NO DIOLES Y ANIONES**

**T E S I S
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

DOCTORA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Mayte Abigail Martínez Aguirre

Tutor: Dr. Anatoly K. Yatsimirsky
Facultad de Química



Ciudad de México, Octubre 2018.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Jesús Valdés Martínez	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. José Norberto Farfán García	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Herbert Höpfl Bachner	UAEM, Morelos
Vocal	Dr. Jorge Tiburcio Baez	Cinvestav, IPN
Secretario	Dr. Julio César Aguilar Cordero	Instituto de Química, UNAM

TUTOR

Dr. Anatoly K. Yatsimirsky
Facultad de Química, UNAM

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio 213 de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, No. de becario 271108).

AGRADECIMIENTOS

- » A la Universidad Nacional Autónoma de México, por las facilidades otorgadas para la realización de estudios de posgrado.
- » Al Dr. Anatoly Yatsimirsky por su excelente asesoría, su confianza, motivación y sobre todo por ser un gran ejemplo como investigador y como persona.
- » A los integrantes del comité tutor, Dr. Herbert Höpfl Bachner y Dr. Ivan Castillo por sus comentarios y sugerencias a lo largo de la realización del presente trabajo.
- » A los integrantes del jurado: Dr. Jesús Valdés Martínez, Dr. José Norberto Farfán García, Dr. Herbert Höpfl Bachner, Dr. Jorge Tiburcio Baez y Dra. Elizabeth Gómez Pérez por sus observaciones y sugerencias en pro de la mejora del presente manuscrito.
- » Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de doctorado (No. de becario 271108) y a la red temática de Química Supramolecular (No. de Proyecto 281251).
- » Al Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM y al Programa de Apoyo de Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo para la asistencia al congreso 12-ISMSC.
- » Al Programa de Apoyo a la Investigación y Posgrado (PAIP 5000-9042).
- » A la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM, por los servicios otorgados.
- » Al Dr. Jorge Martín del Campo y Dr. Sigfrido Escalante por la realización de cálculos de estructuras teóricas.
- » Al Dr. Alejandro Dorazco por la síntesis de receptores ditópicos.
- » Al Dr. Marcos Flores por la resolución de estructuras cristalinas.

A mis abuelitos Carlos y Oti, que aunque no están conmigo físicamente, su amor y enseñanzas me acompañarán siempre.

PRESENTACIONES EN CONGRESOS

- » II Simposio Mexicano de Química Supramolecular, Puente de Ixtla, Morelos, Agosto 2014, con el título: "Autoensamble en agua de estructuras supramoleculares basadas en ésteres borónicos".
- » III Simposio Mexicano de Química Supramolecular, San Carlos, Nuevo Guaymas, Sonora, Octubre 2016, con el título: "Formación de ésteres borónicos tetraédricos neutros en medio acuoso".
- » 12° International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (12-ISMSC), Cambridge, Reino Unido. Julio 2017, con el título: "Formation of stable neutral tetrahedral complexes of phenylboronic acid with some N,O-ligands in water".
- » 52° Congreso Mexicano de Química 2017, México, Puerto Vallarta, Jalisco, Septiembre 2017, con el título: "Autoensamble de ácidos borónicos en medio acuoso".

PUBLICACIONES

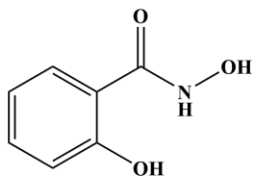
- » Mayte A. Martínez-Aguirre, Jorge M. del Campo, Sigfrido Escalante-Tovar, Anatoly K. Yatsimirsky, "Self-assembly and recognition properties of a tetraanionic macrocyclic boronate ester in aqueous medium", *RSC Adv.* **2015**, 5, 30075-30083.
- » Mayte A. Martínez-Aguirre, Anatoly K. Yatsimirsky, "Brønsted versus Lewis Acid Type Anion Recognition by Arylboronic Acids", *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 4985-4993.
- » Mayte A. Martínez-Aguirre, Diego Martínez Otero, Magali L. Álvarez-Hernández, Teresa Torres-Blancas, Alejandro Dorazco-González, Anatoly K. Yatsimirsky, "Anion and sugar recognition by 2,6-pyridinedicarboxamide bis-boronic acid derivatives", *Heterocycl. Commun.* **2017**, 23(3), 171-180.
- » Mayte A. Martínez-Aguirre, Marcos Flores-Álamo, Anatoly K. Yatsimirsky, "Thermodynamic and structural study of complexation of phenylboronic acid with salicylhydroxamic acid and related ligands", *Appl. Organometal Chem.* **2018**, 1-10.

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

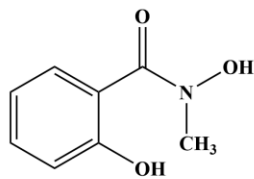
Å	Ångström
Abs	Absorbancia
ABFDB	Ácido bifenil 4,4'-diborónico
AFB	Ácido fenilborónico
AMDB	Ácido 1,3-bencendiborónico
AMF	2-(aminometil)fenol
A3NFB	Ácido 3-nitrofenilborónico
A4NFB	Ácido 4-nitrofenilborónico
APDB	Ácido 1,4-bencendiborónico
ARS	Rojo de alizarina S, (1,2-Dihydroxiantraquinona-3-sulfónico)
au	Unidades atómicas
β	Constante de formación acumulativa o global
BHA	Ácido benzohidroxámico
3-NO ₂ -BHA	Ácido 3-nitrobenzohidroxámico
3-NMe ₃ -BHA	Yoduro de 3-(hidroxiaminocarbonil)- <i>N-N-N</i> -trimetilbencenamónio
°C	Grados Celsius
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino)etanosulfónico
cps	Cuentas por segundo
δ	Desplazamiento químico
DHBDHA	Ácido 2,6-dihidroxi-1,4-benzodihidroxámico
DHBHA	Ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxámico
DHIF	2-(4,5-dihidro-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)fenol
DMSO	Dimetil sulfóxido
Eq	Equivalente
HFB	2-(2-hidroxifenil)-1 <i>H</i> -bencimidazol
K_a	Constante de acidez
K_{obs}	Constante de equilibrio observada
K_{trig}	Constante de equilibrio para especie trigonal

K_{tet}	Constante de equilibrio para especie tetragonal
λ	Longitud de onda
M	Molar
MES	Ácido 2-morfolinoetanosulfónico hidrato
MHz	Megahertz
μ M	Micromolar
mM	Milimolar
MOPS	Ácido 3-morfolinopropanosulfónico
nm	Nanómetros
pH	Cologaritmo de la concentración de iones hidronio
pK_a	Cologaritmo de la constante de acidez
pK_w	Cologaritmo de la constante de autoionización del agua
ppm	Partes por millón
PyPh	2-(2-hidroxifenil)-piridina
ρ	Constante de reacción en la ecuación de Hammett
RMN 1 H	Resonancia Magnética Nuclear de protón 1 H
RMN 13 C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 C
RMN 11 B	Resonancia Magnética Nuclear de boro 11 B
SAO	Salicilamidoxima
SH	Saliciloil hidracina
SHA	Ácido salicilhidroxámico
SHA-NMe	Ácido N-metil salicilhidroxámico (<i>N</i> -2-dihidroxi- <i>N</i> -metilbenzamida)
SHA-OMe	Ácido O-metil salicilhidroxámico (2-hidroxi- <i>N</i> -metoxibenzamida)
σ	Parámetro de Hammett para diferentes sustituyentes
TST	3, 3, 3',3'-tetrametil-1,1'-espirobiindano-5, 5', 6, 6'-tetraol
UV-Vis	Espectroscopia ultravioleta-visible

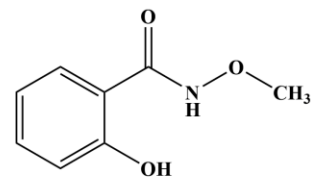
ESTRUCTURA Y CLAVE DE LIGANTES



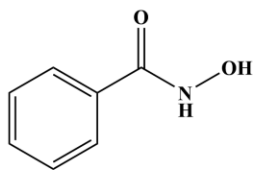
SHA



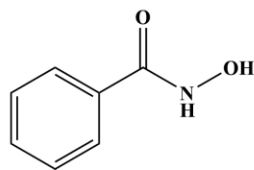
SHA-NMe



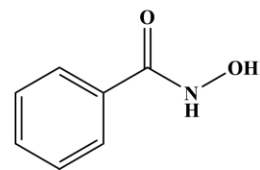
SHA-OMe



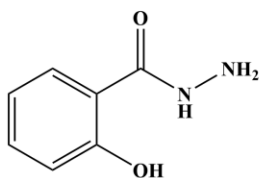
BHA



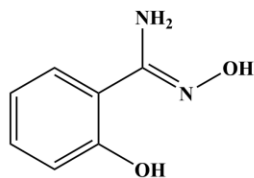
3-NO₂-BHA



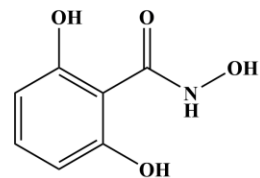
3-NMe₃-BHA



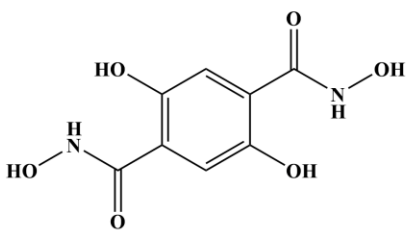
SH



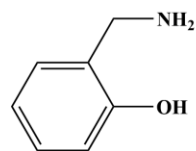
SAO



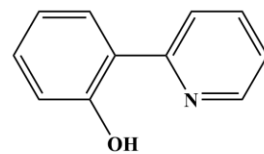
DHBHA



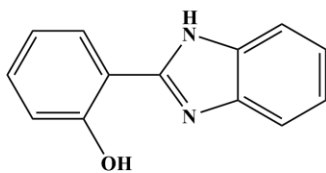
DHBDA



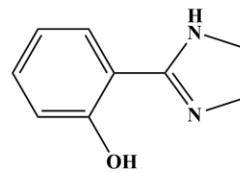
AMF



PyPh



HFB



DHIF

CONTENIDO

1.	RESUMEN.....	1
2.	ABSTRACT	3
3.	INTRODUCCIÓN	5
4.	ANTECEDENTES	7
4.1	Ácidos borónicos.	7
4.2	Interacción ácido borónico-diol: ésteres borónicos.	9
4.3	Geles y micelas basadas en la interacción ácido borónico-diol.....	11
4.4	Macrociclos basados en ésteres borónicos.	13
4.5	Autoensamble de macrociclos a partir de ácidos diborónicos y bis(dioles).....	15
4.6	Heterociclos derivados de ácidos borónicos.	17
4.7	Interacción Boro-Nitrógeno en ácidos borónicos.....	19
4.8	Interacción de ácidos borónicos con aniones.....	20
5.	OBJETIVOS.....	25
5.1	OBJETIVO GENERAL.....	25
5.2	OBJETIVOS PARTICULARES.....	25
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
6.1	Autoensamble de un ester boronato macrocíclico.....	26
6.2	Interacción de ácido fenilborónico con ligantes -N,O.....	42
6.3	Ácidos borónicos como receptores de aniones.	69
6.3.1	Resonancia Magnética Nuclear de ¹¹ B.	79
6.3.2	Constantes de asociación en Acetonitrilo.....	80
6.3.3	Titulaciones espectrofotométricas UV-Vis.....	85
6.4	Ácidos diborónicos como receptores ditópicos de aniones y azúcares.	89
7.	CONCLUSIONES.....	102

8.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	104
8.1	REACTIVOS.....	104
8.2	Potenciometría.....	104
8.3	Espectrofotometría UV-Vis y Fluorescencia.....	105
8.4	Resonancia Magnética Nuclear.....	106
8.5	Difracción de rayos X de monocristal.....	106
8.6	Síntesis de Ligantes.....	107
8.7	Síntesis de Complejos boronato.....	109
8.8	Síntesis de Receptores (R1-R3).....	111
9.	ANEXOS.....	113
9.1	Titulaciones potenciométricas, Estructuras y espectros de RMN- ¹ H de APDB, TST y de sus esteres derivados.....	113
9.2	Espectros ROESY.....	115
9.3	Titulaciones seguidas por RMN- ¹ H del macrociclo boronato M1 con diversos huéspedes.....	116
9.4	Cálculo de estructuras.....	119
9.5	Titulaciones espectrofotométricas.....	119
9.6	Espectros de Resonancia Magnética Nuclear.....	124
9.7	Datos Cristalográficos.....	137
9.8	Estructuras de Rayos X.....	140
9.9	Titulaciones seguidas por RMN- ¹ H de ácido fenilborónico con diferentes aniones.....	144
9.10	Espectros de RMN- ¹¹ B de ácido fenilborónico y 3-fenilborónico en ausencia y presencia de aniones.....	146
10.	REFERENCIAS.....	150
11.	PUBLICACIONES.....	157

1. RESUMEN

Se obtuvo un macrociclo tetraaniónico a partir del biscatecol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol y el ácido *para*-bencendiborónico en medio acuoso lo cual se corroboró mediante RMN de ^1H , ^{13}C y ^{11}B , además de espectrometría de masas. También se estudió la capacidad del macrociclo para reconocer diversas especies catiónicas orgánicas.

Se estudió también la formación de ésteres borónicos empleando diversos ligantes que involucran en su estructura un átomo donador y un grupo hidroxilo tales como, 2-(aminometil)fenol, 2-(2-hidroxifenil)-piridina, 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-bencimidazol, 2-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)fenol), además de 8 derivados del ácido benzohidroxámico. Las constantes de equilibrio se obtuvieron por potenciometría o espectrofotometría UV-Vis y fluorescencia, observando en algunos casos constantes de estabilidad con ácido fenilborónico mayores a 10^4 M^{-1} en agua a pH 7.

La caracterización de los ésteres borónicos formados a partir de dichos ligantes se realizó por resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C y ^{11}B ; además se obtuvieron cristales de buena calidad para la determinación estructural por difracción de rayos X de monocristal de cinco ésteres borónicos. Las distancias B-N y B-O observadas en las estructuras cristalinas varían según la basicidad del átomo donador y la acidez del grupo -OH en los ligantes.

Por otra parte se realizó un estudio de la interacción de ácidos arilborónicos con una serie de aniones en DMSO y MeCN, mediante resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{11}B , además de espectrofotometría. De acuerdo a los resultados obtenidos, los ácidos arilborónicos actúan como ácidos de Brønsted frente a aniones como AcO^- , Cl^- , Br^- y HSO_4^- , a través de una interacción de enlace de hidrógeno con los grupos hidroxilo -B(OH)₂. Las constantes de asociación para ácido fenilborónico con dichos aniones decrecen en el orden $\text{AcO}^- \gg \text{Cl}^- > \text{Br}^- \gg \text{HSO}_4^-$. Frente a otros aniones como F^- y H_2PO_4^- , los ácidos arilborónicos actúan como ácidos de Lewis, formando aductos tetraédricos con el centro de B(III).

Se observó además que el ácido 3-nitrofenilborónico reconoce aminoácidos en su forma de zwitteriones en DMSO como ácido de Brønsted, al interactuar mediante enlace de hidrógeno.

De manera adicional, se propusieron dos ácidos piridindicarboxidiamidabóronicos como receptores ditópicos, ya que por una parte poseen un sitio de reconocimiento para aniones, y por parte cuentan además con el grupo funcional ácido borónico para el reconocimiento de azúcares. Sin embargo, al observarse que el grupo $B(OH)_2$ actúa también como donador de enlace de hidrógeno hacia aniones, puede competir con el grupo piridindicarboxiamida como receptor de aniones. Con este estudio se observó que la asociación con cloruro ocurre únicamente con el sitio de piridindicarboxiamida mientras que la asociación con acetato involucra sólo el grupo funcional ácido borónico. Los receptores propuestos sirven como sensores colorimétricos para fructosa por método de desplazamiento del indicador.

2. ABSTRACT

The self-assembly in aqueous media of a [2+2] tetraanionic boronate ester macrocycle from a dicatechol, 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindane-5,5',6,6'-tetraol and 1,4-benzenediboronic acid was observed. It was confirmed by ^1H , ^{13}C , ^{11}B NMR and mass spectrometry. The capacity of the macrocycle to recognize several cationic species were tested.

The interaction between phenylboronic acid and some N,O-ligands, 2-(aminomethyl)phenol, 2-(2-pyridyl)phenol, 2-(2-hydroxyphenyl)-1H-benzimidazole, 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)phenol and eight benzohydroxamic acid derivatives studied by potentiometric and spectroscopic titrations in water results in formation of tetrahedral boronate complexes with stability constants as high as 10^4 M^{-1} at pH 7. The structures of complexes inferred from solution studies were confirmed by X-Ray crystal structure determinations of isolated compounds. The B-N and B-O distances observed in the complexes correlate with the basicity of the ligand nitrogen atom and the acidity of ligand -OH group.

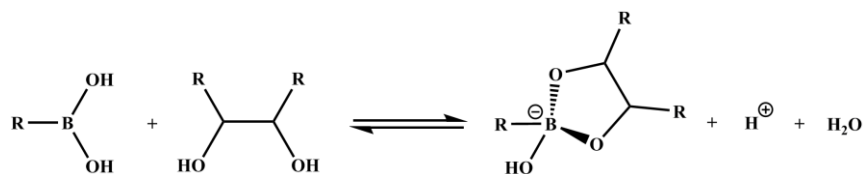
Furthermore, the interaction between phenylboronic acid and a series of anions as tetrabutylammonium salts in DMSO and CH_3CN were studied by ^1H and ^{11}B NMR as well as spectrophotometric titrations. Boronic acids act as Brønsted acid type receptors through hydrogen bonding with $\text{B}(\text{OH})_2$ hydroxyl groups toward Cl^- , Br^- , HSO_4^- and AcO^- . Stability constants measured for phenylboronic acid with these anions decrease in the order $\text{AcO}^- \gg \text{Cl}^- \gg \text{Br}^- \gg \text{HSO}_4^-$. On the other hand, boronic acids act as Lewis acid type receptors toward F^- and H_2PO_4^- , which form tetrahedral adducts with the B(III) center of boronic acids, although there is also evidence for some contribution of hydrogen bonding with these anions. 3-Nitrophenylboric acid recognizes amino acids as zwitterions in DMSO by formation of hydrogen-bonded complexes.

Additionally, two 2,6-pyridinedicarboxamide derivatives containing arylboronic acid fragments were proposed as bifunctional receptors for sugars and anions. As the $\text{B}(\text{OH})_2$

group acts also as a proton donor toward anions, it possibly may compete with a hydrogen bonding anion receptor like dicarboxiamide. Binding of chloride anion occurs via hydrogen bonding with dicarboxamide fragment while boronic acid groups respond to acetate anion. The proposed receptors could serve as colorimetric sensors for fructose by indicator displacement assay.

3. INTRODUCCIÓN

Los ácidos borónicos se usan ampliamente como bloques constructores de estructuras supramoleculares^[1] (macrociclos^[2], jaulas^[3], cápsulas moleculares^[4], estructuras porosas orgánicas covalentes^[5], polímeros^[6], etc.) a través de interacciones con centros donadores de electrones y/o formación reversible de ésteres con polioles en fase sólida o en disolventes no polares. Las interacciones de ambos tipos se debilitan drásticamente en medios acuosos donde el único tipo de interacción suficientemente fuerte es la formación de ésteres tetraédricos con dioles de acuerdo con la reacción mostrada en el Esquema 3.1.^[7]



Esquema 3.1: Formación de ésteres borónicos a partir de ácidos borónicos y 1,2-dioles.

Como es evidente del esquema anterior, el grado de formación del éster depende del valor de pH, siendo mayor a pH más alto. Esto permite la creación de materiales “*stimuli-responsive*” donde las estructuras supramoleculares son reversibles, ya que se forman a pH alto y se descomponen a pH bajo. Típicamente este tipo de materiales son geles o agregados de tensoactivos entrecruzados por formación de ésteres de ácidos borónicos con polioles.^[8] Con frecuencia como polioles se emplean azúcares, lo cual requiere valores de pH muy altos para desplazar el equilibrio de la reacción (ver Esquema 3.1) hacia la derecha y aún con valor de pH alrededor de 10 las constantes de formación observadas son todavía bajas. Se observa mayor afinidad con catecoles como dioles, los cuales poseen menores valores de pK_a y forman ésteres con estabilidad aceptable en un intervalo de pH entre 7 y 8; sin embargo los catecoles se oxidan en disolución y además sintéticamente no es fácil su incorporación en moléculas de estructuras adecuadas.

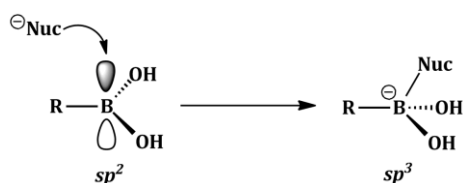
Puesto que en la literatura no se han informado casos de la formación de estructuras supramoleculares bien definidas por autoensamble de ácidos borónicos en medio acuoso el objetivo principal de este trabajo de investigación es el estudio termodinámico y estructural de la formación de ésteres en medio acuoso a partir de algunos ácidos diborónicos y un dicatcol, además de la búsqueda de otros ligantes que interactúen de manera similar a catecoles, pero con mayor estabilidad ante la oxidación que sufren estos en disolución.

Adicionalmente se aborda un estudio de la interacción de ácidos borónicos con aniones y se presentan dos ácidos dicarboxidiamidabóronicos como receptores de aniones y azúcares.

4. ANTECEDENTES

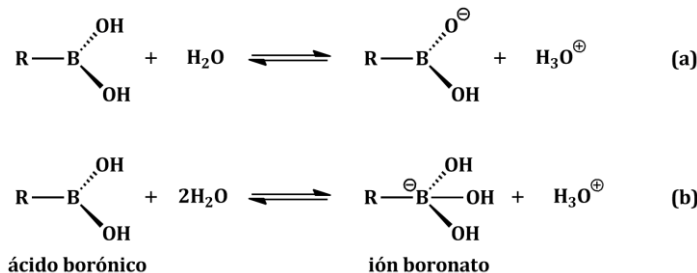
4.1 ÁCIDOS BORÓNICOS.

Los ácidos borónicos son compuestos organometálicos con una geometría trigonal plana que se caracterizan por tener un átomo de boro trivalente unido a un sustituyente alquilo o arilo y dos grupos hidroxilo (-OH). El átomo de boro con hibridación sp^2 posee un orbital p vacante lo cual confiere a los ácidos borónicos la propiedad de actuar como ácidos de Lewis, y por lo tanto pueden coordinarse a moléculas con pares de electrones libres formando aductos de geometría tetraédrica con hibridación sp^3 (Esquema 4.1).^[9]



Esquema 4.1: Cambio de geometría en el centro de boro por interacción de un ácido borónico con una base de Lewis.

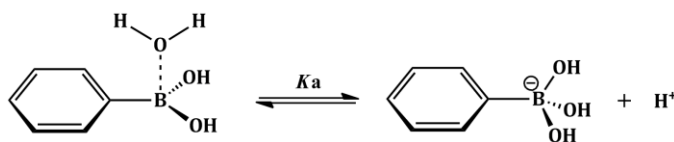
A pesar de que los ácidos borónicos tienen dos grupos hidroxilo, los cuales podrían conducir a la formación de iones hidrónio (H_3O^+), el carácter ácido de la mayoría de los ácidos borónicos no es de tipo Brønsted (a, Esquema 4.2), sino que en general, son ácidos de Lewis (b, Esquema 4.2).



Esquema 4.2: Equilibrios de ionización de ácidos borónicos en agua.

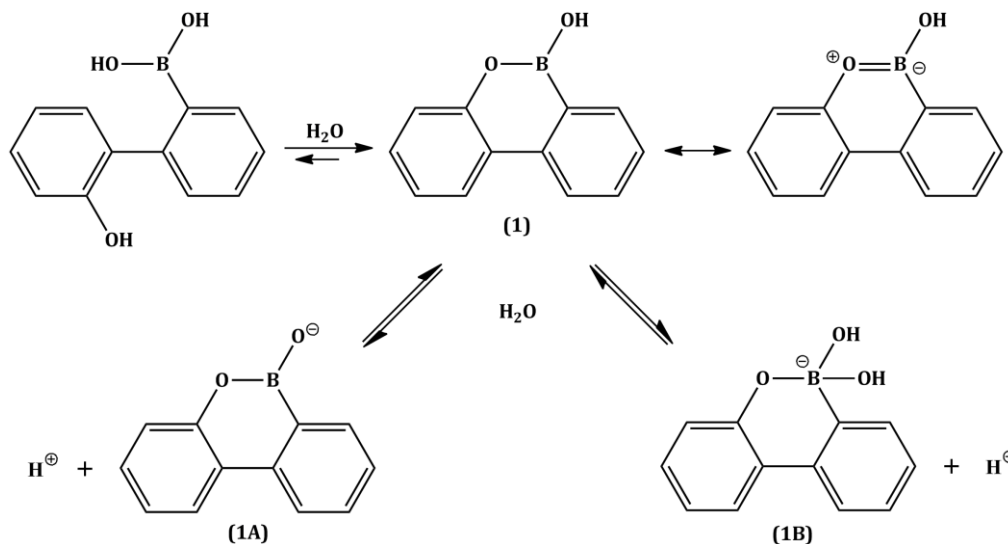
La estructura del ión boronato (base conjugada del ácido borónico) fue elucidada en 1959 por Lorand y Edwards^[7], quienes demostraron que la forma neutra trivalente está en equilibrio con la especie aniónica tetraédrica (b, Esquema 4.2), y no con la base de Brønsted relacionada estructuralmente (a, Esquema 4.2). Así, su habilidad para ionizar agua y formar iones hidronio (H_3O^+) es lo que caracteriza la acidez de la mayoría de los ácidos borónicos en agua.

Por ejemplo, para el ácido fenilborónico la acidez surge cuando se asocia a una molécula de agua formando de esta manera un boronato tetraédrico y liberando un protón, definiéndose de esta forma la constante de acidez K_a (Esquema 4.3). El cologaritmo de la constante de acidez ($\text{p}K_a$) para el ácido fenilborónico se encuentra en el intervalo de 8.7 y 8.9.^[10]



Esquema 4.3: Equilibrio ácido-base del ácido fenilborónico en agua.

Los ácidos borónicos exhiben acidez de tipo Brønsted solo en casos excepcionales donde la formación de un aducto boronato tetraédrico es altamente desfavorable. Por ejemplo, la coordinación de un ión hidróxido al átomo de boro en un derivado cíclico de ácido borónico (**1**) para formar (**1B**), puede romper el carácter parcial aromático del anillo central (Esquema 4.4). Con base en evidencias por RMN ^{11}B y espectroscopia UV, se sugiere que (**1**) actúa como ácido de Brønsted en agua y forma la base conjugada (**1A**) a través de la transferencia directa de protón.^[11]



Esquema 4.4: Equilibrio de ionización de un ácido borónico que actúa como ácido de Brønsted.

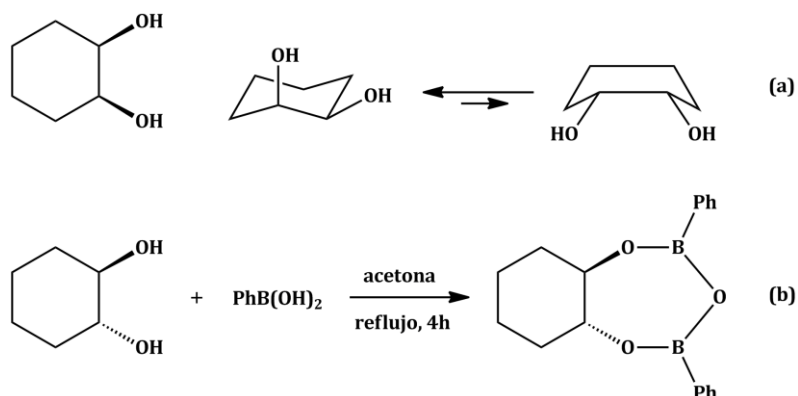
4.2 INTERACCIÓN ÁCIDO BORÓNICO-DIOL: ÉSTERES BORÓNICOS.

Los ácidos borónicos reaccionan de manera rápida y reversible con alcoholes formando ésteres borónicos. Con alcoholes simples, los productos son susceptibles a hidrólisis, pero con 1,2- y 1,3-dioles forman ésteres cíclicos (Esquema 3.1) lo suficientemente estables como para ser aislados.^[12]

Uno de los primeros trabajos de la formación de ésteres borónicos a partir de dioles y polioles, por Kuivila y colaboradores, describe la preparación de varios ésteres borónicos por reacción de ácido fenilborónico en agua con polioles, como manitol y sorbitol, y con 1,2-dioles, como catecol y pinacol. Los ésteres deseados precipitaron, con excepción del correspondiente éster cíclico derivado del *cis*-1,2-ciclohexanodiol que no se obtuvo y los autores racionalizaron esto último con base a la geometría desfavorable del sustrato diol. Así, en el caso del *cis*-1,2-ciclohexanodiol para que los dos grupos alcohol se encuentren orientados en el mismo plano, se requiere que el anillo de ciclohexano se encuentre en una conformación de bote (equilibrio (a) en Esquema 4.5); sin embargo, tal conformación no es favorable termodinámicamente.^[13]

Los ésteres fenilborónicos de *cis*-1,2-ciclopentanodiol y *cis*-1,2-ciclohexanodiol pueden ser aislados en condiciones anhidras, por ejemplo, reflujo de acetona.^[14] Sin embargo,

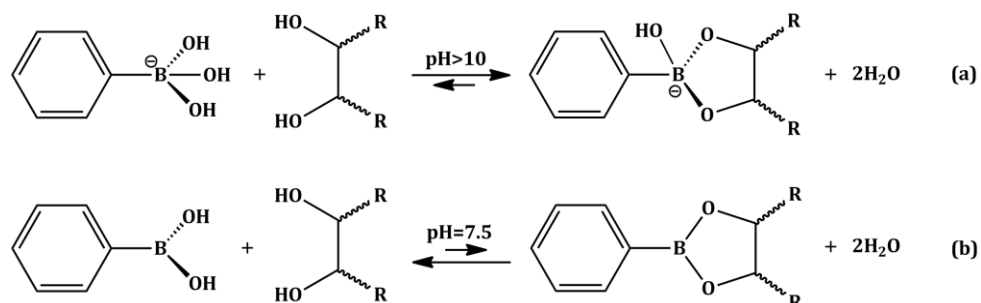
con los isómeros *trans* no ha sido posible la obtención de aductos 1:1, y, con base en análisis elemental y gracias a la determinación del peso molecular, se ha observado que dan lugar a la formación de aductos 1:2 (equilibrio **(b)** en Esquema 4.5). Esto último se explica en términos de la cantidad de energía requerida para que el isómero *trans* adopte una orientación coplanar, la cual podría incrementar la tensión del anillo y el impedimento estérico entre los átomos axiales.



Esquema 4.5: a) Conformaciones silla y bote del cis-1,2-ciclohexanodiol, b) Formación de un aducto 1:2 de éster borónico a partir de ácido fenilborónico y trans-1,2-ciclohexanodiol.

Lorand y Edwards^[7] estudiaron el equilibrio de complejación entre el ácido fenilborónico con diversos dioles y monosacáridos usando el método de depresión de pH, demostrando con tal estudio que la formación de ésteres borónicos se favorece en disoluciones con un valor alto de pH, donde el ión boronato ($\text{PhB}(\text{OH})_3^-$) existe en mayor concentración (equilibrio **(a)** en Esquema 4.6). Además, los ácidos borónicos libres tienen menor carácter ácido de Lewis que sus complejos neutros con 1,2-dioles. Por ejemplo, el valor de $\text{p}K_a$ del ácido fenilborónico, $\text{PhB}(\text{OH})_2$, decrece de 8.8 a 6.8 y 4.6 después de la formación de sus ésteres cíclicos con glucosa y fructosa, respectivamente.^[15] Para explicar el efecto termodinámico favorable observado a pH alto (equilibrio **(a)** en Esquema 4.6), en comparación con lo que ocurre a pH neutro (equilibrio **(b)** en Esquema 4.6), se propuso que la formación de los complejos hidroxiboronato de 1,2-dioles está acompañada por una significativa liberación de la

tensión angular, como resultado de la rehibridación del átomo de boro de sp^2 a sp^3 (con ángulo de enlace de 120° a 109°).^[7]



Esquema 4.6: Equilibrio de formación de ésteres borónicos a pH alto (a) y pH neutro (b).

4.3 GELES Y MICELAS BASADAS EN LA INTERACCIÓN ÁCIDO BORÓNICO-DIOL.

El grupo de Harada ha preparado geles de poliacrilamida con unidades de ácido fenilborónico (gel PB) y con unidades catecol (gel CAT) con el fin estudiar la interacción macroscópica entre los dos tipos de geles.^[8d] El ensamble y desensamble de los geles PB-CAT es dependiente del valor de pH en el medio y de la presencia o ausencia de algún monosacárido que compite por las unidades de ácido fenilborónico en el gel PB (Figura 4.1). En dicho trabajo también se observó que la fuerza de adhesión entre los geles PB-CAT decrecía conforme aumentaba el tiempo de inmersión del gel CAT en una disolución de pH 10 como consecuencia de la oxidación de las unidades catecol.

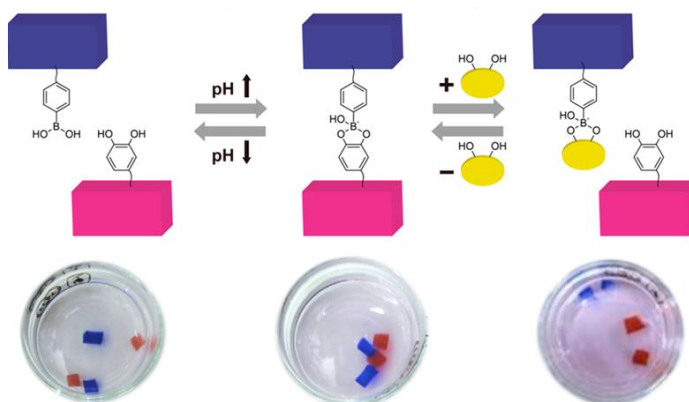


Figura 4.1: Ensamble y desensamble a escala macroscópica de geles con unidades de ácido fenilborónico y catecol.^[8d]

En la literatura se encuentran informes de micelas que encapsulan fármacos, los cuales pueden liberarse en un sitio específico en respuesta a un valor de pH bajo (<5.5) o por presencia de dioles competitivos como manitol. Tal es el caso del trabajo de Wang y colaboradores, en el que emplean la interacción reversible ácido fenilborónico-catecol para obtener micelas “*stimuli-responsive*”. Después de verificar la estabilidad de dichas micelas, encapsulan en ellas paclitaxol, un fármaco empleado para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer (Figura 4.2).^[16]

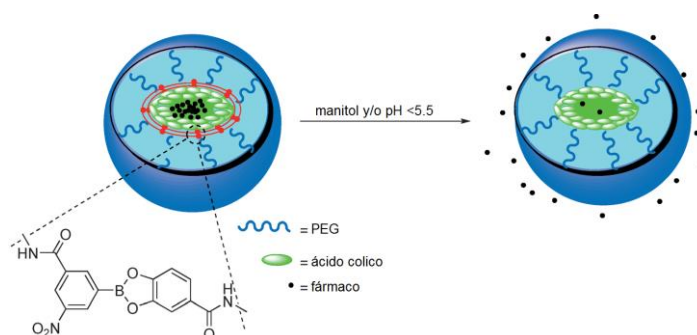


Figura 4.2: Estructura de micelas entrecruzadas, basadas en la formación de ésteres borónicos, y liberación de un fármaco en respuesta de la presencia de manitol o pH ácido.^[16]

Otro ejemplo de micelas basadas en la interacción ácido fenilborónico-catecol es el informado por Shi y colaboradores, quienes prepararon micelas polianiónicas para encapsular y liberar proteínas, con aplicaciones terapéuticas, dentro del citoplasma de células cancerígenas (Figura 4.3).^[17]

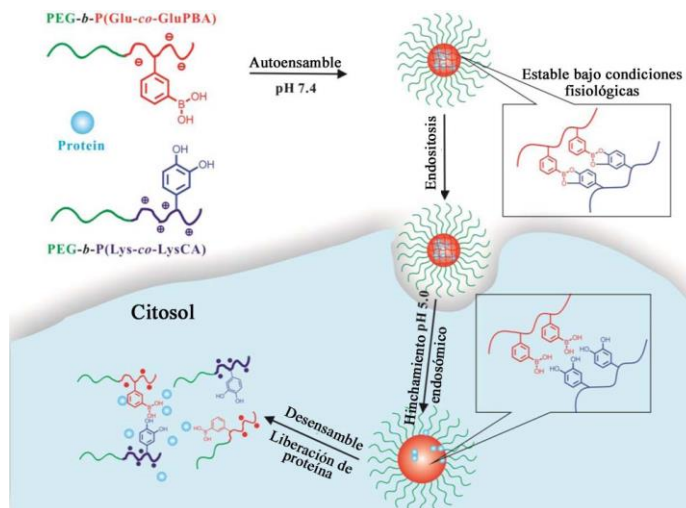


Figura 4.3: Proteína encapsulada dentro de una micela y su liberación intracelular por efecto del cambio de pH.^[17]

4.4 MACROCICLOS BASADOS EN ESTERES BORÓNICOS.

Robson y colaboradores han empleado un ligante rígido quiral con dos unidades catecol, 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-spirobindano-5,5',6,6'-tetraol (LH₄, Figura 4.4), para generar macrociclos organoboratos tri- o tetra-aniónicos al hacer reaccionar dicho ligante con trimetilborato en metanol y en presencia de aminas. Con el ligante desprotonado (L⁻⁴) se generan macrociclos aniónicos derivados de boro con diversos contra cationes, por ejemplo en presencia de trietilamina se obtiene un macrociclo triangular [B₃L₃]³⁻ y uno cuadrangular [B₄L₄]⁴⁻ (Figura 4.5).^[18]

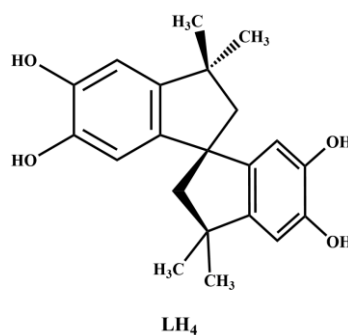


Figura 4.4: 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindano-5,5',6,6'-tetraol.

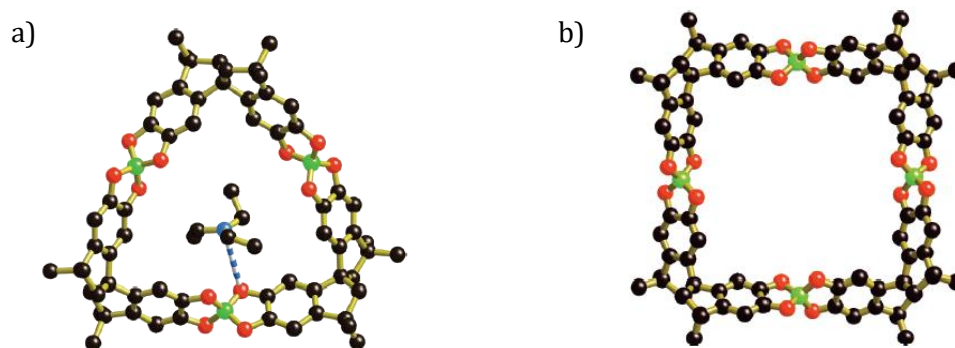
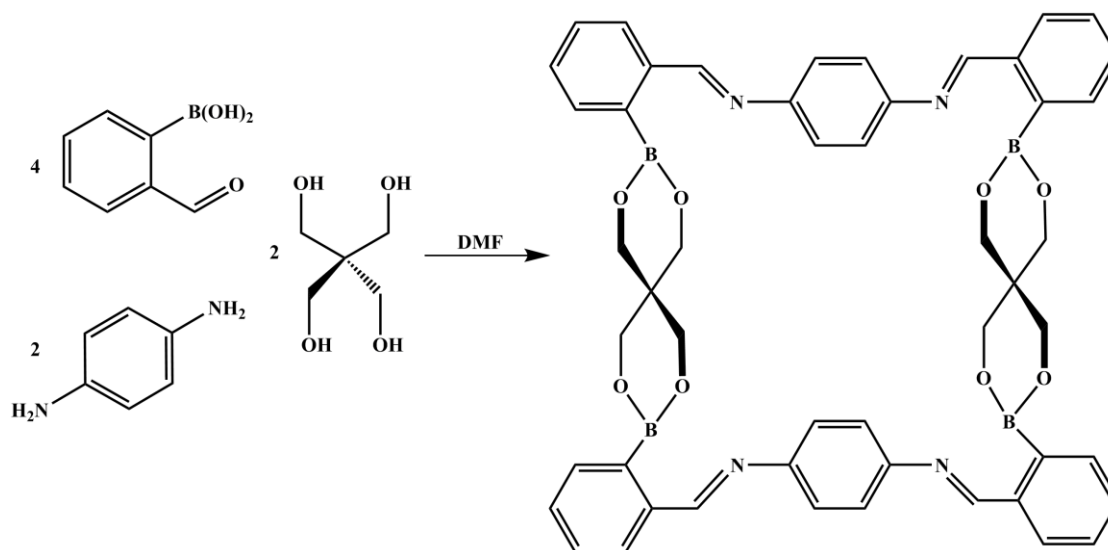


Figura 4.5: Macrociclos organoboratos a) triangular $[B_3L_3]^{3-}$ y b) cuadrangular $[B_4L_4]^{4-}$ derivados de 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindano-5,5',6,6'-tetraol.^[18]

Nitschke, et. al. informaron la formación de un macrociclo por reacción multicomponente empleando el ácido 2-formilfenilborónico, pentaeritritol y 1,4-diaminobenceno en dimetilformamida (DMF) (Esquema 4.7).^[19]



Esquema 4.7: Formación de un macrociclo en una reacción de condensación $[4+2+2]$.

4.5 AUTOENSAMBLE DE MACROCICLOS A PARTIR DE ÁCIDOS DIBORÓNICOS Y BIS(DIOLES).

Empleando un poliol, con dos unidades 1,2-diol (tetraol derivado de *s*-indaceno, Figura 4.6), y diferentes ácidos diborónicos, Iwasawa y colaboradores han obtenido diversos macrociclos por autoensamble en disolventes orgánicos. [20]

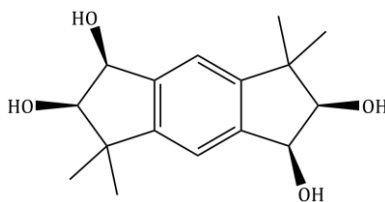
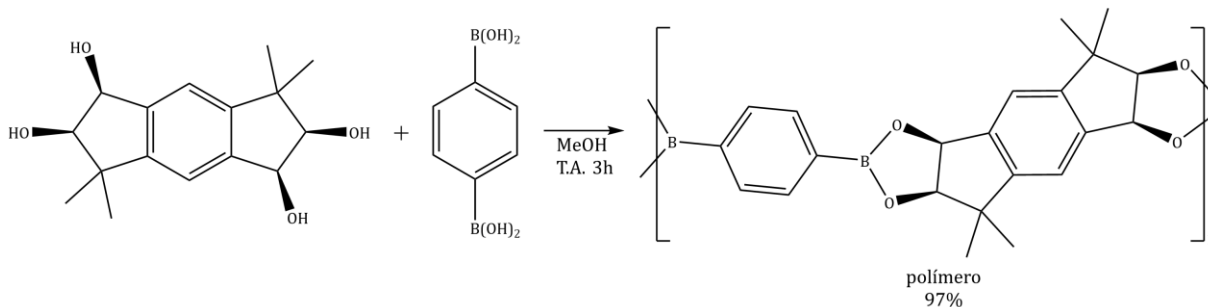


Figura 4.6: Tetraol derivado de *s*-indaceno empleado por Iwasawa y colaboradores para el autoensamble de macrociclos.

La interacción del tetraol (Figura 4.6), con el ácido 1,4-bencendiborónico en metanol da un producto polimérico (Esquema 4.8); sin embargo cuando el proceso se realiza en presencia de co-solventes aromáticos se promueve la formación de diferentes macrociclos con moléculas de co-solvente atrapados como huéspedes incluidos en la cavidad de los macrociclos. Las estructuras de tales compuestos de inclusión fueron determinadas por difracción de rayos X (Figura 4.7). [20b]



Esquema 4.8: Autoensamble de un tetraol, derivado de *s*-indaceno, y ácido 1,4-bencendiborónico en metanol.

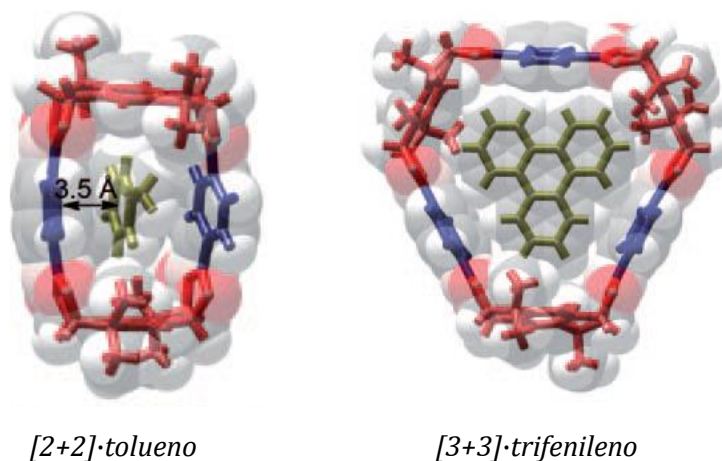
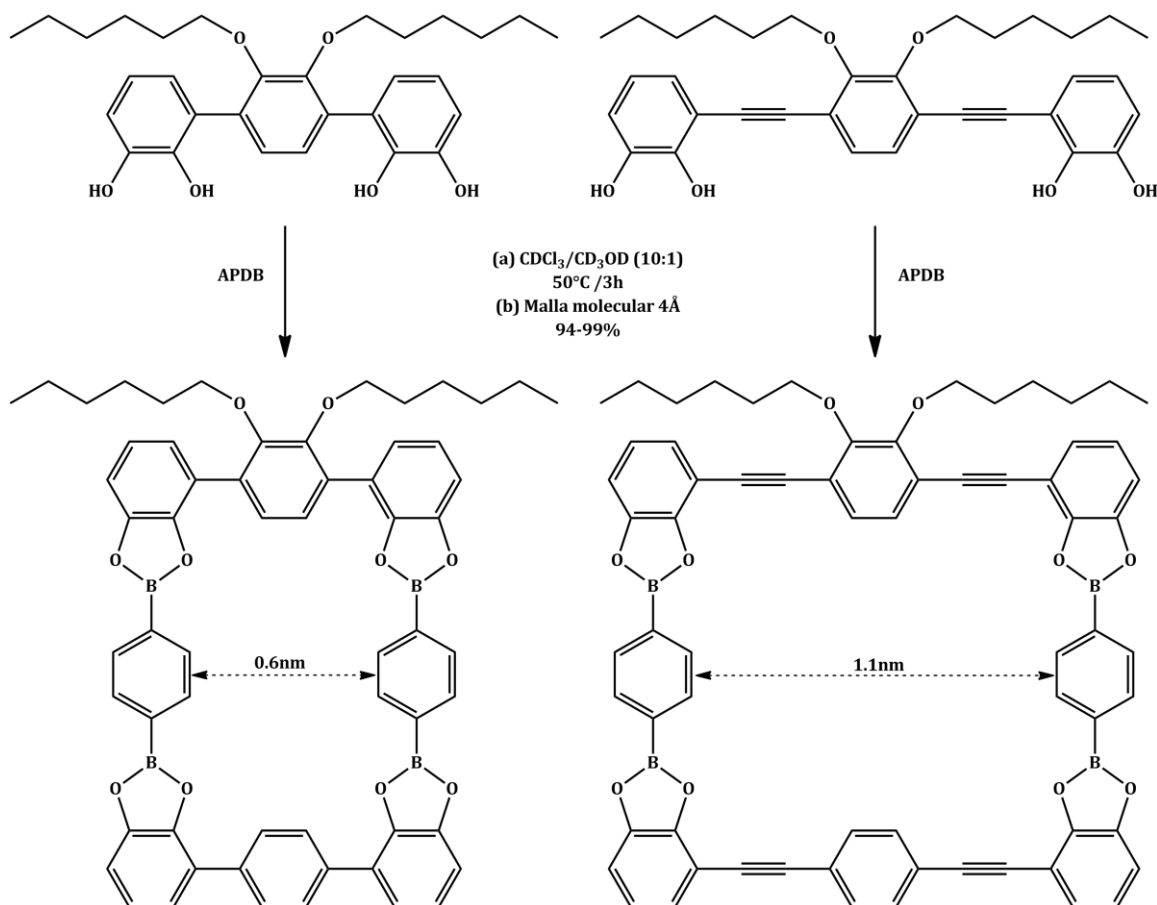


Figura 4.7: Estructura de Rayos X de macrociclos basados en ésteres borónicos con moléculas de disolvente (tolueno o trifenileno) incluidas en su cavidad. ^[20b]

Otra serie de macrociclos auto-ensamblados fue informada por el grupo de Northrop; en el Esquema 4.9 se presenta la formación de macrociclos en forma de rectángulos a partir del ácido 1,4-bencendiborónico (APDB) y dos dicatécotes con diferentes espaciadores rígidos.^[24] El proceso no ocurre empleando solo cloroformo, ya que el ácido borónico se transforma en una boroxina[†]. La adición de 10% de metanol resuelve el problema y después de tres horas a 50°C la disolución está equilibrada, sin embargo, con un bajo rendimiento de los macrociclos. Para desplazar el equilibrio hacia la formación de ésteres borónicos macrocíclicos se aplicaron mallas moleculares para sustraer agua y metanol. Las estructuras de macrociclos fueron corroboradas por espectroscopia RMN-¹H, radiación infrarroja y espectrometría de masas.

[†] Las boroxinas, B₃O₃, son anillos de seis miembros generados por auto-condensación de tres moléculas de ácido borónico.



Esquema 4.9: Síntesis de macrociclos basados en ésteres borónicos por autoensamble de dicatécotes con el ácido 1,4-bencendiborónico.^[21]

4.6 HETEROCICLOS DERIVADOS DE ÁCIDOS BORÓNICOS.

Se han descrito numerosos heterociclos derivados de ácidos borónicos, por ejemplo, benzodiazaboroles productos de 1,2-fenilendiamina y ácidos borónicos formados en reflujo de tolueno (Figura 4.8).^[22] La inusual estabilidad de los aductos en la Figura 4.7 es sorprendente en términos termodinámicos ya que, la energía del enlace covalente B-O es más alta que la energía del enlace B-N, por lo tanto se ha sugerido que la geometría favorable de la 1,2-fenilendiamina, así como la estabilidad del resultante anillo de 5 miembros, son los factores responsables de la favorable formación de dichos aductos.

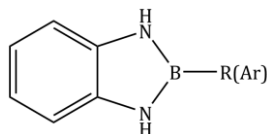


Figura 4.8: Aductos de 1,2-fenilendiamina y ácidos borónicos.

En la literatura también se encuentra informado el producto de adición entre ácido antranílico y ácido fenilborónico (Figura 4.9).^[23] Además los aductos entre ácidos arilborónicos y ácido salicilhidroxámico se han propuesto como componentes de un sistema para bioconjugación.^[24]

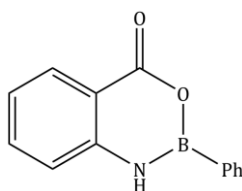


Figura 4.9: Aducto de ácido antranílico y ácido fenilborónico.

La condensación entre ácidos borónicos y aminoalcoholes en condiciones anhidras da lugar a la formación de oxazaborolidinas, por ejemplo las oxazaborolidinas quirales derivadas de aminoácidos (Figura 4.10a) que se emplean como catalizadores y agentes para la reducción enantioselectiva de cetonas y derivados de iminas.^[25] Algunas oxazaborolidinonas derivadas del aminoácido triptófano N-sulfonilado (Figura 4.10b), se han empleado como ácidos de Lewis quirales en diversas transformaciones sintéticas.^[26]

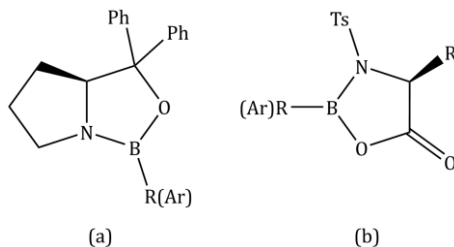


Figura 4.10: Estructura de (a) oxazaborolidinas y (b) oxazaborolidinonas.

4.7 INTERACCIÓN BORO–NITRÓGENO EN ÁCIDOS BORÓNICOS.

Datos computacionales estiman que la interacción boro–nitrógeno es de 13 kJ mol^{-1} ó menor en ausencia de disolvente.^[27] Así, la energía de la interacción $\text{N}\cdots\text{B}$, es aproximadamente la misma que la de un enlace de hidrógeno y es mucho más baja que la energía del enlace dativo $\text{N}\rightarrow\text{B}$ de $58\text{-}152 \text{ kJ mol}^{-1}$.^[28]

Anslyn y colaboradores han realizado investigaciones detalladas de la interacción $\text{N}\cdots\text{B}$ en sistemas *o*-(*N,N*-dialquil aminometil)arilboronato.^[29] Mediante mediciones espectroscópicas de RMN- ^{11}B y datos cristalográficos de rayos X han observado que el enlace dativo $\text{N}\rightarrow\text{B}$ está comúnmente presente en medios apróticos; mientras que, en disolventes próticos, la inserción de disolvente en el enlace $\text{N}-\text{B}$ ocurre, conduciendo a la formación de especies zwitteriónicas (Figura 4.11). Así, de acuerdo a las investigaciones del grupo de Anslyn y otros, la interacción $\text{N}\cdots\text{B}$ se puede atribuir en muchos casos a una interacción de enlace de hidrógeno mediada a través de una molécula de disolvente unido (Figura 4.12).^[30]

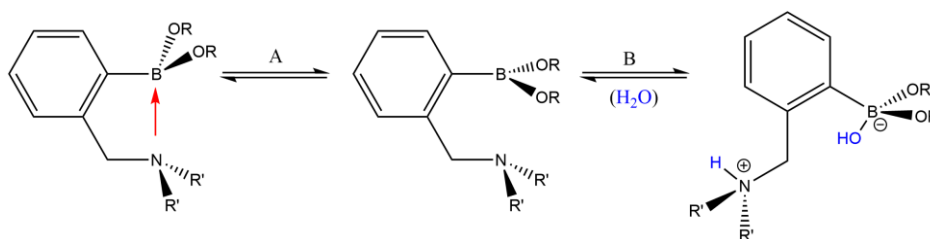


Figura 4.11: Tres estructuras posibles del éster *o*-(*N,N*-dialquilaminometil)fenilborónico (o del ácido cuando *R* es un protón). (A) Formación de enlace dativo $\text{N}\rightarrow\text{B}$ en disolventes apróticos, (B) proceso competitivo de solvólisis en medio acuoso o disolventes próticos.

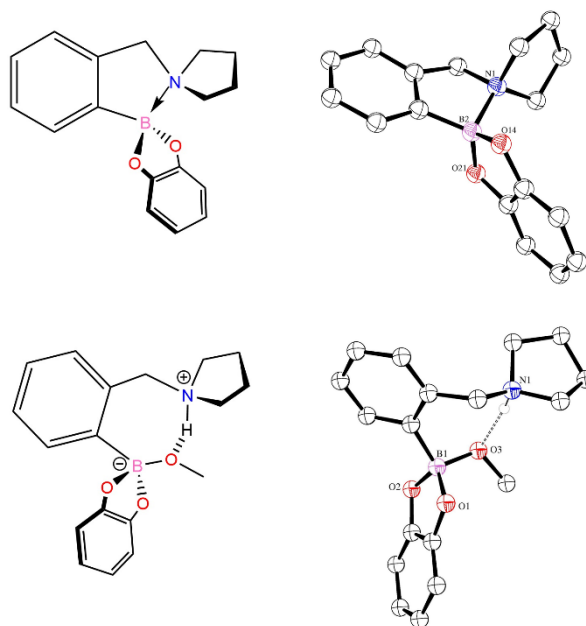


Figura 4.12: Estructuras de un éster *o*-(*N,N*-dialquilaminometil)fenilborónico donde se muestra la presencia de un enlace dativo $N \rightarrow B$ (parte superior) y la inserción de disolvente (metanol) en el enlace $N-B$ (parte inferior).^[29]

4.8 INTERACCIÓN DE ÁCIDOS BORÓNICOS CON ANIONES.

En estado sólido, a través de cristalografía de rayos X de monocristal, se han observado estructuras que presentan enlaces de hidrógeno en las cuales los grupos hidroxilo de los ácidos borónicos actúan como donadores de hidrógeno al interactuar con aniones carboxilato. Por ejemplo, en la estructura cristalina de *L-p*-boronofenilalanina (Figura 4.13) se observa que uno de los átomos de hidrógeno del grupo $-B(OH)_2$ participa en una interacción de enlace de hidrógeno con el grupo carboxilato.^[31]

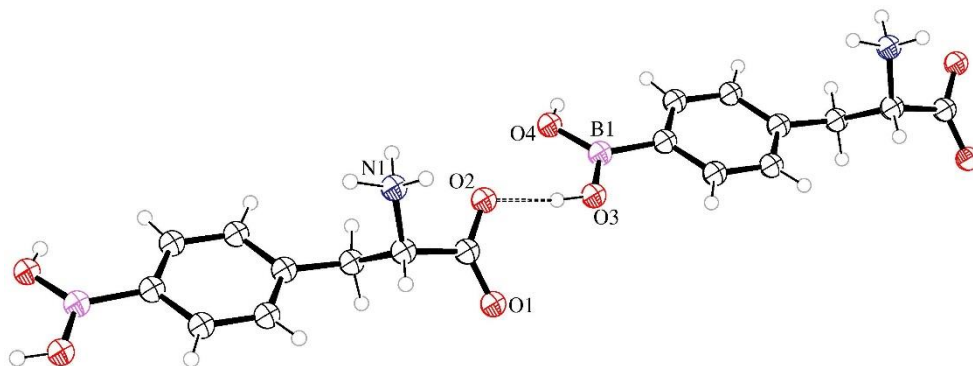


Figura 4.13: Enlace de hidrógeno entre el grupo borónico y el grupo carboxilato de dos moléculas de *L-p*-boronofenilalanina.^[31]

Con base en lo anterior, diferentes estructuras estabilizadas por interacciones de enlace de hidrógeno entre ácidos borónicos y aniones carboxilato se han obtenido por diversos grupos de investigación.^[32] Höpfl y colaboradores predijeron que el sistema $\text{Ph-B(OH)}_2 \cdots ^-\text{OOC-Ph}$ sería muy estable (-42.8 kcal/mol) y obtuvieron complejos de ácidos fenilborónicos con benzoato de tetrabutilamonio en los cuales se observa la interacción ácido borónico-carboxilato asistida por carga (Figura 4.14).^[32a]

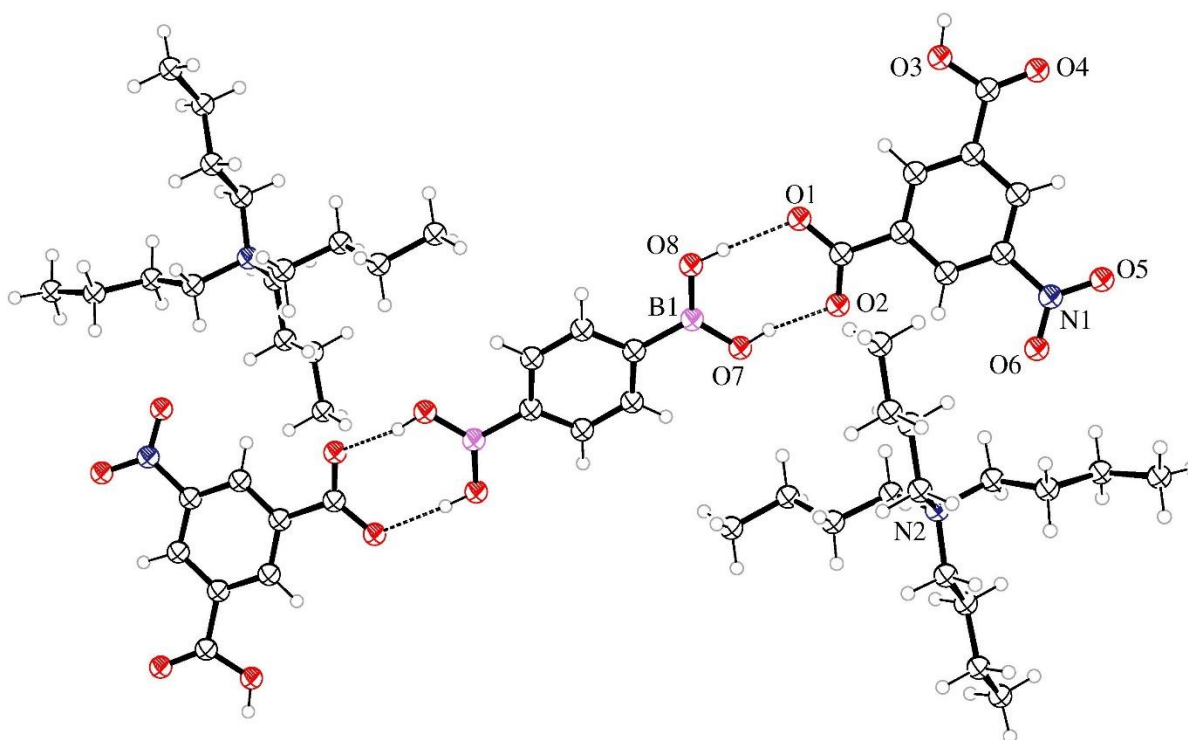


Figura 4.14: Enlace de hidrógeno entre el grupo borónico y el grupo carboxilato en cristales obtenidos al mezclar 1 equivalente del ácido 1,4-bencendiborónico y 5-nitrohidrogenisofalato de tetrabutilamonio en dimetilformamida.^[32a]

Los ensambles supramoleculares en estado sólido del ácido 4-carboxifenilborónico con 4-dimetilaminopiridina, la oxima de 4-acetilpiridina y 2-metilimidazol, dan evidencia de que el sintón ácido borónico-carboxilato es capaz de competir fuertemente con un amplio número de interacciones.^[32b]

Otro ejemplo de la interacción ácido borónico-carboxilato, es proporcionado por el análisis cristalográfico de la sal formada por la cristalización en metanol del ácido

4-carboxibencenborónico y ciclopentilamina en una relación 1:1 que permite observar enlaces de hidrógeno entre el grupo funcional ácido borónico y el anión carboxilato (Figura 4.15).^[32d]

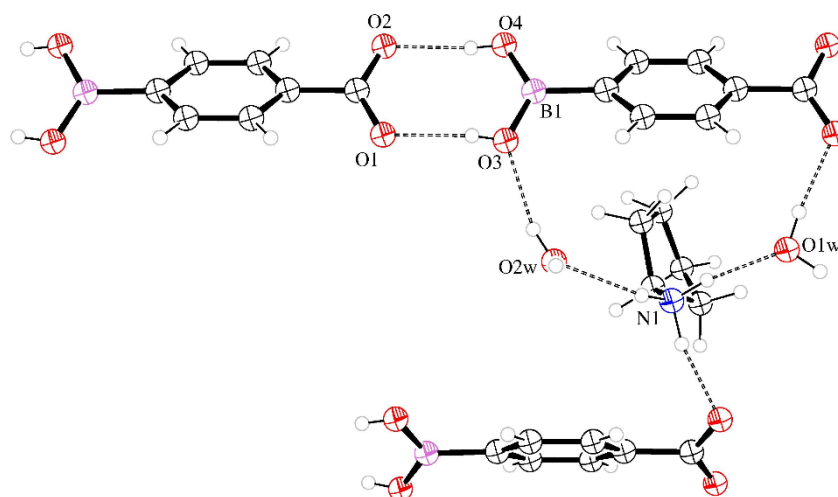


Figura 4.15: Enlaces de hidrógeno entre ácido borónico y el anión carboxilato.^[32d]

Por otra parte, los ácidos borónicos forman aductos con iones básicos como cianuro^[33] y fluoruro^[34] al unirse covalentemente al átomo de boro que actúa como ácido de Lewis.

Con base en lo anterior, se han preparado diversos quimiosensores para fluoruro basados en ácidos borónicos por ejemplo, James y colaboradores estudiaron diferentes ácidos borónicos aromáticos (Figura 4.16) como sensores fluorescentes de fluoruro, los cuales muestran apagamiento selectivo de su fluorescencia en disolución agua-metanol (50% v/v) a pH 5.5 por la adición del anión.^[35] En el caso del ácido borónico con un grupo amina terciaria (Figura 4.16), la sensibilidad hacia al anión fluoruro es mayor debido a que por la parcial protonación del grupo amino a pH 5.5, se crea un sitio de enlace de hidrógeno adicional para fluoruro; tal compuesto puede detectar concentraciones de F^- en el intervalo de 5-30 mM.

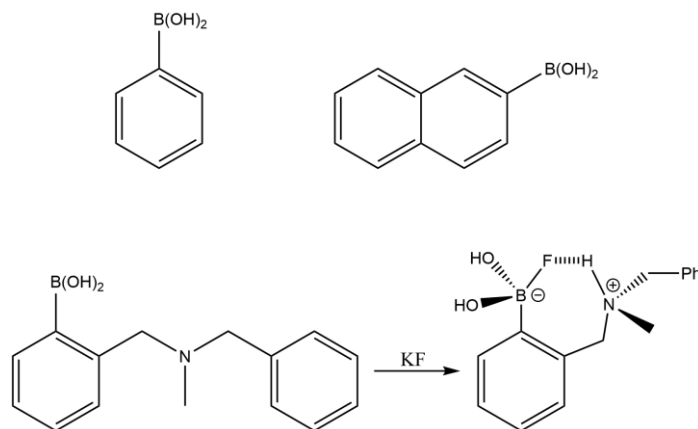


Figura 4.16: Ácido borónicos estudiados por James y colaboradores como sensores de fluoruro.^[35]

El compuesto azo con una unidad de ácido borónico mostrado en la Figura 4.17 también fue propuesto como sensor colorimétrico de fluoruro ya que, tal colorante sufre un cambio de color, de naranja a rojo vino al titularse con fluoruro de potasio en metanol.^[36]

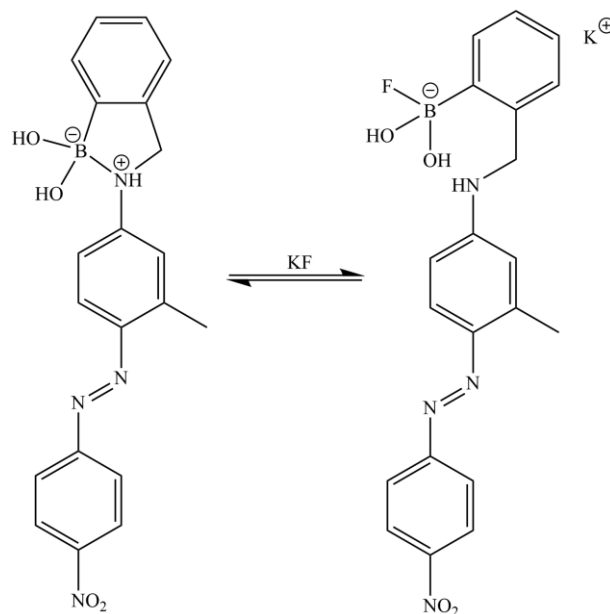


Figura 4.17: Sensor colorimétrico de fluoruro, el cual vira de naranja a rojo vino al adicionarse el anión.^[36]

Otro tipo de compuestos con un grupo ácido fenilborónico unido a través de un metileno puente a un ión naftoimidazolío fueron desarrollados, por Yoon y colaboradores, como sensores fluorescentes para ion fluoruro (Figura 4.18).^[37] El sensor con el grupo ácido

borónico en posición *orto* exhibe un cambio de fluorescencia selectivo y ratiométrico en presencia de F^- y no de otros iones tales como Cl^- , Br^- , $CH_3CO_2^-$, HSO_4^- y $H_2PO_4^-$. La presencia del ácido borónico en la posición *orto* facilita la interacción del ión fluoruro con el catión imidazolio, mientras que en las posiciones más distantes (*meta* y *para*) se dificulta la interacción de enlace de hidrógeno $(imidazolio-H)^+ \cdots F^-$.

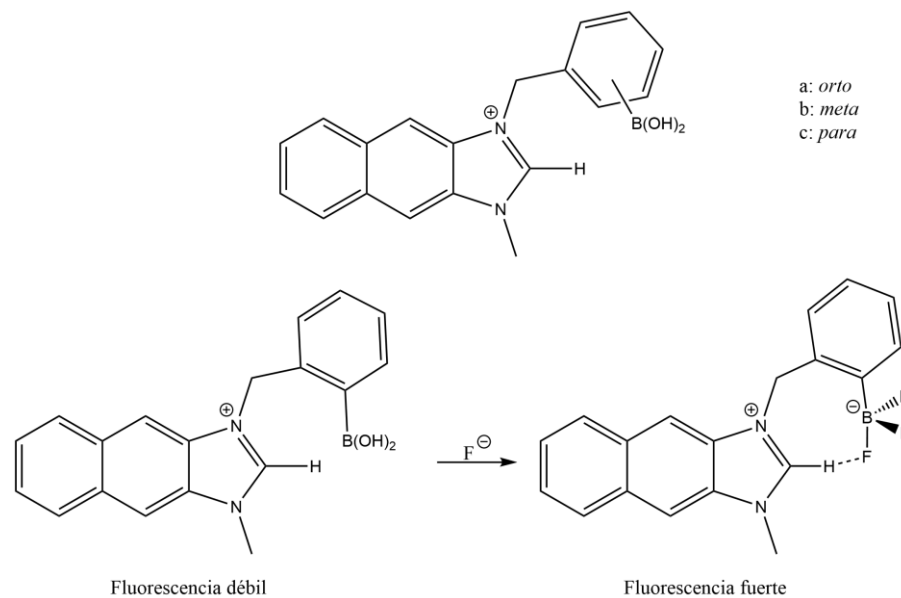


Figura 4.18: Estructura del sensor ácido borónico-imidazolio preparado por Yoon y colaboradores y la propuesta del modo de unión con el anión fluoruro.^[37]

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL.

Realizar un estudio termodinámico y estructural de la asociación de ácidos borónicos con catecoles, ligantes -N,O y aniones.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

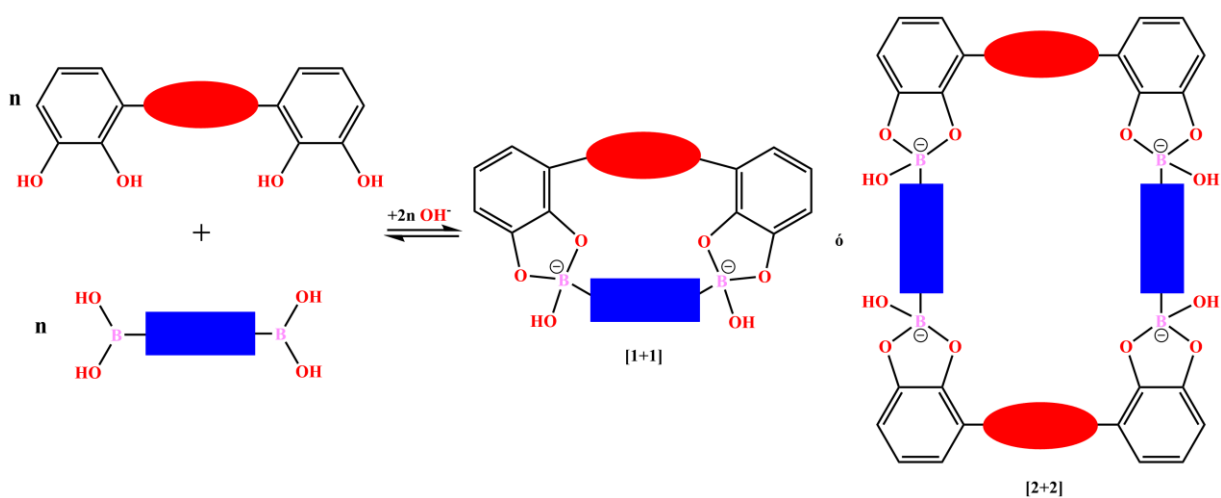
1. Realizar un estudio de autoensamble en agua de ácidos diborónicos con un dicatocol comercial, 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol, relativamente estable contra auto-oxidación en disolución.
2. Evaluar la capacidad de la estructura autoensamblada para formar complejos de inclusión con moléculas de interés biológico.
3. Encontrar otros ligantes adecuados para autoensamble con ácidos borónicos en medio acuoso.
4. Realizar un estudio de la interacción de ácidos fenilborónicos con aniones en disolventes orgánicos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 AUTOENSAMBLE DE UN ESTER BORONATO MACROCÍCLICO.

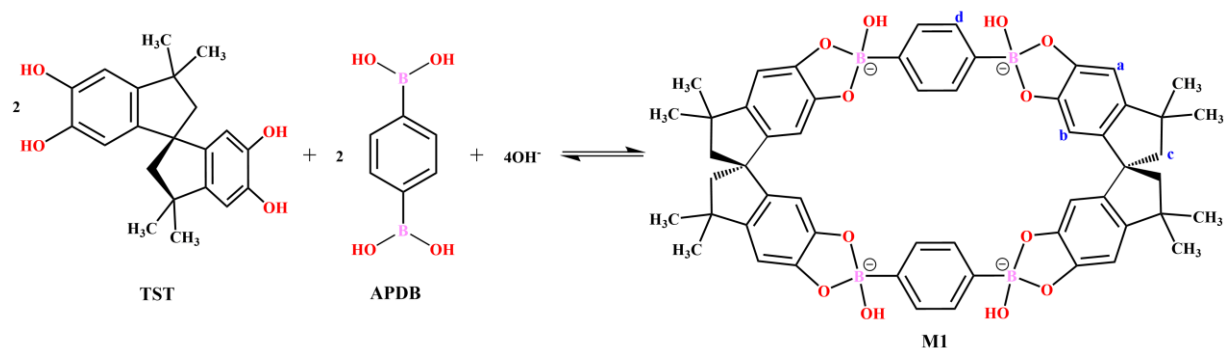
Anteriormente se realizó un estudio de la formación de ésteres borónicos en disolución acuosa con 50% de DMSO a partir de algunos ácidos diborónicos y el dicatcol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol (TST).^[38] En dicho estudio se observó la formación de ésteres con ambos grupos borónicos, indicando la viabilidad de generar estructuras supramoleculares, macrociclos $[n+n]$, por autoensamble en medio acuoso, como se muestra en el Esquema 6.1. La formación de macrociclos tetra-aniónicos a partir del dicatcol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol y los ácidos 1,4-bencendiborónico (APDB) o bifenil 4,4'-diborónico en mezcla Agua/DMSO (1:1, v/v) se corroboró mediante titulaciones potenciométricas y RMN-¹H.

De los datos de titulaciones seguidas por potenciometría y RMN-¹H, realizados en disolución acuosa con 50% de DMSO, se observó la formación de un producto final con estequiometría 2:2:4 (TST:APDB:OH⁻), con la formación de productos intermedios con estequiometría 1:1:1 y 2:2:3, correspondientes a los ésteres borónicos acíclicos (ver anexo 9.1).



Esquema 6.1: Proceso de autoensamble entre un dicatcol y un ácido diborónico.

Dicho lo anterior, para el presente estudio se eligió el sistema ácido 1,4-bencendiborónico-TST, el cual da lugar a la formación de un macrociclo tetra-aniónico (**M1**, Esquema 6.2) lo suficientemente estable hacia la auto-oxidación.



Esquema 6.2: Reacción entre el bis-catecol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol y el ácido 1,4-bencendiborónico.

Para el autoensamble de dicho macrociclo **M1** se siguió el siguiente procedimiento: A una disolución del ácido 1,4-bencendiborónico con dos equivalentes de NaOH en agua se le adicionó con agitación el diccatecol TST, preparado en disolución de DMSO (el contenido final de DMSO fue menor o igual al 5% del volumen total de la disolución). En el espectro de RMN-¹H (Figura 6.1B) de la mezcla anterior se observa un conjunto de señales que indican la formación cuantitativa de un solo producto, con las señales de los protones aromáticos, tanto del ácido borónico como del diccatecol, desplazadas hacia frecuencias más bajas en comparación con las señales de la mezcla de los componentes sin base añadida (Figura 6.1A).

Una sola señal en 7.35 ppm correspondiente a los protones aromáticos del ácido diborónico (Figura 6.1B), indica la equivalencia de los grupos boronato y por lo tanto la estructura simétrica del producto formado.

El producto autoensamblado **M1** también se caracterizó por RMN ¹³C y ¹¹B. En los espectros de ambos núcleos (Figura 6.2) se confirma la estructura simétrica del producto; por ejemplo en el caso del espectro de ¹¹B se observa una sola señal en 9.17 ppm, confirmando la equivalencia de los átomos de boro tetraédricos.

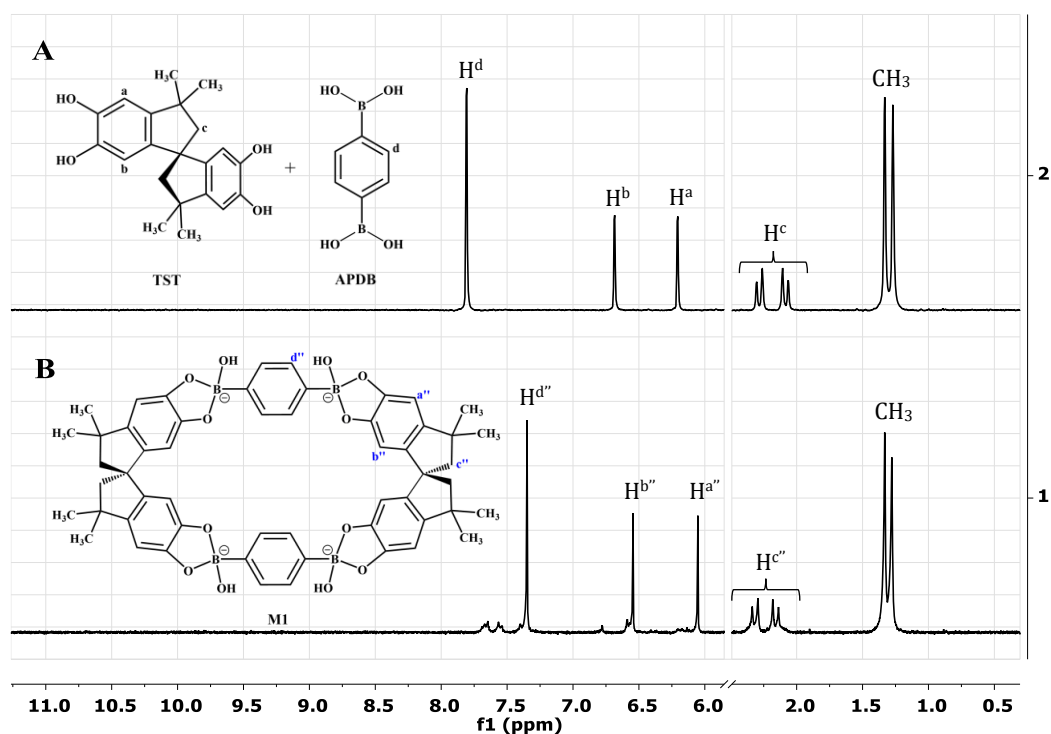


Figura 6.1: Espectro de RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% vol. de $\text{DMSO-}d_6$, de una mezcla equimolar del ácido 1,4-bencendiborónico y de TST, (A) en ausencia de base y (B) con dos equivalentes de NaOH.

Todos los resultados anteriores concuerdan con la formación de un producto simétrico $[n+n]$ en acuerdo con el esquema 6.1. Además, el espectro de masas de ionización por electrospray en modo positivo (Figura 6.3) muestra la presencia de dos picos en 1051.1 y 1033.1 m/z con un patrón característico de distribución isotópica para una especie con cuatro átomos de boro de composición $\text{C}_{54}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{B}_4\text{Na}_5^+$ y $\text{C}_{54}\text{H}_{50}\text{O}_{11}\text{B}_4\text{Na}_5^+$ que corresponden a la especie ionizada con Na^+ del éster boronato neutro $[2+2]$ (macrociclo tetraaniónico más sodio como contraión) y a la forma deshidratada, respectivamente. Cabe mencionar que el espectro de masas en modo negativo no muestra picos correspondientes al macrociclo aniónico, probablemente por su inestabilidad en fase gas debido a la repulsión de los grupos boronato aniónicos.

Otros picos observados en el espectro de masas corresponden a la especie ionizada con Na^+ de: (a) la forma parcialmente oxidada del dicatcol TST con fórmula química $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}^+$ (361.5 m/z) y (b) el éster borónico trigonal neutro acíclico $[1+1]$ (con un

grupo -OH del dicatcol TST desprotonado más sodio como contraión) de composición $C_{27}H_{27}B_2O_6Na_2^+$ (512.2 m/z).

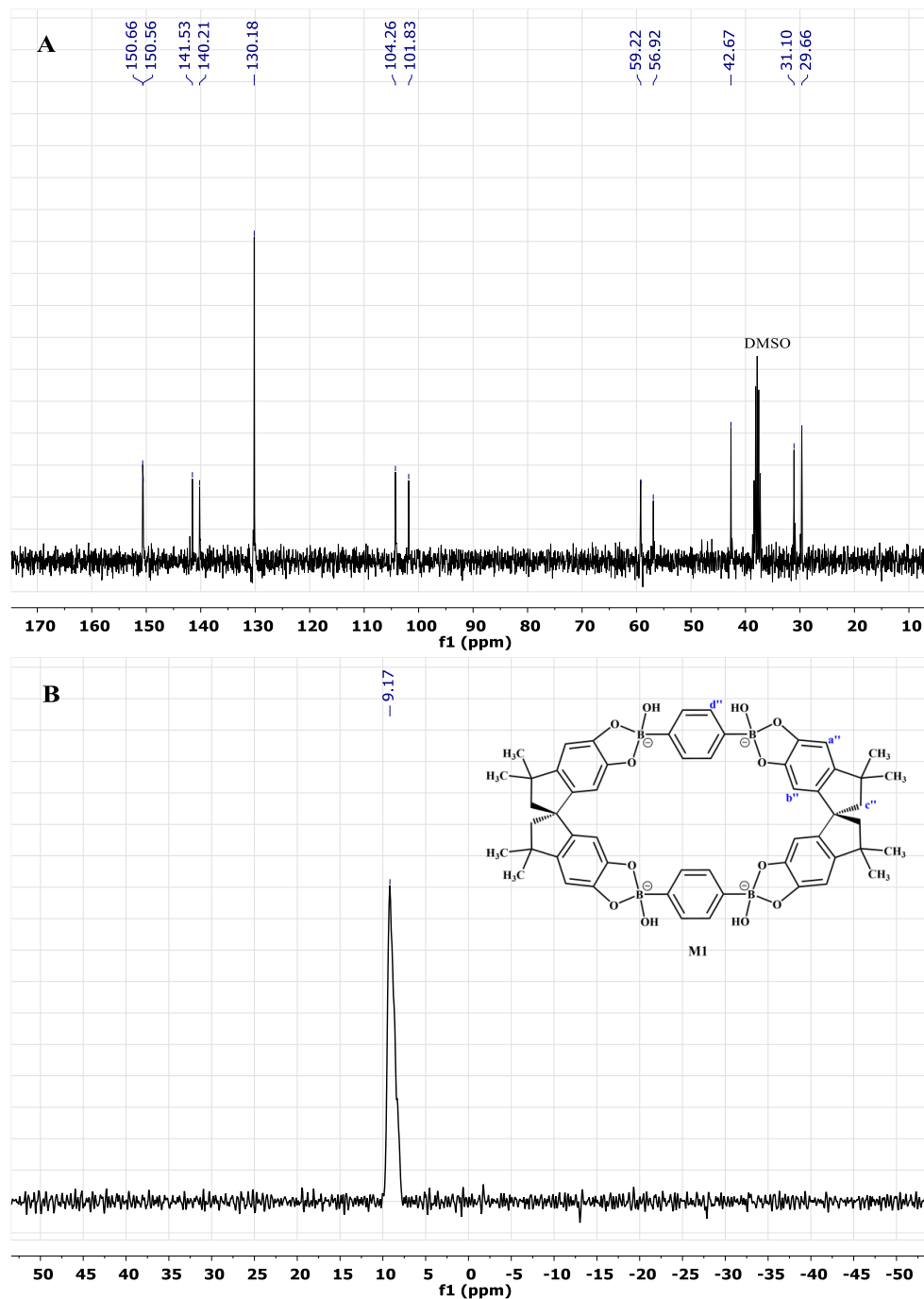


Figura 6.2: Espectros de RMN, en D_2O con 5% vol. de $DMSO-d_6$, de (A) ^{13}C (75.4 MHz) y (B) ^{11}B (128.3 MHz) del macrociclo autoensamblado **M1** preparado a partir de una mezcla equimolar (40 mM) del ácido 1,4-bencendiborónico y de TST, con dos equivalentes (80 mM) de NaOH.

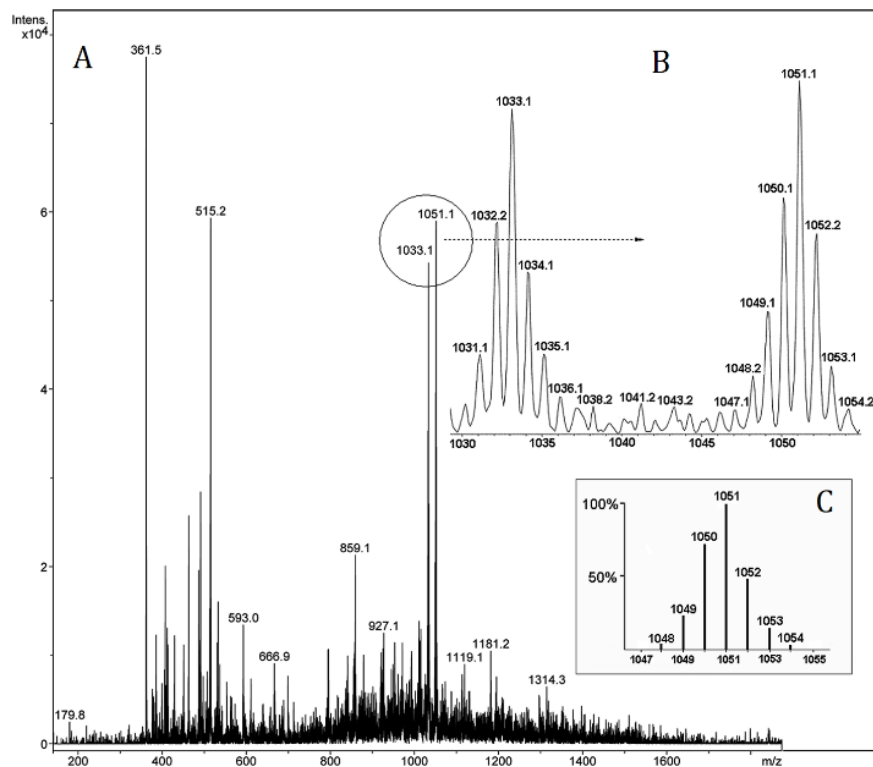


Figura 6.3: (A) Espectro de masas de ionización por electrospray en modo positivo de una mezcla equimolar del ácido 1,4-bencendiborónico y TST en presencia de 2 equivalentes de NaOH; (B) Zona ampliada del espectro entre 1030 y 1050 m/z; (C) Patrón de distribución isotópica simulado para $C_{54}H_{52}O_{12}B_4Na_5^+$.

El pH de la disolución resultante al mezclar 5 mM de ácido diborónico, 5 mM de dicatcol TSM y 10 mM de NaOH tenía un valor de 9. La disolución era estable durante al menos una semana en refrigeración a 6°C, después de ese tiempo la disolución comenzaba a oscurecerse progresivamente probablemente como resultado de la auto-oxidación del producto formado.

Cabe mencionar que también fue posible la preparación del macrociclo **M1** empleando únicamente agua como disolvente mediante el siguiente procedimiento: A una disolución del ácido 1,4-bencendiborónico con dos equivalentes de NaOH en agua se le adicionó el dicatcol TST en sólido con agitación y calentamiento (60-70°C), burbujando nitrógeno hasta que el sólido se disolvió completamente. El espectro de RMN-¹H del producto resultante fue igual al de la Figura 6.1B; sin embargo, debido a que se observaba cierto grado de oxidación por oscurecimiento de la disolución durante el calentamiento, se

decidió continuar con el primer procedimiento empleando 5% de DMSO para las muestras empleadas en el siguiente estudio donde se exploró la capacidad del macrociclo **M1** para reconocer especies catiónicas.

La capacidad del macrociclo tetra-aniónico **M1** para reconocer diversas especies catiónicas orgánicas se analizó mediante titulaciones seguidas por RMN-¹H. En la Figura 6.4 se muestran los cambios en el espectro de RMN-¹H del macrociclo al adicionar cloruro de tetrapropilamonio. El desplazamiento químico inducido de las señales del huésped (Pr_4N^+) hacia frecuencias bajas ocurre como resultado de la interacción con el macrociclo (Figura 6.4B); además las señales de los protones aromáticos del macrociclo se desplazan hacia frecuencias más altas, mientras que las señales de los metilenos se observan como una señal simple. También se observa que la intensidad de las señales alrededor de 7.6 ppm, correspondientes a trazas del intermediario acíclico (ver anexo 9.1), disminuyen en presencia del huésped al desplazar el equilibrio hacia la formación del macrociclo **M1** como resultado de la complejación anfitrión-huésped.

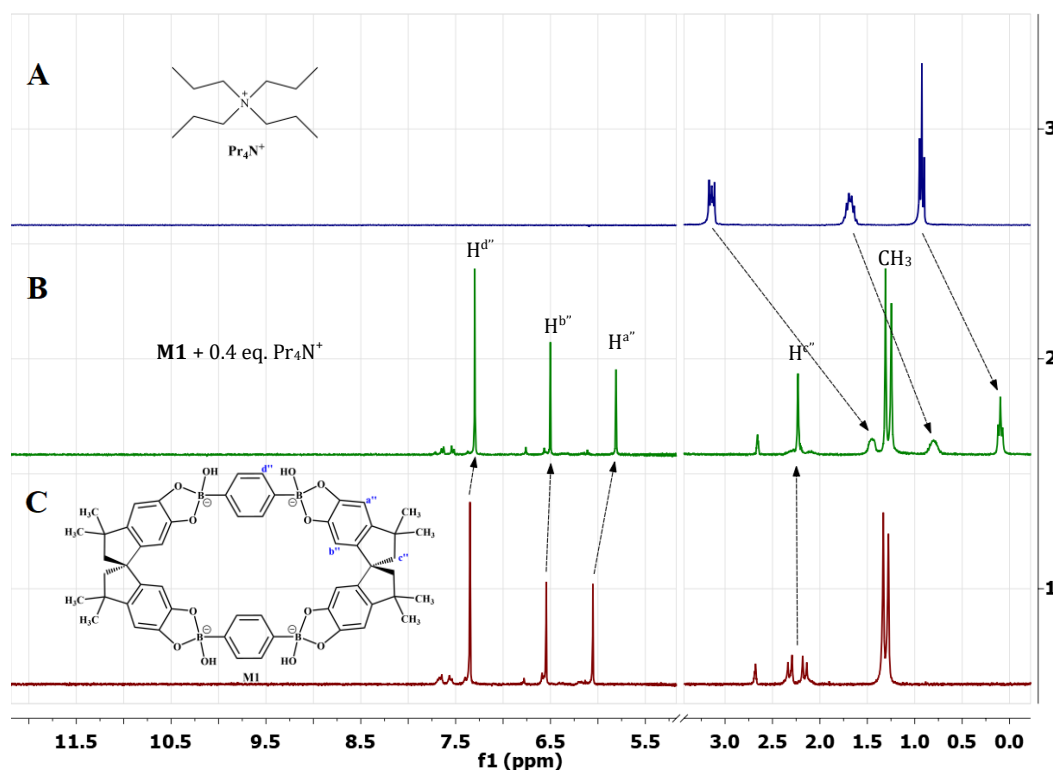


Figura 6.4: Espectros de RMN-¹H (300 MHz) en D₂O con 5% vol. DMSO-*d*₆ de (A) cloruro de tetrapropilamonio; (B) 2.5 mM de macrociclo **M1** y (C) macrociclo en presencia de 1 mM de Pr₄NCl.

En los espectros NOESY y ROESY del macrociclo **M1** con Pr_4N^+ (Figura 6.5 y Anexo 9.2, respectivamente) se observan picos cruzados correspondientes al contacto del huésped con ambos componentes del macrociclo confirmando la interacción del huésped con el macrociclo.

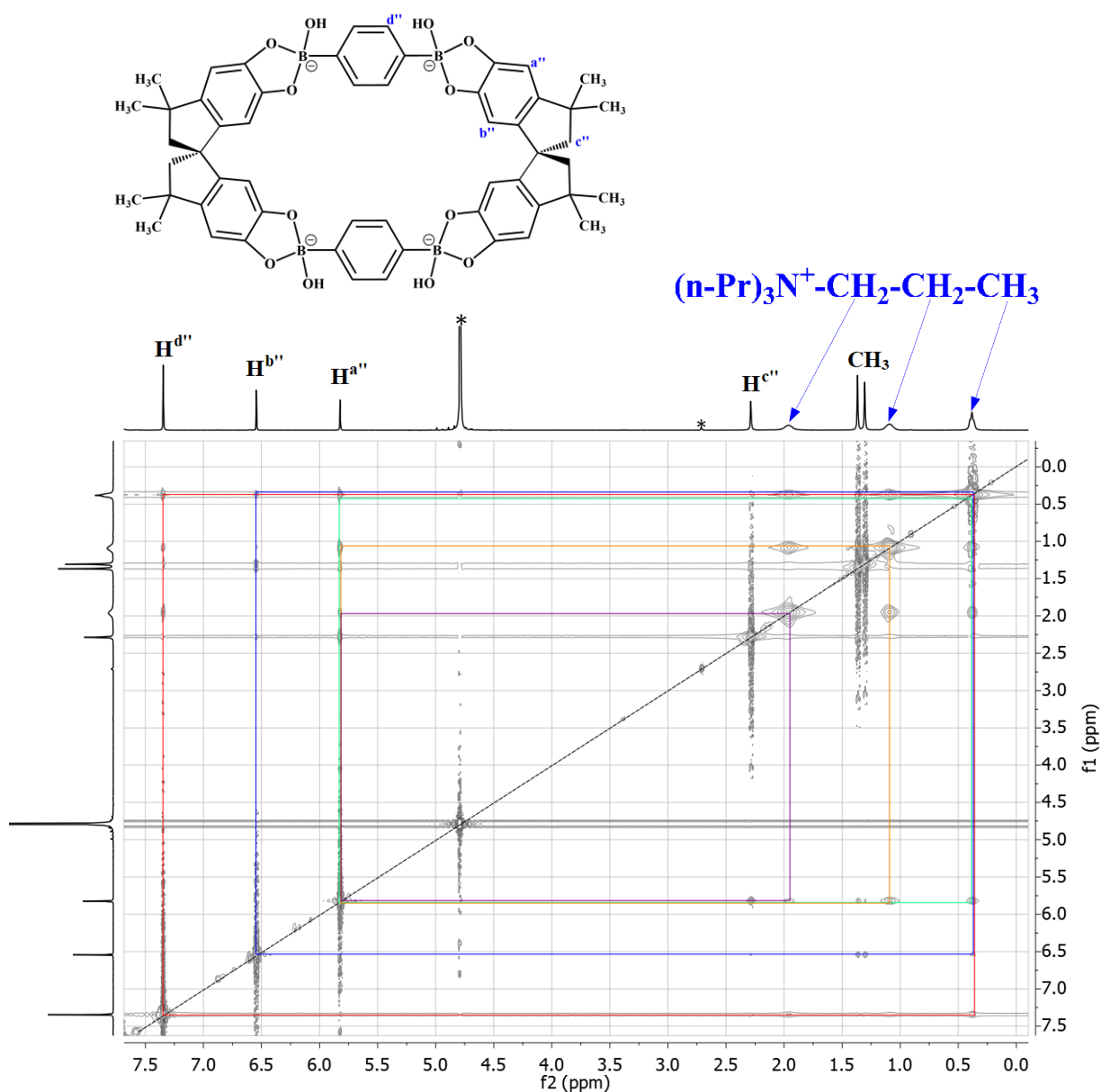


Figura 6.5: Espectro NOESY (400 MHz), en D_2O con 5% vol. de DMSO-d_6 , del macrociclo **M1**, preparado a partir de una mezcla equimolar (40 mM) del ácido 1,4-bencendiborónico y de TST, con dos equivalentes (80 mM) de NaOH, en presencia de 20 mM de Pr_4N^+ . Las señales con asterisco corresponden a los disolventes residuales.

Las titulaciones monitoreadas por RMN- ^1H del macrociclo **M1** con diversas especies catiónicas se llevaron a cabo por adición de alícuotas de disoluciones concentradas de las sales de cloruro de los diferentes huéspedes en D_2O a una disolución 2.5 mM del macrociclo preparado *in situ* con un pH de 9. A modo de ejemplo se muestra en la Figura 6.6, la titulación con cloruro de tetrametilamonio como huésped, mientras que algunas de las titulaciones con otras especies catiónicas se muestran en el Anexo 9.3. Las curvas de titulación ($\delta(\text{ppm})$ vs [huésped]), considerando el desplazamiento inducido de la señal de los protones aromáticos $\text{H}^{\text{d''}}$ ó $\text{H}^{\text{a''}}$ se muestran en la Figura 6.7 y 6.8. En el gráfico de la Figura 6.7 es clara la completa saturación del macrociclo con tetrapropilamonio (Pr_4N^+) a la relación molar 1:1 y la misma estequiometría se comprobó mediante el método de Job empleando tetraetilamonio (Et_4N^+) como huésped. El gráfico de Job se muestra en la Figura 6.9.

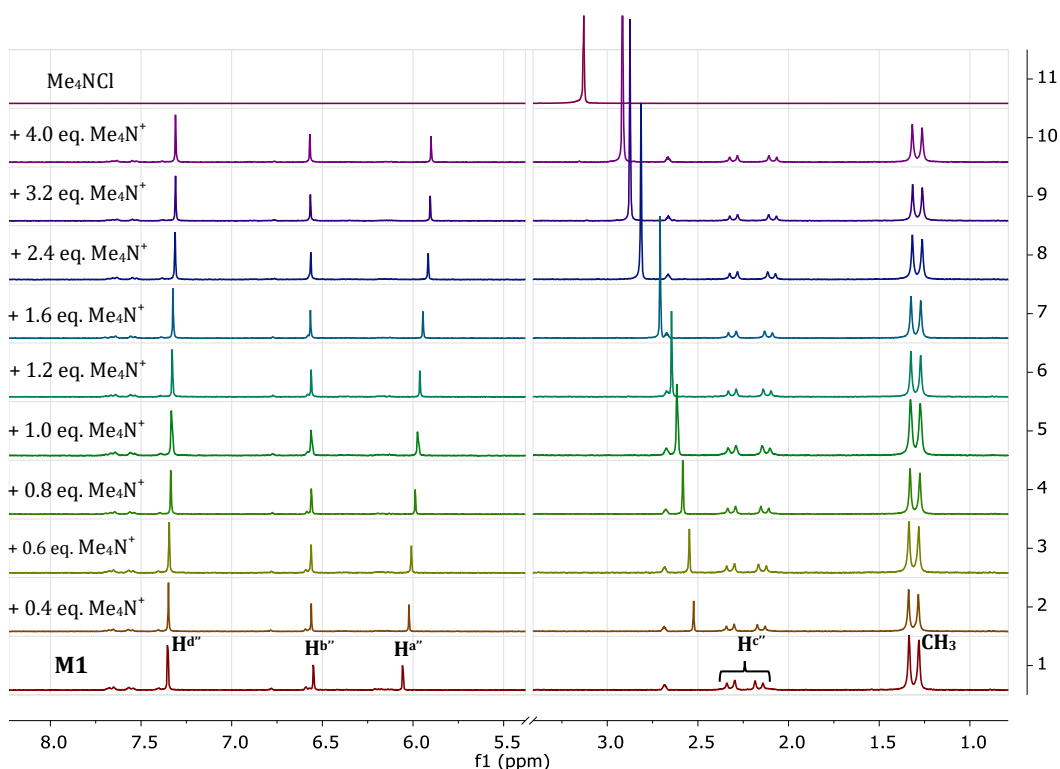


Figura 6.6: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% v/v de DMSO-d_6 , de 2.5 mM del macrociclo **M1** con cloruro tetrametilamonio. Concentraciones de Me_4NCl : (1)-0, (2)-1 mM, (3)-1.5 mM, (4)-2 mM, (5)-2.5 mM, (6)-3 mM, (7)-4 mM, (8)-6 mM, (9)-8 mM, (10)-10 mM (11)- Me_4NCl libre.

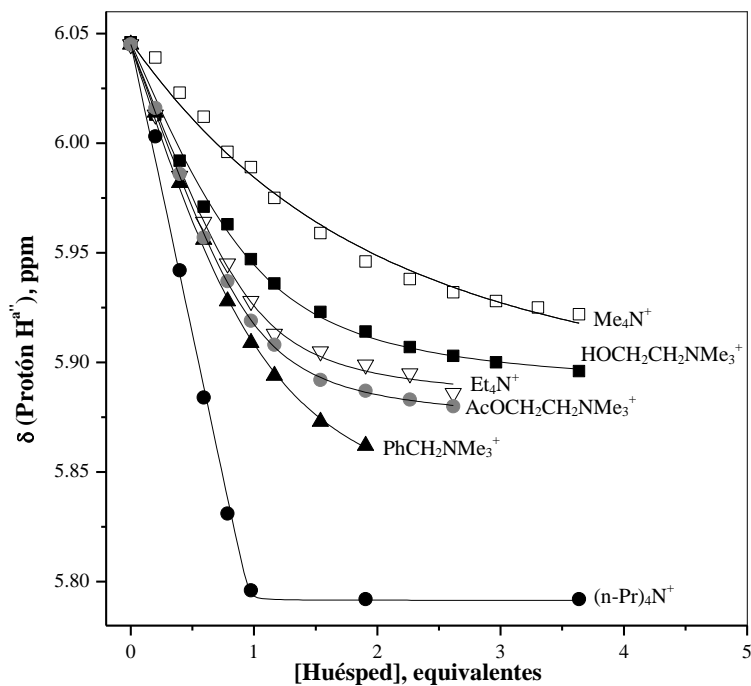


Figura 6.7: Curvas de titulación para 2.5 mM del macrociclo **M1** preparado in situ al mezclar 5 mM del ácido 1,4-bencendiborónico, 5 mM de TST y 10 mM de NaOH en D_2O con 5% vol. DMSO d_6 . La concentración de los huéspedes está dada en número de equivalentes totales.

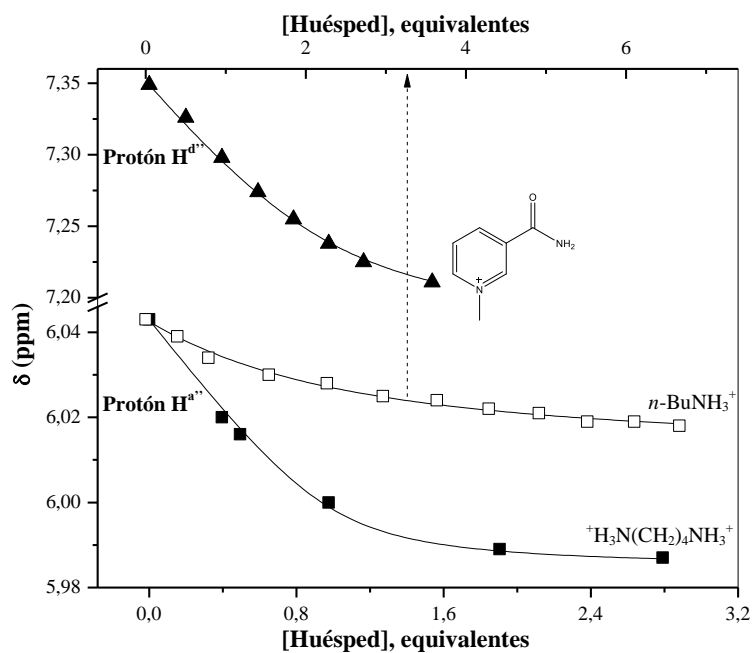


Figura 6.8: Curvas de titulación para 2.5 mM del macrociclo **M1** preparado in situ al mezclar 5 mM del ácido 1,4-bencendiborónico, 5 mM de TST y 10 mM de NaOH en D_2O con 5% vol. DMSO d_6 . La concentración de los huéspedes está dada en número de equivalentes totales.

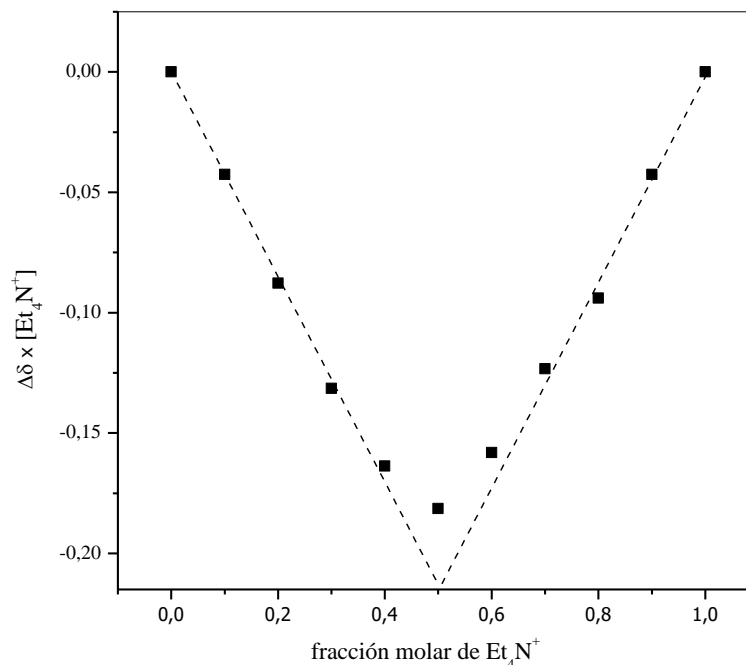


Figura 6.9: Gráfico de Job para el macrociclo **M1** con tetraetilamonio (Et_4N^+) como huésped.

Las constantes de asociación del macrociclo **M1** con los diferentes huéspedes se obtuvieron mediante el ajuste de las curvas de titulación ($\delta(\text{ppm})$ vs [huésped]), mostradas en las Figuras 6.7 y 6.8, empleando la ecuación 1. [39]

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{A}} + 0.5 \left(\frac{\Delta\delta}{[\text{A}]} \right) \left([\text{A}] + [\text{H}] + K_{\text{A}}^{-1} - \left(([\text{A}] + [\text{H}] + K_{\text{A}}^{-1})^2 - 4[\text{A}][\text{H}] \right)^{0.5} \right) \quad (1)$$

En la ecuación 1, [A] y [H] corresponden a las concentraciones totales del anfitrión y huésped, respectivamente, K_{A} se refiere a la constante de asociación y $\Delta\delta = (\delta_{\text{AH}} - \delta_{\text{A}})$ es el desplazamiento químico inducido tras la complejación.

En la Tabla 6.1 se muestran los valores de las constantes de asociación, el valor de la energía libre de Gibbs (ΔG°), calculada partir de la constante de asociación[†], y el desplazamiento químico inducido de dos señales del macrociclo tras su asociación con cada uno de los huéspedes a la concentración de saturación.

[†] $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{A}}$

Tabla 6.1: Constantes de asociación (K_A) (con errores estándar) del macrociclo boronato **M1** con diferentes especies, energía libre de Gibbs en condiciones estándar (ΔG°) y el desplazamiento químico inducido ($\Delta\delta$) tras la asociación.

Huésped	K_A, M^{-1}	$-\Delta G^\circ, kJ/mol$	$\Delta\delta$ (ppm)	
			H ^a	H ^d
CsCO ₃	180 ± 10	12.88±0.1	-0.014	0.026
Me ₄ NCl	300 ± 10	14.15±0.1	-0.19	-0.033
Et ₄ NCl	(3.8 ± 0.7)×10 ³	20.45±0.5	-0.16	-0.027
Pr ₄ NCl	>10 ⁵	>28	-0.25	-0.027
Bu ₄ NCl	Precipita			
Me ₄ GuanH ⁺	(1.1 ± 0.2)×10 ³	17.37±0.5	-0.059	-0.035
Colina	(1.9 ± 0.2)×10 ³	18.73±0.3	-0.16	-0.027
Acetilcolina	(4.1 ± 0.3)×10 ³	20.64±0.2	-0.17	-0.036
N-Benciltrimetilamonio	(1.5 ± 0.3)×10 ³	18.14±0.5	-0.21	-0.15
1-Metilnicotinamida	(2.0 ± 0.2)×10 ³	18.85±0.2	-0.003	-0.16
Nicotinamida	Sin interacción			
<i>n</i> -BuNH ₃ ⁺	220 ± 30	13.38±0.3	-0.032	0.006
1,4-Diaminobutano	(5.9 ± 0.9)×10 ³	21.53±0.4	-0.055	0.014
Lys-OMe	Sin interacción			
Arg-OMe	240 ± 20	13.59±0.2	-0.050	-0.017

De acuerdo a las constantes de asociación mostradas en la tabla anterior, el macrociclo boronato **M1** se asocia con huéspedes catiónicos alquilamonio (R₄N⁺) con afinidad cercana a otros receptores para tales cationes en agua, tales como cucurbiturilos^[40], sulfonato-calixarenos^[41] y cavitandos resorcinarenos^[42]; sin embargo, la selectividad es diferente. Los receptores informados en la literatura no permiten discriminar huéspedes R₄N⁺ con diferente longitud de la cadena alquílica R^[40a, 41] o bien, prefieren huéspedes pequeños^[42b,c]. En el caso del macrociclo boronato **M1** las constantes de asociación con los cationes R₄N⁺ crecen en el orden Me<Et<<*n*-Pr. Con R=*n*-Bu se observó la formación de precipitado después de la adición de 0.2 equivalentes del huésped, por lo cual no fue posible determinar la constante de asociación en este caso.

Se determinaron las estructuras de mínima energía, empleando mecánica cuántica dentro del marco de Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD) con el programa TeraChem^[43] utilizando el funcional PBE^[44] y el conjunto de base 6-311++G**^[45] (ver anexo 9.4), del macrociclo **M1** y de sus complejos anfitrión-huésped con tetrametil y tetrapropilamonio, las cuales se muestran en la Figura .6.10.

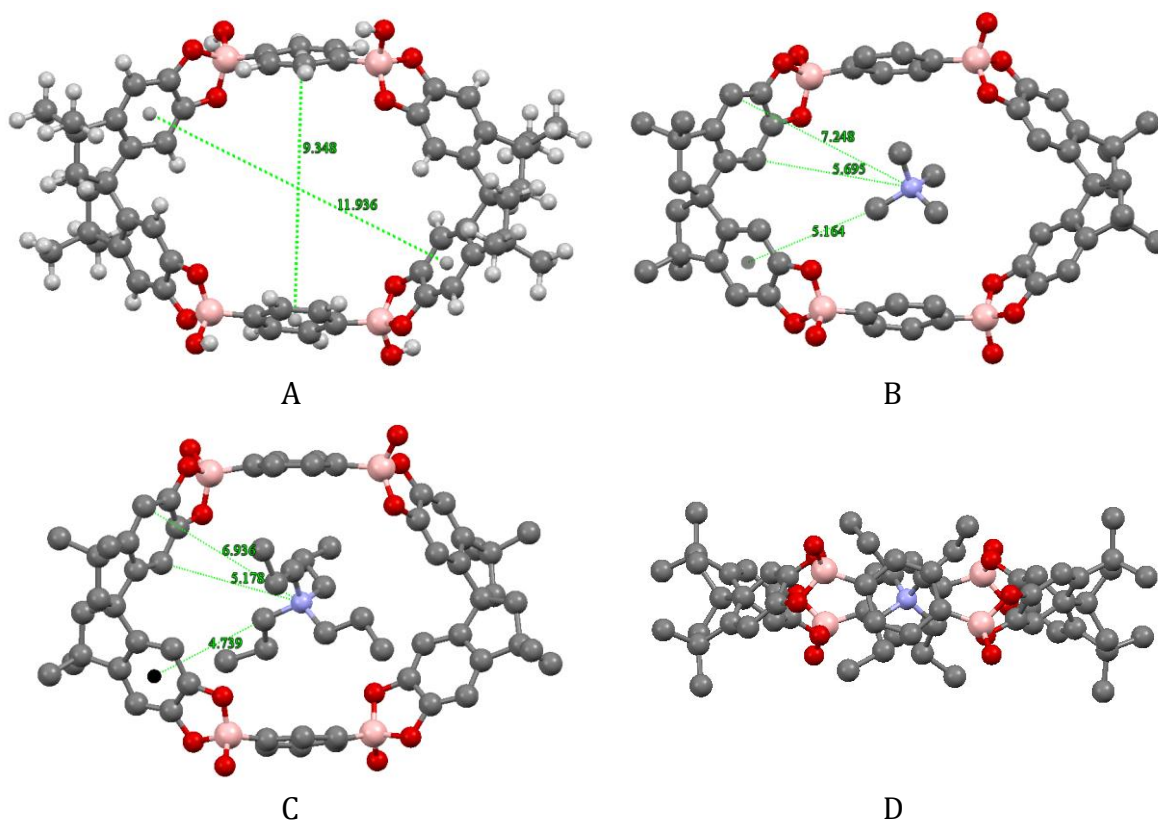


Figura 6.10: Estructuras calculadas de: (A) Macrociclo $\text{Na}_4\mathbf{M1}$ (los cationes sodio se han omitido), (B) vista superior del complejo de inclusión **M1** con Me_4N^+ , (C) vista superior del complejo de inclusión **M1** con Pr_4N^+ y (D) Vista lateral del complejo de inclusión **M1** con Pr_4N^+ . Distancias en Å. En las últimas tres estructuras se han omitido los átomos de hidrógeno para mayor claridad.

En acuerdo con los resultados de RMN, el macrociclo **M1** tiene una estructura simétrica con una cavidad en forma de elipse con un eje menor de 6 Å estimado a partir de la distancia entre los anillos de benceno casi coplanares de los fragmentos del ácido 1,4-bencendiborónico y tomando en cuenta el radio de Van der Waals de los átomos de carbono. Tal cavidad corresponde aproximadamente al tamaño de la cavidad de la

β -ciclodextrina^[46] y cucurbit[6]urilo^[47]. Los cationes R_4N^+ ocupan la cavidad de **M1** con el átomo de nitrógeno en el centro de la cavidad como se puede observar en las vistas superiores de las estructuras de los complejos (Figura 6.10 C y D). Es de notarse también que, el centro del huésped se encuentra posicionado más cerca de los átomos del fragmento espirobindano $H^{a''}$ en comparación con los $H^{b''}$, por ejemplo a una distancia de 5.695 y 7.248 Å respectivamente para Me_4N^+ (Figura 6.10B), lo cual explica el mayor cambio en el desplazamiento químico inducido de la señal $H^{a''}$ observado en las titulaciones por RMN-¹H.

Además, la distancia entre el centro del huésped y los protones $H^{a''}$ es más corta en el complejo con Pr_4N^+ que con Me_4N^+ , lo cual se ve expresado en un valor absoluto de $\Delta\delta$ mayor (ver Tabla 6.1). De igual forma, el primer grupo metileno de Pr_4N^+ tiene un contacto más próximo con el anillo del fragmento espirobindano en comparación con el grupo metil del huésped Me_4N^+ , lo cual está en acuerdo con el mayor $\Delta\delta$ (valor absoluto) observado en el protón metileno de tetrapropilamonio (Figura 6.11).

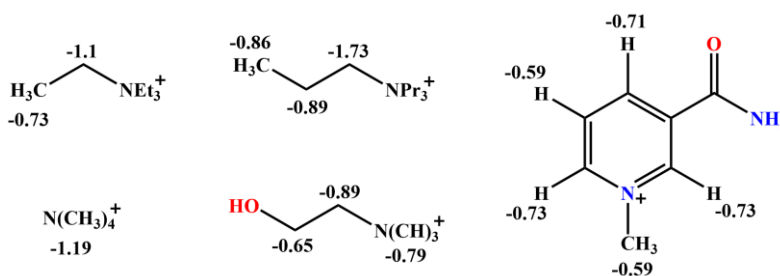


Figura 6.11: Desplazamientos químicos inducidos $\Delta\delta$ (ppm) en algunos huéspedes al asociarse con el macrociclo **M1**.

El cambio de desplazamiento químico $\Delta\delta$ de todas las señales de los protones en algunos de los huéspedes tras interactuar con el macrociclo boronato **M1** se muestra en la Figura 6.11. Los valores negativos de $\Delta\delta$, concuerdan con el efecto de protección que generan los anillos aromáticos sobre los protones C-H.^[48]

En la Tabla 6.2, se muestran las energías de formación calculadas para los complejos de **M1** con los diferentes huéspedes alquilamonio. Tales energías son negativas y siguen la tendencia siguiente: $\text{Me}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+$; la cual es contraria a la tendencia observada experimentalmente puesto que sólo reflejan la contribución electrostática en la asociación. Por lo tanto, la selectividad observada $\text{Cs}^+ < \text{Me}_4\text{N}^+ < \text{Et}_4\text{N}^+ < \text{Pr}_4\text{N}^+$ puede racionalizarse en términos de una significativa contribución de interacciones hidrofóbicas a la energía libre de asociación (ver Tabla 6.1). En acuerdo con esto último, la constante de asociación para *n*-butilamonio (*n*-BuNH₃⁺) es cercana a la K_A para Me_4N^+ , ambos huéspedes con similar carga y número de átomos de carbono. También el catión benciltrimetilamonio ($\text{PhCH}_2\text{NMe}_3^+$) y Et_4N^+ que poseen hidrofobicidad similar (un grupo fenil es equivalente a 4 metilenos en términos de la constante de hidrofobicidad π ^[49]) tienen valores de K_A del mismo orden de magnitud. Por otra parte, colina y acetilcolina poseen una mayor afinidad a la esperada en términos de sólo el efecto hidrofóbico, posiblemente por un mejor ajuste de tales huéspedes dentro de la cavidad del macrociclo. Así también, el catión tetrametilguanidinio ($\text{Me}_4\text{GuanH}^+$) forma un complejo con mayor K_A comparado con Me_4N^+ , lo cual podría indicar un mejor ajuste del grupo guanidinio con geometría plana dentro del macrociclo.

Tabla 6.2: Energías totales calculadas en unidades atómicas (au) obtenidas con el programa TeraChem^[43] empleando el funcional PBE/6-311++G**.

	Pr_4N^+	Et_4N^+	Me_4N^+
$\text{Na}_4\mathbf{M1}$	-3737.689875	-3737.689875	-3737.689875
Huésped libre	-528.062955	-370.991238	-213.913457
Complejo	-4265.822007	-4108.752507	-3951.683174
Interacción	-0.0692	-0.0714	-0.0798

Además de las interacciones hidrofóbicas, la principal fuerza para la interacción de los huéspedes con el macrociclo es la interacción electrostática, esto es evidente por la ausencia de interacción con el huésped neutro nicotinamida en comparación con el catión 1-metilnicotinamida y la mayor K_A para el dicatión 1,4-diaminobutano en

comparación con el monocatión $n\text{-BuNH}_3^+$. Adiciones de poliaminas (espermidina y espermina) al macrociclo boronato, inducen la formación de precipitado a muy bajas concentraciones del huésped. Por otra parte, se esperaría una contribución de interacciones catión- π , sin embargo este tipo de interacciones inducen un cambio en el desplazamiento químico hacia frecuencias más altas $\Delta\delta(+)$ de las señales de protones aromáticos en RMN.^[50]

Debido al observado incremento de la afinidad del macrociclo por el catión guanidinio comparado con los cationes amonio, como se mencionó anteriormente, se decidió emplear el macrociclo boronato **M1** para discriminar entre dos derivados de aminoácidos, lisina y arginina. En la Tabla 6.1, se muestran los resultados para la K_A de los metil ésteres de ambos aminoácidos, observándose una mayor afinidad por el metil éster de arginina el cual contiene un grupo guanidinio.

Por otra parte, en la literatura se encuentran estudios de la inclusión de barberina^[51] (alcaloide constituido por isoquinolina) en diferentes anfitriones macrocíclicos tales como cucurbiturilos,^[52] ciclodextrinas^[53] y calixarenos,^[54] con el propósito de incrementar las propiedades fluorescentes de dicho alcaloide para aplicaciones analíticas.^[55] En disolución acuosa barberina posee muy baja fluorescencia sin embargo, su inclusión en la cavidad hidrofóbica de un macrociclo anfitrión induce un incremento de la intensidad de su fluorescencia de 10 a 100 veces. La adición del macrociclo boronato **M1** (1mM) a una disolución acuosa de barberina provocó el incremento de 10 veces la intensidad de fluorescencia como puede observarse en la Figura 6.12, líneas color verde y rojo para barberina libre y asociada a **M1**, respectivamente.

Aprovechando el efecto anteriormente mencionado, estudiamos el empleo del sistema barberina-**M1** para la detección de otros huéspedes catiónicos como tetraalquilamonios por ensayo de desplazamiento de indicador. La adición de concentraciones crecientes de acetilcolina provocaron, como era de esperarse, la disminución de la intensidad de fluorescencia (Figura 6.12, líneas color negro) y el perfil de titulación (Figura 6.12, gráfico superior derecho) nos permite demostrar la posibilidad de detectar ~ 0.1 mM del huésped añadido. Contrariamente a lo esperado, las adiciones de tetrapropilamonio a la

mezcla barberina-**M1**, en lugar de inducir al apagamiento de la fluorescencia, indujeron un aumento en la intensidad de fluorescencia acompañado del corrimiento hacia el rojo del máximo de emisión (Figura 6.12, líneas color azul). Una posible razón del comportamiento anterior es la formación de un complejo ternario entre el catión más hidrofóbico Pr_4N^+ y el complejo barberina-**M1**, el cual puede proveer un ambiente menos polar alrededor del alcaloide favorable para su fluorescencia.[52]

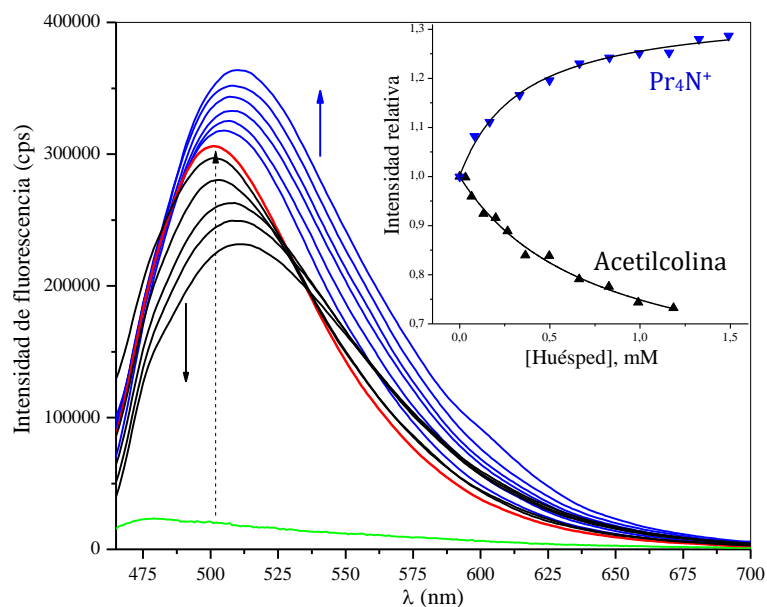


Figura 6.12: Espectros de fluorescencia (excitación a 400 nm) de 3 μM de barberina libre en agua (línea verde), después de la adición de 1 mM del macrociclo **M1** (línea color rojo) y después de las subsecuentes adiciones de acetilcolina (líneas color negro) o de tetrapropilamonio (líneas color azul). El gráfico en la esquina superior derecha muestra la intensidad relativa de fluorescencia como función de la concentración de los huéspedes adicionados a la mezcla barberina-**M1**.

6.2 INTERACCIÓN DE ÁCIDO FENILBORÓNICO CON LIGANTES -N,O.

Con la finalidad de encontrar otros ligantes que interactúen con ácidos borónicos de manera similar a los catecoles, pero con mayor estabilidad ante la auto oxidación que sufren los catecoles en disolución, se estudió la interacción entre ácido fenilborónico con otro tipo de ligantes con átomos de nitrógeno y oxígeno, como ácido salicilhidroxámico, sus derivados y otros compuestos relacionados estructuralmente.

En la literatura se menciona una alta afinidad entre ácido fenilborónico (AFB) y ácido salicilhidroxámico (SHA)^[24] con una constante de estabilidad observada (K_{obs}) de $1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ a pH 7.4.^[56] A modo de comparación las K_{obs} con catecol y con fructosa son de 830 M^{-1} y 160 M^{-1} respectivamente, al mismo valor de pH.^[15a] La estructura del complejo AFB-SHA (estructura **1** en Figura 6.13), con el átomo de boro unido a los átomos de nitrógeno y oxígeno, se sugirió por medio de datos de espectrometría de masas y RMN-¹¹B.^[24] Otras estructuras posibles del complejo AFB-SHA concuerdan con los datos informados en la literatura; además la unión entre AFB y SHA puede darse en un amplio intervalo de pH, en particular por debajo del pH fisiológico (7.4).^[24, 56, 57] Sin embargo, el perfil de pH para la constante de estabilidad del complejo no ha sido informada, ni tampoco su estructura cristalina.

Dicho lo anterior, en este trabajo se realizó un estudio más detallado de la formación de complejos de ácido fenilborónico con ácido salicilhidroxámico, además de sus derivados metilados SHA-NMe y SHA-OMe. Otros ligantes estudiados fueron ácido benzohidroxámico (BHA), saliciloil hidracina (SH), salicilamidoxima (SAO), ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxámico (DHBHA) y ácido 2,5-dihidroxi-1,4-benzodihidroxámico (DHBDHA) (Figura 6.13).

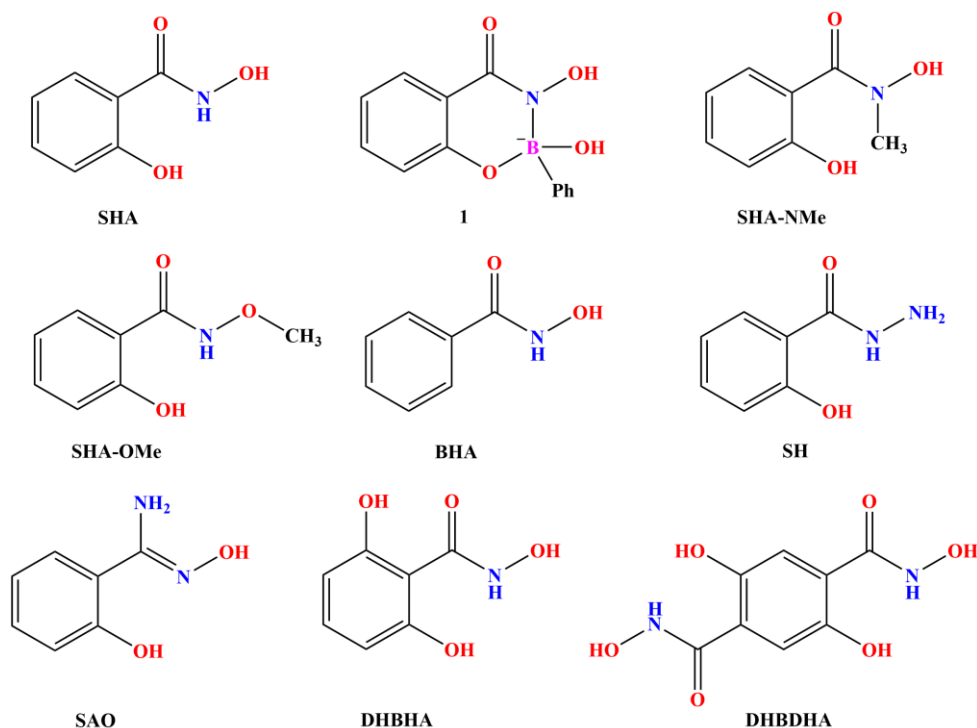


Figura 6.13: Estructuras de ligantes estudiados y estructura propuesta del complejo de ácido fenilborónico con ácido salicilhidroxámico, **1**.

Como primer paso se determinaron los valores de pK_a de cada uno de los ligantes y las constantes de estabilidad de sus complejos con ácido fenilborónico mediante titulaciones potenciométricas en agua, analizadas en términos de la ecuación general (2), donde M es la molécula neutra AFB, L es la forma neutra del ligante, H es un protón y las constantes de estabilidad están definidas como se muestra en la ecuación (3).



$$\beta_{pqr} = [MpLqHr] / \{[M]^p [L]^q [H]^r\} \quad (3)$$

Los valores de pK_a y las constantes de estabilidad obtenidos para cada ligante se muestran en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3: Constantes de equilibrio, para la complejación de ácido fenilborónico con diferentes ligantes, determinadas por potenciometría a 25°C y fuerza iónica de 0.05 M por adición de NaCl.^(a)

Ligante	pK _{a1}	pK _{a2}	log β ₁₁₋₁	K _{obs} , M ⁻¹		
				a pH óptimo ^(b)	a pH 7.4	a partir de titulación UV-Vis (pH)
SHA	7.55	10.03	-2.95	2.6×10 ⁴ (8.2)	1.6×10 ⁴	1.1×10 ⁴ (7.4)
SHA-OMe	7.35		-3.17	1.1×10 ⁴ (8.1)	7.8×10 ³	6.5×10 ³ (7.4)
SHA-NMe	6.55	11.05	-2.58	8.1×10 ³ (7.7)	7.9×10 ³	6.6×10 ³ (7.4)
BHA	8.85		-4.63	4.1×10 ³ (8.85)	5.5×10 ²	3.7×10 ³ (8.9)
3-NO ₂ -BHA	8.21		-4.17		1.4×10 ³	
3-NMe ₃ -BHA	8.06		-4.14		1.4×10 ³	
BHA ^(c)	8.85		-4.95		270	
BHA ^(d)	8.85		-4.17		1.4×10 ³	
SH	7.82	11.44	-4.22	2.4×10 ³ (8.3)	1.0×10 ³	2.2×10 ³ (8.3)
SAO	4.30	8.85	-5.35, 3.12 ^(e)	1.3×10 ³ (6.6)	1.3×10 ³	1.4×10 ³ (6.5)
DHBHA	7.00, 6.86 ^(f)	9.73, 9.94 ^(f)	-2.29	4.0×10 ⁴ (7.9)	3.6×10 ⁴	5.2×10 ⁴ (7.4)

^(a) Los errores estándar en log K son menores a ±0.05; el valor determinado de pK_a para AFB fue 8.84; ^(b) El valor de pH óptimo, con el cual se obtiene el valor máximo de K_{obs}, se indica entre paréntesis; ^(c) Con ácido 4-metoxifenilborónico; ^(d) Con ácido 4-clorofenilborónico; ^(e) log β₁₁₀; ^(f) Datos obtenidos de titulaciones espectrofotométricas.

Los valores de pK_a del ácido salicilhidroxámico (SHA) y ácido benzohidroxámico (BHA) obtenidos, concuerdan con los valores informados en la literatura (7.40; 9.81 y 8.71 respectivamente, a 25°C y fuerza iónica de 0.2M).^[58] En todos los casos se encontró que p=q=1 y para la mayoría de los ligantes r=-1, indicando la formación de complejos aniónicos hidroxiboronato con constantes de estabilidad β₁₁₋₁, que en el caso de SHA,

concuerta con la formación del complejo **1** (Figura 6.13). En el caso de SAO, se detectó adicionalmente un complejo neutro con constante de estabilidad β_{110} .

Cabe mencionar que la constante de estabilidad β_{11-1} , se refiere específicamente a la reacción entre las formas neutras de AFB y SHA con simultánea desprotonación. La respectiva constante de asociación observada (K_{obs}), la cual es la constante de estabilidad medida experimentalmente a un determinado valor de pH, por ejemplo por titulación espectrofotométrica, depende del pH en acuerdo a la ecuación teórica (4),^[59] donde K_{a1}^L y K_{a2}^L son las constantes de disociación ácida del ligante y K_a^B es la constante de disociación ácida de AFB (Esquema 6.3).

$$K_{obs} = (\beta_{11-1}/[H^+]) / \left\{ (1 + [H^+]/K_{a1}^L + K_{a2}^L/[H^+]) (1 + K_a^B/[H^+]) \right\} \quad (4)$$

Por lo regular $K_{a2}^L \ll K_{a1}^L$ y pK_{a2} tiene un valor por arriba de 10 lo cual hace posible excluir el termino $K_{a2}^L/[H^+]$ de la ecuación (4) para el análisis en prácticamente todo el amplio intervalo importante de pH alrededor de 7. Así, la ecuación (4) puede ser sustituida por la forma más simplificada de la ecuación (5)

$$K_{obs} = (\beta_{11-1}/[H^+]) / \left\{ (1 + [H^+]/K_{a1}^L) (1 + K_a^B/[H^+]) \right\} \quad (5)$$

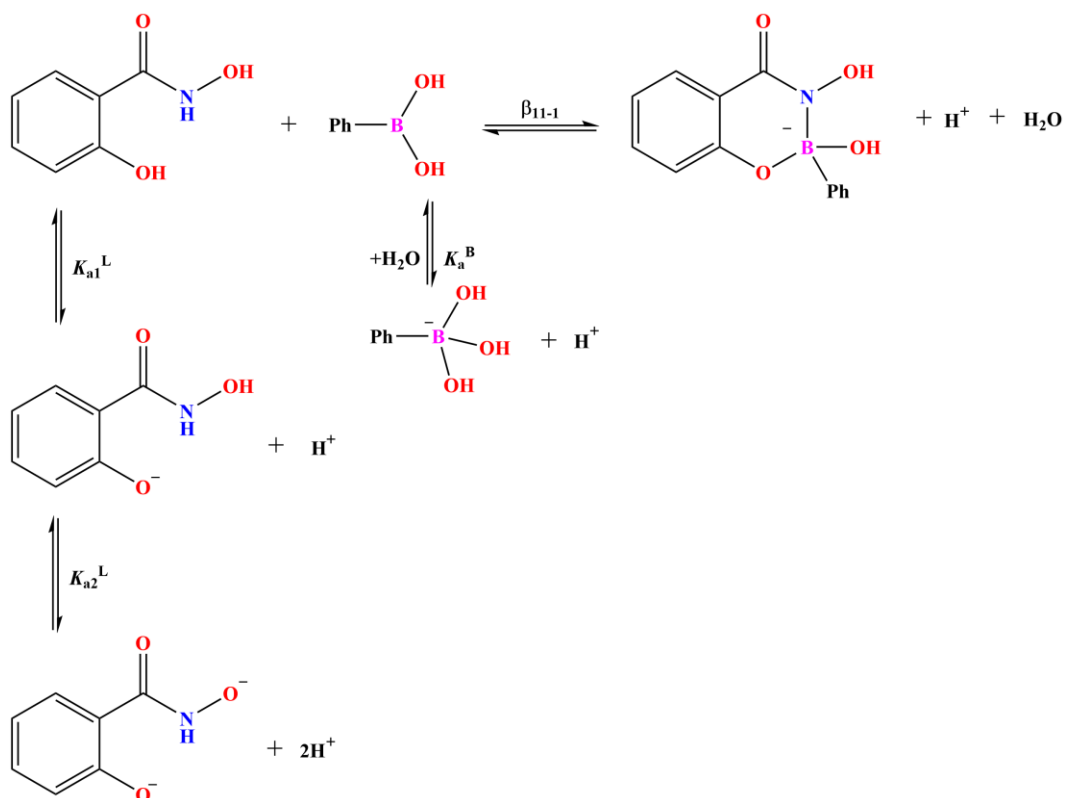
La ecuación 5 predice la forma de campana del perfil de pH para K_{obs} con un valor máximo de K_{obs} al pH óptimo, el cual está determinado por la ecuación (6).^[59]

$$pH_{\text{óptimo}} = \frac{pK_{a1}^L + pK_a^B}{2} \quad (6)$$

Los perfiles de $\log K_{obs}$ vs. pH calculados a partir de la ecuación (4) se muestran en la Figura 6.14 y los valores de K_{obs} a pH óptimo y pH fisiológico de 7.4, se muestran en la Tabla 6.3 junto con los valores determinados por titulaciones espectrofotométricas (Anexo 9.5) a pH 7.4 ó pH óptimo.

En la Tabla 6.3 se puede observar que el valor de $K_{obs}=1.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ calculado para SHA a pH 7.4 a partir de datos potenciométricos, coincide con el valor informado en la literatura determinado por RMN-¹¹B^[57] sin embargo, el valor de K_{obs} determinado por espectrofotometría es un poco más pequeño. Tal discrepancia puede atribuirse a la

diferencia en las condiciones de reacción, más probablemente a los efectos inhibitorios del buffer^[30c], puesto que las titulaciones espectrofotométricas se realizan en disoluciones amortiguadas para mantener el valor de pH deseado.



Esquema 6.3: Equilibrios ácido-base y de complejación involucrados en la interacción de AFB y SHA. La primera constante de disociación ácida de SHA se atribuye a la desprotonación del grupo -OH fenólico en acuerdo con la referencia [60].

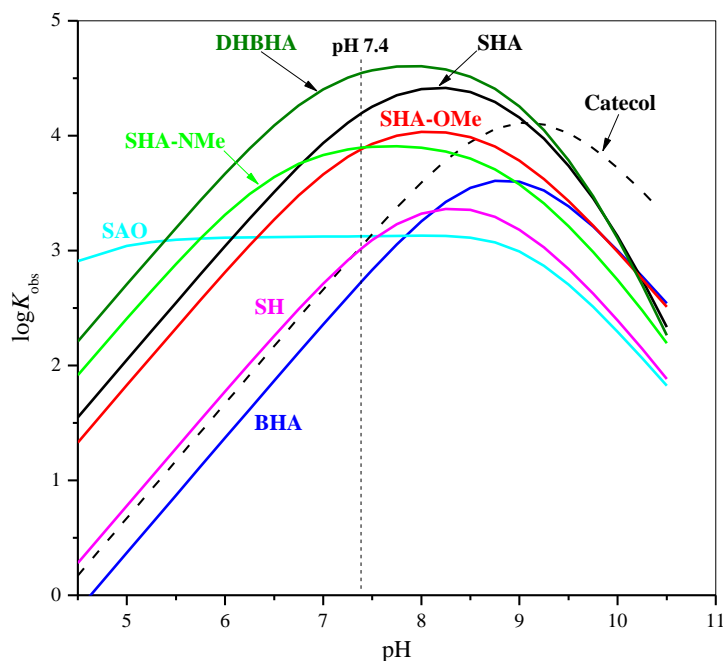


Figura 6.14: Perfiles de $\log K_{obs}$ vs. pH calculados para la complejación de AFB con los diferentes ligantes de la figura 7.13, empleando las constantes de equilibrio de la Tabla 7.3 y la ecuación (4). La línea discontinua es el perfil para catecol como ligante que se muestra a modo de comparación.

A partir del perfil de pH para la K_{obs} (Figura 6.14), se puede observar que el ligante SHA conserva una afinidad significativa hacia AFB en incluso disoluciones ligeramente ácidas, por ejemplo a pH 5.8 la K_{obs} es igual a 800 M^{-1} , valor similar de la K_{obs} para catecol a pH 7.4. En comparación con catecol, SHA posee una constante observada con un valor mayor de más de un orden de magnitud a pH 7.4, aunque los valores de K_{obs} para ambos ligantes difieren sólo en un factor de 2 cuando se comparan al pH óptimo de cada ligante, pH 8.2 para SHA y 9.1 para catecol. Por lo tanto, la ventaja de emplear SHA como ligante radica en su relativamente bajo valor de pK_a el cual desplaza el perfil de pH de acuerdo con la ecuación (5).

A fin de obtener mayor información sobre la naturaleza de la interacción entre AFB y SHA, se determinaron por espectrofotometría las K_{obs} a pH 7.4 con ácidos fenilborónicos sustituidos. Los resultados se muestran en la Figura 6.15 en términos de la Ecuación de Hammett, ecuación (7), donde K^X es la constante de equilibrio para el ácido fenilborónico con el sustituyente X , σ es la constante de Hammett para cada sustituyente X , K^H es la constante de equilibrio para el ácido fenilborónico sin sustituyente y ρ es la constante de

reacción de Hammett. Un compendio de los valores de σ para cada sustituyente se encuentra en la referencia [61].

$$\log K^X = \rho\sigma + \log K^H \quad (7)$$

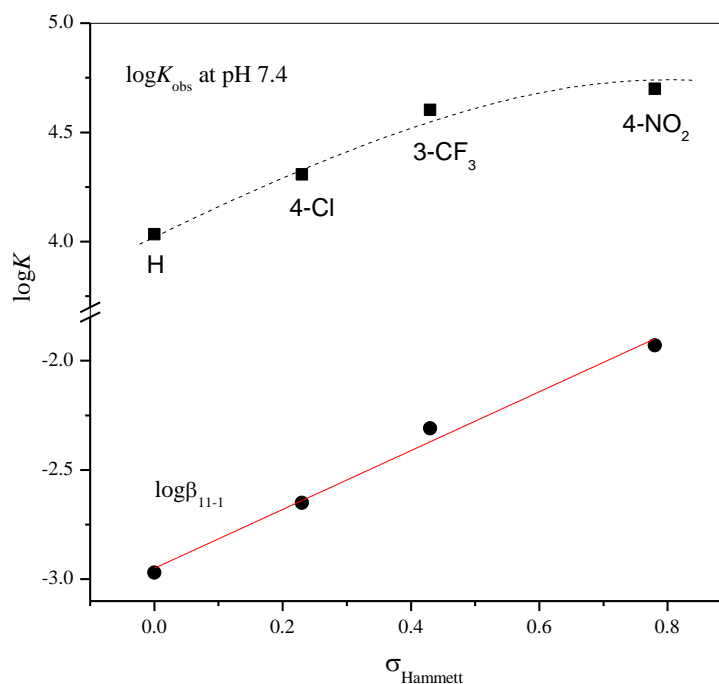


Figura 6.15: Gráficos de Hammett para las K_{obs} determinadas a partir de titulaciones espectrofotométricas para la interacción de SHA con ácidos fenilborónicos sustituidos a pH 7.4 (cuadrados) y para los respectivos valores de β_{11-1} (círculos).

El gráfico de Hammett para K_{obs} (cuadrados en Figura 6.15) no es lineal, sin embargo, los respectivos valores de β_{11-1} , calculados a partir de tales resultados, muestran una buena correlación lineal (círculos en Figura 6.15) con una pendiente $\rho=1.35\pm 0.09$. La pendiente positiva concuerda con la formación de un complejo aniónico y tal valor es cercano al informado en la literatura para la complejación de ácidos fenilborónicos con tiron ($\rho=1.5\pm 0.1$), un diol con $pK_a=8.6$.^[59] Es importante notar que el valor de K_{obs} para ácido 4-nitrofenilborónico alcanza un valor alto de $5\times 10^4 \text{ M}^{-1}$ a pH 7.4.

La estructura **1** propuesta del complejo de SHA con AFB parece razonable debido a la conocida labilidad de enlace NH en el ligante BHA, el cual se disocia simultáneamente con el enlace OH.^[62] Sin embargo, otras estructuras alternativas, que involucran la unión

a los átomos de oxígeno de los grupos fenol y ácido hidroxámico, no deben excluirse, en particular tomando en cuenta la observación de la unión de AFB al ligante *N*-metilado derivado de SHA,^[24] para el cual el tipo de estructura del complejo **1** es imposible. Como se ha mencionado previamente, los derivados metilados del ácido salicilhidroxámico (SHA-OMe y SHA-NMe) se han probado como ligantes para AFB por medio de estudios en RMN-¹¹B y espectrometría de masas, observando que forman complejos^[24] sin embargo, su estabilidad no fue determinada, ni tampoco los valores de p*K*_a de los ligantes.

De acuerdo a nuestros resultados en la Tabla 6.3, el valor de p*K*_a de SHA-OMe es muy cercano al valor de p*K*_{a1} de SHA, lo cual está en acuerdo con la asignación de la primera desprotonación del grupo OH fenólico de SHA.^[60] El valor de p*K*_{a1} de SHA-NMe es significativamente más bajo que el de SHA, como es típico para ácidos hidroxámicos *N*-sustituidos.^[63] Ambos derivados metilados forman complejos aniónicos con AFB con un valor de β₁₁₋₁ ligeramente más bajo en el caso de SHA-OMe y un valor más alto en el caso de SHA-NMe, al compararlos con el valor de β₁₁₋₁ para SHA. Los valores de *K*_{obs} para ambos derivados metilados, en el intervalo de pH entre 7-9, son más bajos que el valor de *K*_{obs} para SHA en un factor de 2 (ver Figura 6.14). Por lo tanto, la metilación de SHA no afecta significativamente la afinidad del ligante SHA por AFB. Tal resultado es esperado para el derivado *O*-metilado, ya que la estructura del complejo **1** involucra la disociación del grupo OH hidroxámico y por lo tanto se puede proponer la estructura **2** (Figura 6.16) para un complejo derivado del ligante SHA-OMe con estabilidad similar.

Sin embargo, si consideramos que la estructura **1** es válida, la *N*-metilación de SHA bloquearía por completo la unión con AFB. Otra estructura alternativa para el complejo entre AFB y SHA-NMe es la estructura **3** (Figura 6.16), la cual involucra la unión con los dos átomos de oxígeno del ligante doblemente desprotonado sin involucrar el grupo OH fenólico.^[24] Aunque en la literatura se encuentran informadas estructuras del tipo **3**, de complejos derivados de ácido difenilborínico y ácidos hidroxámicos sustituidos,^[64] el ácido bórico, que es menos electrofílico, no interactúa con ácidos hidroxámicos.^[65]

El par iónico intramolecular con el grupo *orto*-hidroxilo desprotonado puede estabilizar electrostáticamente el ión amonio haciendo posible la estructura **3**, no obstante, no se

han informado las constantes de complejos de ácido fenilborónico con ácidos hidroxámicos que no involucran el grupo *orto*-hidroxilo del ligante en la unión con el ácido fenilborónico.

Previamente solo la interacción de BHA con ácido bórico se ha informado en la literatura con $\log \beta_{11-1} = -5.70$,^[65] valor que es significativamente menor que para ácido fenilborónico (Tabla 6.3). La estructura **4** (Figura 6.16) concuerda con la estequiometría observada así como también con las estructuras informadas en la literatura de complejos bis(benzohidroxamato)borato.^[66]

En comparación con SHA, la afinidad de BHA hacia AFB es de uno a dos órdenes de magnitud más baja en términos de los valores β_{11-1} y K_{obs} (ver Tabla 6.3 y Figura 6.14). Las titulaciones de BHA con ácidos fenilborónicos sustituidos, nos permitieron calcular $\rho = 1.5 \pm 0.2$ para los valores de $\log \beta_{11-1}$, lo cual está en acuerdo con la formación de un complejo aniónico con la estructura **4**. Al emplear ácidos benzohidroxámicos con grupos electroaceptores, incluyendo el grupo catiónico Me_3N^+ , se mejoró muy levemente la afinidad hacia AFB (Tabla 6.3). Así, con base en estos resultados, la estructura **3** (Figura 6.16) es inconsistente con la alta afinidad de SHA-NMe hacia AFB.

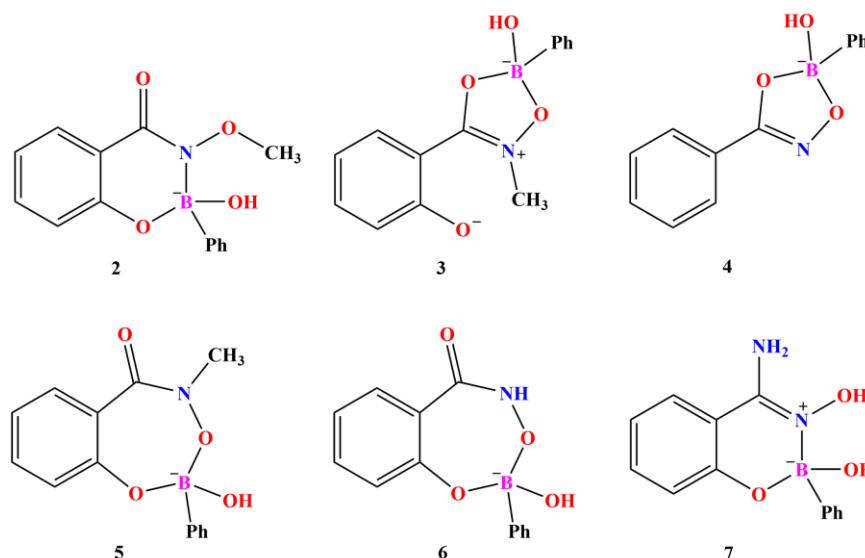


Figura 6.16: Estructuras propuestas de los complejos de ácido fenilborónico con ligantes derivados de ácido salicilhidroxámico.

Se obtuvo mayor información sobre el tipo de complejos formados por comparación de los espectros de RMN- ^1H de los ligantes libres y de los ligantes unidos a AFB (Figura 6.17). Como puede observarse en la Figura 6.17, el cambio en el patrón de las señales de los protones aromáticos es esencialmente el mismo para los tres ligantes tras su complejación con AFB, lo cual significa que el átomo de oxígeno del grupo fenólico está involucrado en los tres ligantes y por lo tanto se puede excluir la estructura **3** para el complejo con SHA-NMe. La complejación AFB con SHA-OMe induce el desplazamiento de la señal del grupo OMe hacia frecuencia más baja, lo cual está en acuerdo con la unión del ácido borónico con el átomo de nitrógeno del ácido hidroxámico (ver espectros 3 y 4) tal como en la estructura **2** (Figura 6.16). En el caso del ligante SHA-NMe, la señal del grupo NMe prácticamente conserva su desplazamiento tras su complejación con AFB (ver espectros 5 y 6) lo cual contradice nuevamente la estructura **3**, ya que dicha estructura requiere de una carga positiva sobre el átomo de nitrógeno (Figura 6.16).

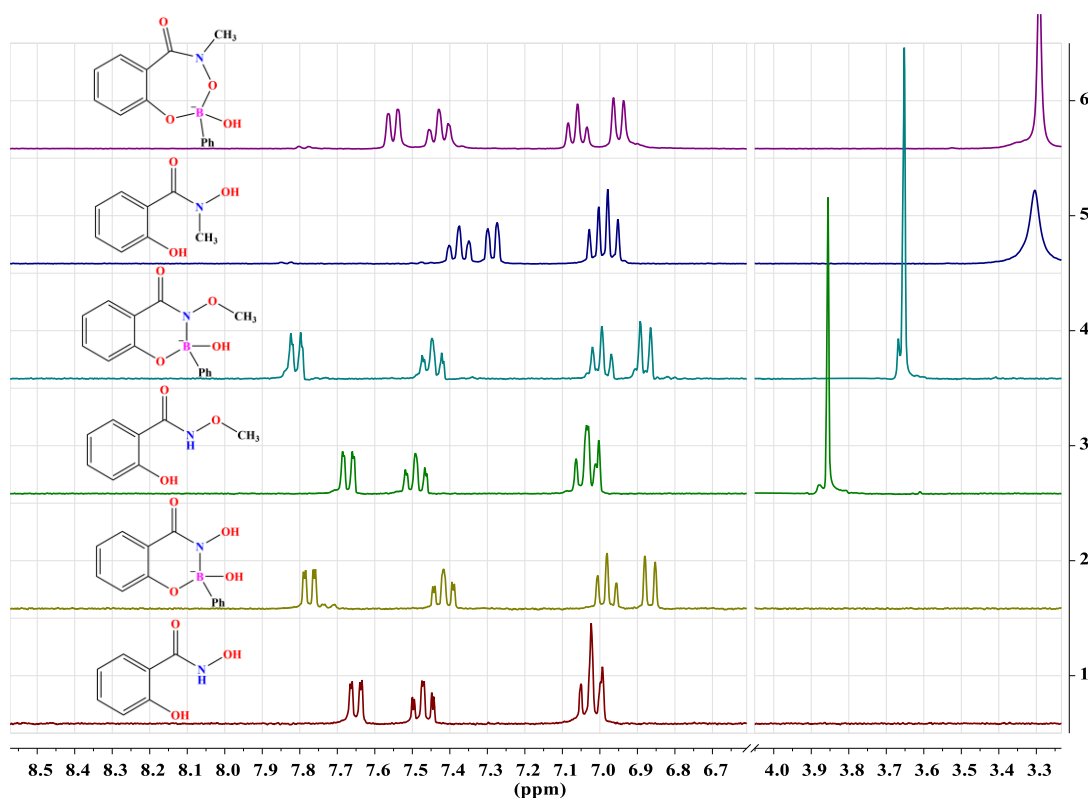


Figura 6.17: Espectros de RMN- ^1H en D_2O de los ligantes libres SHA, SHA-OMe y SHA-NMe (espectros 1, 3 y 5) y de sus complejos con AFB (espectros 2, 4 y 6) obtenidos *in situ* al añadir un equivalente de ácido fenilborónico- d_5 y un equivalente de NaOH a cada ligante.

Una posible estructura del complejo con SHA-NMe, consistente con la estequiometría observada y con el hecho de que se conserva el desplazamiento químico del grupo NMe, es la estructura **5** mostrada en la Figura 6.16. Además, es importante notar que la formación de estructuras cíclicas de 7 miembros se ha informado en la literatura para complejos derivados de ácidos difenilborónicos con *N*-metilsalicilaldoxima y algunos otros ligantes relacionados.^[67] Puesto que la estabilidad del complejo derivado de SHA-NMe es cercana a la del complejo derivado de SHA (Tabla 6.3), la formación de **5** nos dirige a proponer que la estructura **1** es incorrecta y en realidad la estructura del complejo con SHA es **6**. Sin embargo, como se mostrará a continuación, la estructura cristalina del complejo de AFB con SHA confirma la validez de la estructura **1**.

Se lograron obtener cristales de buena calidad para difracción de Rayos X de monocristal de los complejos derivados de AFB y ácido 4-nitrofenilborónico con SHA en disoluciones de DMSO. Las estructuras mostradas en la Figura 6.18 confirman la unión del ácido borónico hacia los átomos O,N- de SHA con la desprotonación de NH en lugar de OH del grupo ácido hidroxámico. Las estructuras diméricas observadas aparentemente son resultado de la condensación de dos complejos monoméricos con la eliminación de dos moléculas de agua. Se han descrito estructuras diméricas similares para complejos de AFB con salicilaldoxima.^[68]

Las distancias y ángulos de enlace alrededor del átomo de boro de los complejos con SHA se muestran en la Tabla 6.4.; a partir de tales valores es posible calcular el carácter tetraédrico del átomo de boro (THC), empleando la ecuación (8).^[69] Los valores de THC son 84.1% y 89.1% para los complejos con AFB y ácido 4-nitrofenilborónico, respectivamente. Tales valores altos de THC son parecidos a los obtenidos para enlaces covalentes B-N encontrados en compuestos amino boranos, mientras que aductos boronato típicamente exhiben valores de 70%.^[29, 70] En acuerdo con lo anterior, las distancias B-N tienen valores de alrededor de 1.55 Å (la distancia promedio en complejos boronato es de 1.69 Å.^[29, 69]

$$\text{THC} = \left[1 - \frac{\sum_{n=1-6} [109.5 - \theta_n]^\circ}{90^\circ} \right] \times 100 \quad (8)$$

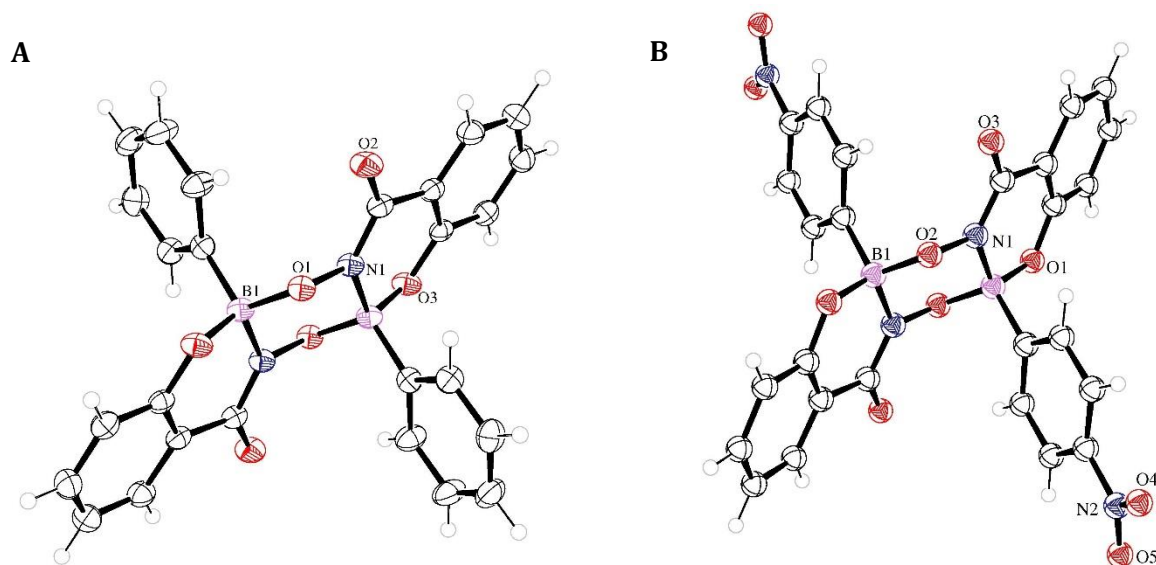
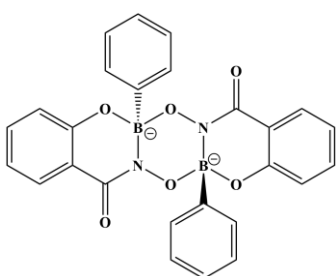
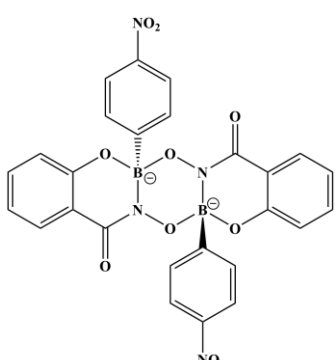


Figura 6.18: Estructuras de rayos X de los complejos de SHA con (A) ácido fenilborónico y (B) ácido 4-nitrofenilborónico. Las moléculas de contraíón y disolvente se han omitido para mayor claridad. Elipsoides con 50% probabilidad. Clave de colores: C, negro; O, rojo; N, azul; B, rosa; H, gris.

Tabla 6.4: Distancias y ángulos alrededor del átomo de boro para los complejos de SHA con ácido fenilborónico (AFB) y ácido 4-nitrofenilborónico (A4NFB).

Complejo	Distancia de enlace (Å)		Ángulo de enlace (°)	
 AFB+SHA	B—N	1.553(2)	C—B—N	111.8(1)
	B—O	1.472(3)	C—B—O	111.5(1)
	B—O	1.480(2)	C—B—O	111.9(1)
	B—C	1.619(2)	O—B—O	103.4(1)
			N—B—O	108.6(1)
			N—B—O	109.1(1)
 A4NFB+SHA	B—N	1.544(2)	C—B—N	109.9(1)
	B—O	1.487(2)	C—B—O	111.5(1)
	B—O	1.467(2)	C—B—O	111.6(1)
	B—C	1.624(2)	O—B—O	104.6(1)
			N—B—O	109.3(1)
			N—B—O	109.8(1)

El ligante saliciloil hidrazida (SH), el cual difiere de SHA solo por la presencia del grupo -NH_2 en lugar de -OH en el fragmento -C(O)NH- , podría ser de igual manera un buen ligante para AFB, pero tiene una constante de asociación 10 veces más pequeña (ver tabla 6.3). La afinidad SH hacia AFB es similar a la de catecol a pH 7.4 y valores de pH menores (Figura 6.14). Los valores de $\text{p}K_{\text{a}1}$ de SH y SHA son cercanos entre sí, así que la unión de AFB con el oxígeno fenólico podría ser similar, sin embargo el $\text{p}K_{\text{a}2}$ de SH es 1.4 unidades más alto, lo cual dificulta la sustitución en el grupo NH.

En el caso del ligante salicilamidoxima (SAO) se encontró que el complejo con AFB es predominante neutro con una constante de estabilidad relativamente alta de 1.3×10^3 a su pH óptimo de 6.6 (Tabla 6.3); tal valor permanece sin cambio en un intervalo amplio de pH entre 5.5-8.5, con valores de K_{obs} mayores que con SHA a pH por debajo de 6 y que con catecol a pH 7.4 (Figura 6.14). En la Figura 6.19 se muestra el espectro de RMN- ^{11}B para una mezcla de SAO con AFB en D_2O a pH 7.4, en el cual se observa una señal a 28.91 ppm perteneciente al ácido borónico libre y una señal a 3.18 ppm atribuida al complejo. El desplazamiento de la señal del complejo indica una coordinación tetraédrica del átomo de boro, la cual puede asignarse a la estructura zwitteriónica **7** (Figura 6.16).

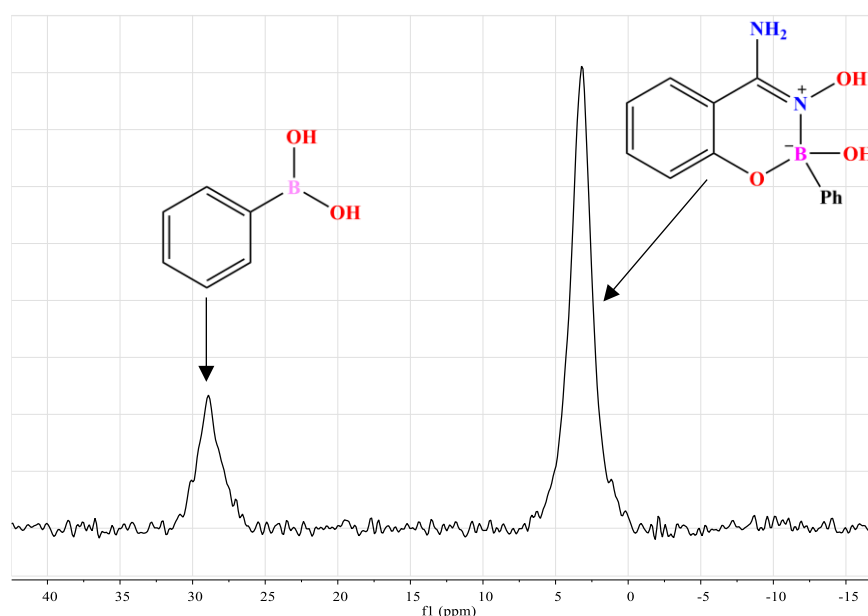


Figura 6.19: Espectros de RMN- ^{11}B (128 MHz) en D_2O de una mezcla equimolar (0.01 M) de AFB con SAO, a pH 7.4.

Debido a la alta afinidad del ligante SHA con AFB, se decidió preparar dos ligantes derivados dihidroxi, DHBHA y DHBDHA (Figura 6.13). La presencia de un segundo grupo hidroxilo en DHBHA, debería duplicar el valor de la constante de asociación por factor estadístico. Los resultados de las titulaciones por potenciometría y espectroscopia (Tabla 6.3), muestran que el valor de β_{11-1} se incrementa en un factor de 4.6 y un efecto similar es observado en el valor de K_{obs} medido por espectrofotometría a pH 7.4. Así, el ligante DHBHA es un mejor ligante para AFB con K_{obs} alrededor de $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ a pH 7.4 y con un perfil de pH que muestra su máximo de $\log K_{obs}$ desplazado a pH más bajo comparado con SHA (Figura 6.14).

La interacción de AFB con el ligante DHBDHA solo se estudió por espectrofotometría a pH 7.4, ajustando los resultados con el programa HypSpec 2008^[71] (ver Anexo 9.5, Figuras 9.18-9.19). Los espectros de absorción del ligante a diferentes valores de pH, nos permitieron calcular los cuatro valores de pK_a , 7.06 ± 0.05 , 8.64 ± 0.09 , 10.09 ± 0.11 y 10.09 ± 0.15 y la titulación con AFB a pH 7.4, nos permitió calcular dos valores consecutivos de K_{obs} $(1.6 \pm 0.1) \times 10^4$ y $(5.6 \pm 0.1) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ para la interacción con la primer y con la segunda molécula de AFB, respectivamente. Este último ligante es fluorescente con un máximo de emisión a 490 nm y su complejación con AFB provoca un aumento en su intensidad de fluorescencia con desplazamiento del máximo a 450 nm (Figura 6.20). Tal efecto es parecido al informado en la literatura para alizarina rojo S, ligante que aumenta su fluorescencia tras interactuar con AFB, lo cual se atribuye a la desprotonación del ligante.^[15a] El ajuste del perfil de titulación en la Figura 6.20 confirma la formación de ambos complejos 1:1 y 1:2 con constantes más grandes de $(2.5 \pm 0.3) \times 10^4$ y $(1.0 \pm 0.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente.

Hay un creciente número de ácidos borónicos en desarrollo e incluso ya aprobados para ser empleados como fármacos, lo cuales requieren de sensores.^[72] El ligante DHBDHA puede ser empleado como sensor de ácidos borónicos debido a la fuerte respuesta observada por fluorescencia al interactuar con AFB. La luminiscencia verde de DHBDHA a 475 nm depende linealmente de la concentración de AFB hasta $80 \mu\text{M}$ con un límite de detección de $4 \mu\text{M}$ (Figura 6.21), significativamente más bajo que para otros sensores descritos en la literatura.^[72]

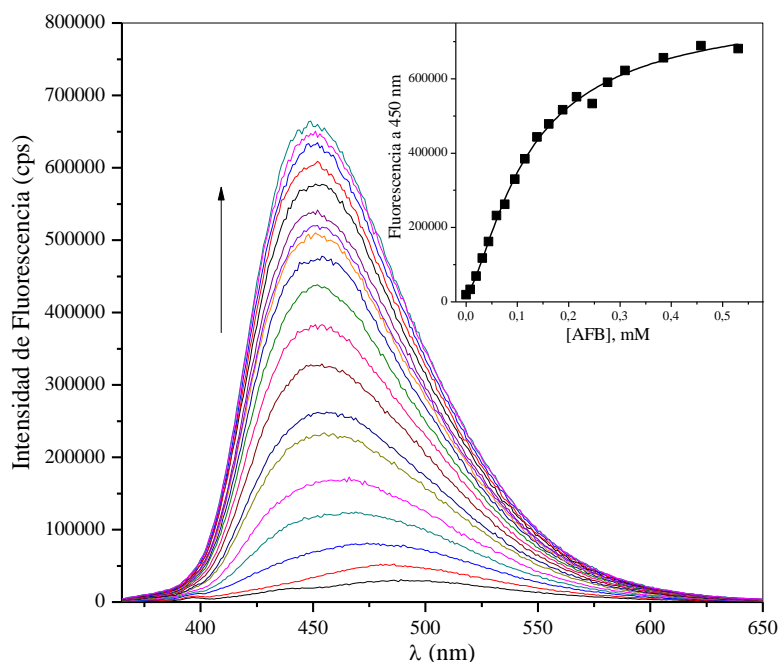


Figura 6.20: Titulación seguida por fluorescencia de 0.02 mM de DHBDA con AFB a pH 7.4 (longitud de onda de excitación, 355 nm). El recuadro superior derecho muestra el perfil de titulación a 450 nm; la línea sólida es el ajuste teórico generado por el programa HypSpec.

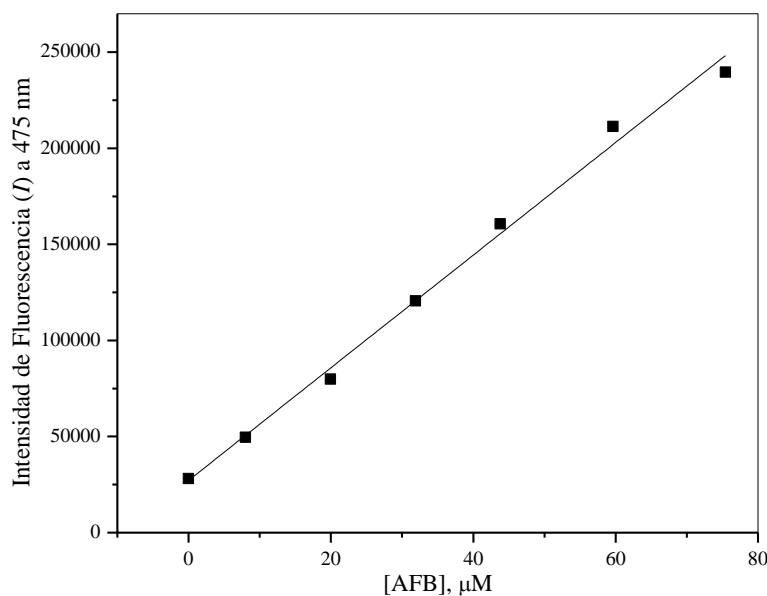


Figura 6.21: Gráfico de calibración para ácido fenilborónico (20 μM de DHBDA, pH 7.4, excitación a 355 nm). La ecuación de la recta: $I = (2.7 \pm 0.4) \times 10^4 + (2.93 \pm 0.01) \times 10^3 [\text{AFB}]$; donde [AFB] es la concentración de ácido fenilborónico en μM , I es la intensidad de fluorescencia a 475 nm.

Otros ligantes elegidos para estudiar su interacción con AFB involucran en su estructura un grupo amino, piridilo o imidazol en combinación con un grupo *orto*-hidroxilo. Tales ligantes, mostrados en la Figura 6.22, son capaces de interactuar con ácidos borónicos, de acuerdo con el Esquema 6.4, formando un éster boronato que se estabiliza por la donación del par de electrones en el átomo de nitrógeno. La serie de ligantes varía en la basicidad del átomo donador, siendo el ligante más básico 2-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)fenol (DHIF) y el ligante menos básico 2-(2-hidroxifenil)-piridina (PyPh).

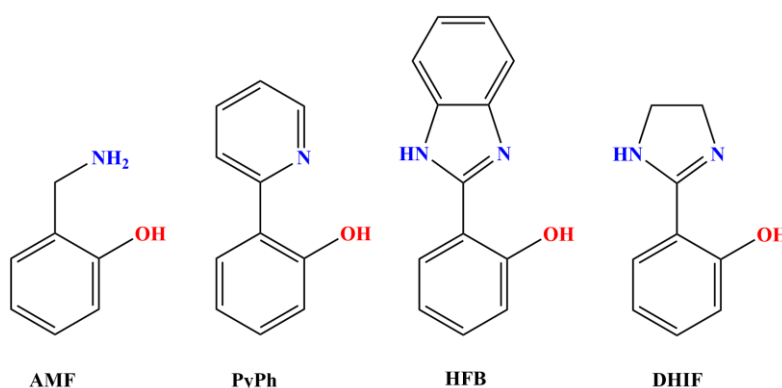
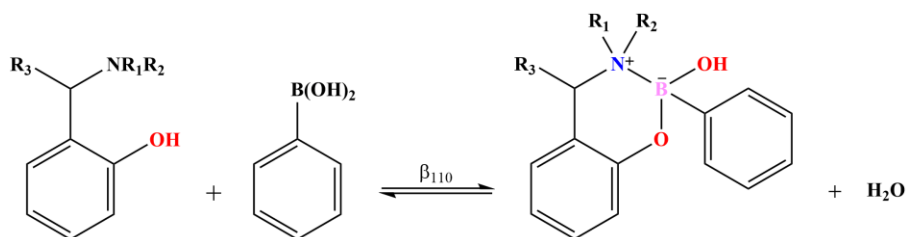


Figura 6.22: Otros ligantes empleados para el estudio de su interacción con ácido fenilborónico.



Esquema 6.4: Reacción entre ácido fenilborónico y ligantes que poseen un átomo de nitrógeno y un grupo *o*-hidroxilo.

La interacción de ácido fenilborónico con los diversos ligantes se estudió mediante potenciometría y en algunos casos mediante espectrofotometría UV-Vis y fluorescencia. En las Tabla 6.5 se muestran las constantes de equilibrio para la reacción de formación de ésteres borónicos determinadas por potenciometría o espectrofotometría UV-Vis y fluorescencia.

Tabla 6.5: Constantes de equilibrio determinadas por titulaciones potenciométricas de la reacción de formación de ésteres borónicos derivados de ácido fenilborónico con diferentes ligantes en agua a 25°C y fuerza iónica de 0.05 M por adición de NaCl.^(a)

Ligante	pK _a -NH ⁺	pK _a -OH	log β ₁₁₀	log β ₁₁₋₁
AMF	9.14	10.51	3.55	
PyPh ^(b)	4.1	11.3	3.3; 3.3 ^(c)	
HFB	5.31 ^(c)	8.93 ^(c)	4.06 ^(c)	-3.85 ^(c)
DHIF	11.43	6.69	4.1	

^(a) El pK_a de AFB se determinó en agua con un valor de 8.84 y en mezcla acuosa con 10% vol. de acetonitrilo con un valor de 9.19. Los errores estándar son menores a ±0.05 para AMF, HFB y en pK_a de DHIF, en otros casos son ±0.1; ^(b) Con 10% vol. de acetonitrilo. ^(c) Datos obtenidos de titulaciones espectrofotométricas UV-Vis o por fluorescencia.

Los resultados de la titulación potenciométrica de la mezcla de ácido fenilborónico (AFB) con 2-(aminometil)fenol (AMF), revela la formación de un complejo neutro con una constante de estabilidad relativamente alta, β₁₁₀=3.55×10³ M⁻¹. Sin embargo, la constante de estabilidad observada (*K*_{obs}), definida en términos de las concentraciones totales de los componentes, es mucho más pequeña que β₁₁₀ en este caso. El problema es que tanto el ligante AMF como AFB, experimentan procesos de disociación ácida y a cada valor dado de pH solo una fracción de ambos componentes existe en su forma neutra reactiva. Como consecuencia el valor de *K*_{obs} depende del valor de pH de acuerdo con la ecuación (9),^[59] donde *K*_{a1^L} y *K*_{a2^L} son las constantes de disociación ácida del ligante, *K*_{a^B} es la constante de disociación ácida de AFB y β₁₁₋₁=0 en este caso.

$$K_{obs} = (\beta_{110} + \beta_{11-1}/[H^+]) / \{(1 + [H^+]/K_{a1}^L + K_{a2}^L/[H^+])(1 + K_a^B/[H^+])\} \quad (9)$$

En la Figura 6.23 se muestra el perfil de pH para *K*_{obs} de AMF (línea color azul) calculado con la ecuación (8) y la constante de equilibrio mostrada en la Tabla 6.5. La ecuación (8) predice el máximo valor de *K*_{obs}= 600 M⁻¹ a pH=9, valor que es mucho más pequeño que β₁₁₀ y que el valor de *K*_{obs} para catecol como se muestra en la línea discontinua de color rojo de la Figura 6.23.

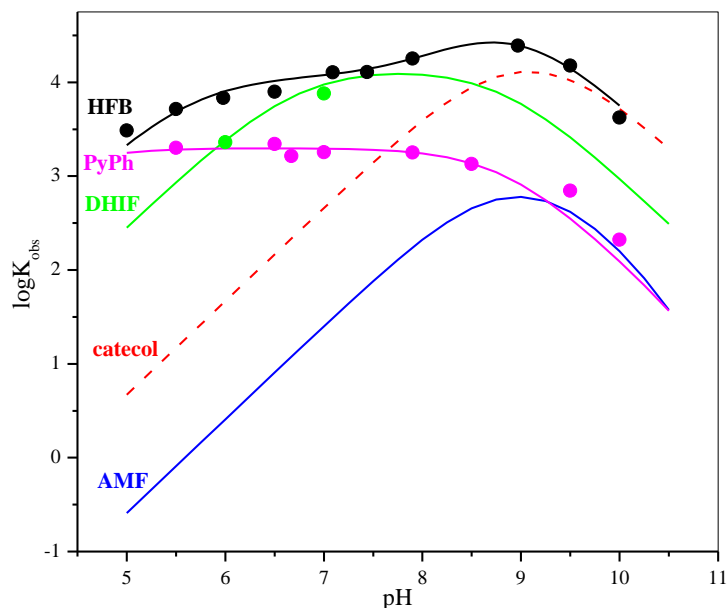


Figura 6.23: Perfiles de $\log K_{obs}$ vs. pH calculados para la complejación de AFB con los diferentes ligantes de la Figura 6.22, empleando las constantes de equilibrio de la Tabla 6.5 y la ecuación (8).

Los puntos representan los valores experimentales de $\log K_{obs}$ obtenidos por titulaciones espectrofotométricas. La línea discontinua es el perfil para catecol como ligante que se muestra a modo de comparación.

La titulación potenciométrica de la mezcla de PyPh con AFB se realizó en medio acuoso con 10% vol. de acetonitrilo, debido a la baja solubilidad del ligante en agua. El mismo esquema de reacción es válido con $\beta_{110}=2.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. Este ligante tiene un valor bajo de pK_{a1} y el intervalo de pH en el cual ambos componentes, PyPh y AFB, coexiste en sus formas neutras es amplio, pH de 5 a 8. Como resultado, a pesar del bajo valor de β_{110} , la estabilidad del complejo resultante del ligante PyPh en disolución neutra es casi 100 más grande que para el complejo resultante del ligante AMF (ver Figura 6.23).

A fin de corroborar el perfil calculado de K_{obs} , se obtuvieron los valores de las constantes observadas a diferentes valores de pH mediante titulaciones espectrofotométricas y fluorimetría. A modo de ejemplo, se muestran en la Figura 6.24, las titulaciones por espectrofotometría y fluorimetría a pH 6.5. Los perfiles de titulación a una sola longitud de onda se ajustan a un modelo teórico para una reacción con estequiometría 1:1 que nos permite calcular la K_{obs} por ajuste de mínimos cuadrados, empleando el programa

Origin Pro 8.5. Los valores de K_{obs} (puntos color rosa en la Figura 6.23), coinciden con el perfil calculado mediante los resultados de potenciometría.

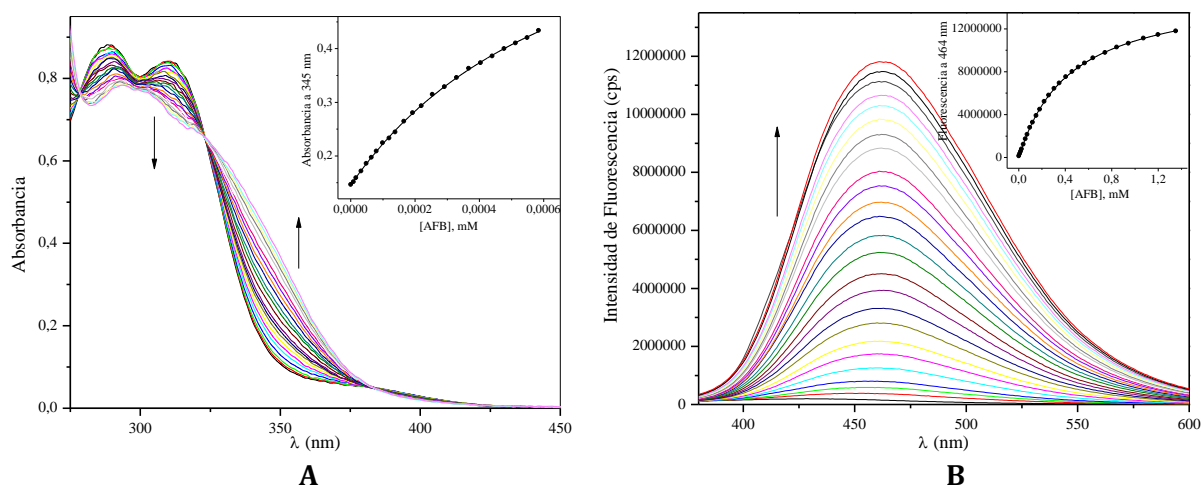


Figura 6.24: (A) Titulación seguida por espectrofotometría de 100 μM de PyPh con AFB a pH 6.7; (B) Titulación seguida por fluorescencia de 10 μM de PyPh con AFB a pH 6.5 (longitud de onda de excitación, 325 nm). Las flechas indican la dirección de los cambios espectrales inducidos por el incremento en la concentración de AFB. En los recuadros superior derecho de cada gráfico se muestra el perfil de titulación a una sola longitud de onda y el ajuste de tales perfiles de titulación.

En caso del ligante 2-(2-hidroxifenil)-1H-bencimidazol (HFB) la solubilidad en agua de tal compuesto no fue la adecuada para titulación potenciométrica aún en presencia de acetonitrilo, por lo tanto, la constante de equilibrio se obtuvo a partir de las constantes de formación observadas (K_{obs}) a diferentes valores de pH determinadas por espectrofotometría UV-Vis, técnica que permite realizar mediciones a concentraciones más bajas del ligante. A modo de ejemplo, en la Figura 6.25 se muestra la titulación de HFB con ácido fenilborónico a pH 7.09. El ligante HFB posee propiedades de fluorescencia^[73] y el valor de K_{obs} para la formación del éster derivado de dicho ligante también se determinó por fluorometría. En la Figura 6.25, se muestra la titulación seguida por fluorescencia de HFB con ácido fenilborónico a pH 7.44.

Los valores obtenidos de K_{obs} a diferentes valores de pH para la formación del éster derivado de HFB se muestran en la Figura 6.23 (puntos color negro).

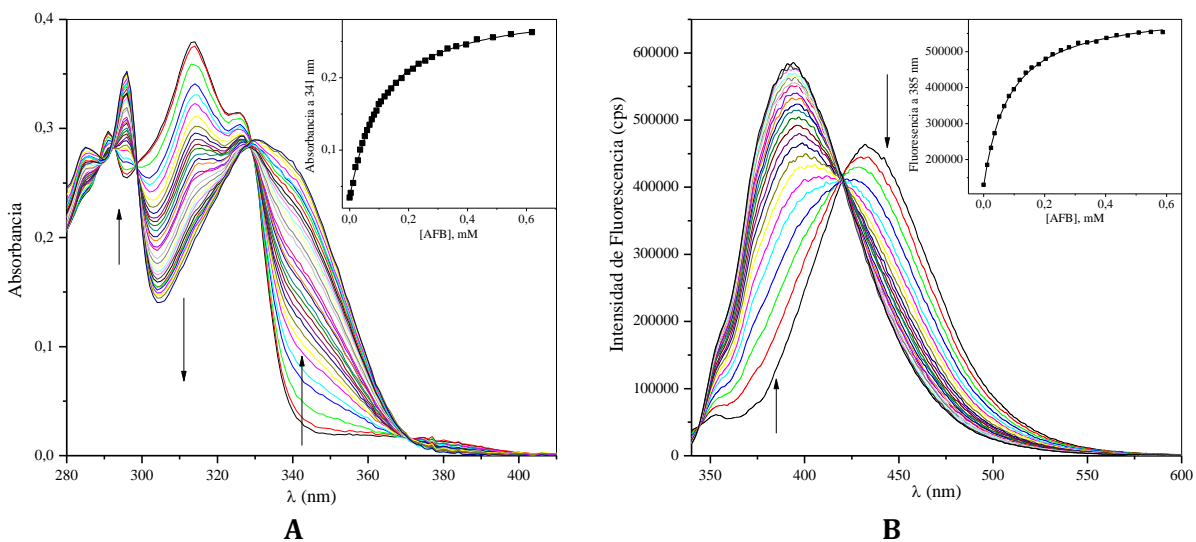
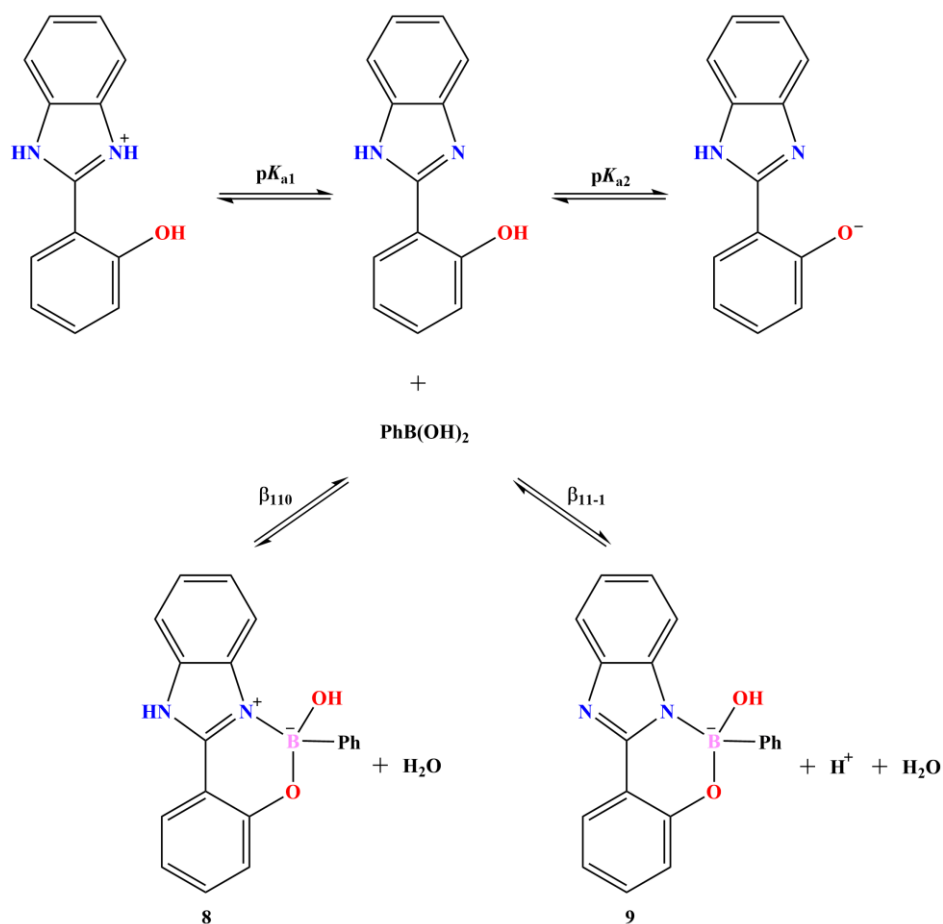


Figura 6.25: (A) Titulación seguida por espectrofotometría de 30 μM de HFB con AFB a pH 7.09; (B) Titulación seguida por fluorescencia de 4 μM de HFB con AFB a pH 7.44 (longitud de onda de excitación, 330 nm). Las flechas indican la dirección de los cambios espectrales inducidos por el incremento en la concentración de AFB. En los recuadros superior derecho de cada gráfico se muestra el perfil de titulación a una sola longitud de onda y el ajuste de tales perfiles de titulación.

Los valores experimentales de K_{obs} para el ligante HFB disminuyen a valores bajos de pH en acuerdo con la ecuación (8), sin embargo, en disoluciones básicas cuando el valor de pH se acerca al valor de $\text{p}K_{\text{a}2}^{\text{L}}$, en lugar de observar un decremento en el valor K_{obs} , como pasa con los ligantes AMF y PyPh, lo que se observa con el ligante HFB es un incremento en la constante de estabilidad que alcanza un máximo a pH 9 con subsecuente disminución a valores de pH más alto (ver Figura 6.23). Tal comportamiento puede ser racionalizado asumiendo la formación de un complejo adicional aniónico derivado de AFB y HFB, como resultado de la desprotonación del grupo NH del bencimidazol, con su respectiva constante de equilibrio β_{11-1} (ver estructura **9** en Esquema 6.5). La expresión de K_{obs} como función del pH, en este caso sigue la ecuación (8) completa. La línea sólida color negro en la Figura 6.23 es el perfil calculado con la ecuación (8) considerando los valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ del ligante y AFB, que nos permite calcular los valores de β_{110} y β_{11-1} mostrados en la Tabla 6.5. La estabilidad del complejo derivado de HFB es alta, en particular a pH 7.4 $K_{\text{obs}}=1.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, valor que es muy cercano al respectivo valor con el ligante SHA. También el valor de β_{11-1} para HFB es significativamente más grande comparado con el valor para catecol ($\log \beta_{11-1}=-4.33$).^[59]



Esquema 6.5: Equilibrios ácido-base y de complejación involucrados en la interacción de AFB y HFB.

A fin de obtener mayor información sobre la interacción de AFB con HFB, se determinaron las constantes de equilibrio observadas a pH 7 (donde $K_{\text{obs}} = \beta_{110}$) para la formación de ésteres derivados de tal ligante con ácidos fenilborónicos sustituidos (Tabla 6.6). En la Figura 6.26 se muestra el gráfico de $\log K_{\text{obs}}$ en función de la constante de Hammett σ para cada sustituyente en el ácido fenilborónico, observándose una correlación lineal con pendiente positiva ($\rho = 0.7 \pm 0.05$) que concuerda con la presencia de una carga negativa presente en el éster borónico formado. El valor de ρ obtenido en este caso, es más pequeño que el informado en la literatura para complejos de ácidos arilborónicos con catecoles;^[59] esto concuerda con la presencia de una carga negativa más pequeña desarrollada en el átomo de boro para un complejo neutro.

Tabla 6.6: Constantes de equilibrio observadas de la reacción de formación de ésteres borónicos derivados de HFB y ácidos fenilborónicos sustituidos en agua a pH 7.

Sustituyente en ácido fenilborónico	Constante de Hammett $\sigma^{(a)}$	$\log K_{obs}^{(b)}$
H	0	4.11
4-Cl	0.23	4.30
4-CF ₃	0.54	4.47
3-NO ₂	0.71	4.62

(^a) Compendio de constantes de Hammett en referencia [61]; (^b) Los errores estándar en $\log K$ son menores a ± 0.05 .

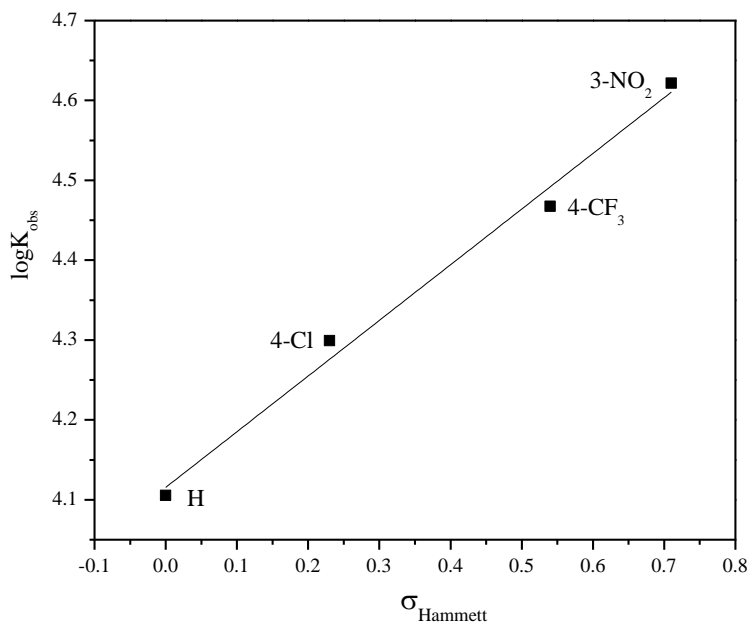


Figura 6.26: Gráfico de Hammett para los valores K_{obs} , determinados a partir de titulaciones espectrofotométricas a pH 7.0, de la interacción de HFB con ácidos fenilborónicos sustituidos.

Al comparar las constantes de estabilidad de los complejos derivados de los ligantes PyPh y HFB, se observa un incremento en la estabilidad para el caso del ligante más básico, HFB. Con el ligante AMF, el complejo formado es menos estable a pesar de que AMF es un ligante aún más básico. Esto último podría atribuirse a que en el ligante AMF el átomo de nitrógeno tiene una hibridación sp^3 y a que hay mayor flexibilidad del grupo amino alifático. Al estudiar el ligante DHIF, que es el más básico de todos los ligantes

pero con átomo de nitrógeno sp^2 como PyPh y HFB, se obtuvo un valor de β_{110} esencialmente igual que para el ligante HFB (ver Tabla 6.5). Se debe tener en cuenta que en el caso del ligante DHIF, el valor de pK_{a1}^L corresponde a la disociación del grupo hidroxilo del fenol y que pK_{a2}^L corresponde a la disociación del grupo amino;^[74] así, el valor de β_{110} para la complejación con el ligante neutro, debería ser mucho más grande en acuerdo con la alta basicidad del grupo amino.

Es de mencionarse que el equilibrio de la reacción entre el ligante DHIF y AFB fue más lento, así que, se realizaron estudios cinéticos para la reacción de complejación por espectrofotometría. En la Figura 6.27 se muestra el curso de una cinética de reacción y también las curvas cinéticas a la longitud de onda del máximo de absorción de DHIF, bajo la condición $[AFB] \gg [DHIF]$, lo cual se ajusta a una ecuación de velocidad de primer orden.

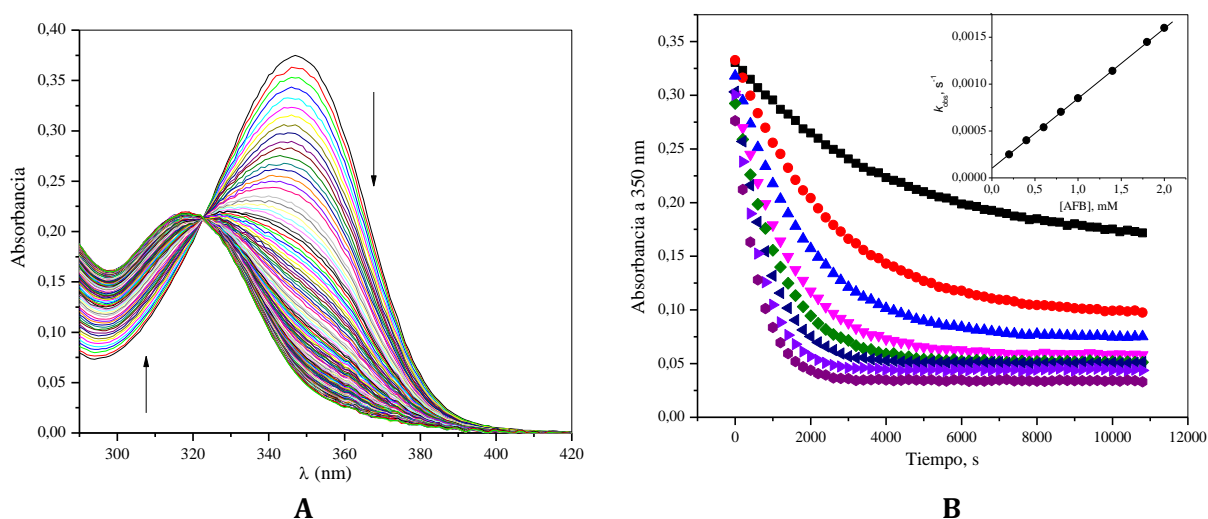


Figura 6.27: (A) Cinética de reacción de una mezcla $50 \mu\text{M}$ de DHIF y 2 mM de AFB a pH 7.0. Los espectros fueron medidos cada 30 segundos durante un tiempo total de 85 min; (B) Curvas cinéticas a 350 nm de la reacción de DHIF con diferentes concentraciones de AFB. En el recuadro superior derecho se muestra las constantes de velocidad observadas vs. la concentración de AFB.

Las constantes de velocidad de primer orden observadas (k_{obs}), obtenidas del ajuste de las curvas cinéticas, dependen linealmente de la concentración de AFB de acuerdo con la

ecuación (10) para la reacción de asociación reversible, siendo k_1 y k_{-1} las constantes de velocidad de formación y disociación del complejo, respectivamente.

$$k_{\text{obs}} = k_{-1} + k_1[\text{AFB}] \quad (10)$$

La relación entre la pendiente y la intercepción de la línea es igual a la K_{obs} , $k_1/k_{-1} = K_{\text{obs}} = 7600 \text{ M}^{-1}$ a pH 7.0. Tal valor de K_{obs} se muestra en la Figura 6.23 junto con el valor obtenido a pH 6.0 ($K_{\text{obs}} = 2300 \text{ M}^{-1}$), como puntos color verde, los cuales coinciden con el perfil calculado a partir de datos potenciométricos.

Los ésteres borónicos obtenidos a partir de ácido fenilborónico (AFB) y los ligantes DHIF, HFB y PyPh se caracterizaron por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C (ver anexo 9.6). Además se obtuvieron cristales de buena calidad para la determinación estructural por difracción de rayos X de monocristal (Figura 6.28).

Las distancias y ángulos de enlace alrededor del átomo de boro se muestran en la Tabla 6.7. El carácter tetraédrico (THC) en cada uno de los ésteres derivados de ácido fenilborónico y los diferentes ligantes, PyPh, HFB y DHIF es 85%, 89% y 88%, respectivamente. Los valores de THC son inusualmente altos ya que aductos boronato típicamente exhiben valores de 70%, además la distancia B–N también es más corta de lo usual puesto que la distancia promedio en complejos boronato como se mencionó anteriormente es de 1.69 Å.

Las distancias B–N de los complejos son más cortas conforme aumenta la basicidad del átomo de Nitrógeno y las distancias B–O son más largas conforme aumenta el grado de acidez del grupo –OH en los ligantes. Así, para el ligante con el átomo donador más básico DHIF ($pK_a = 11.43$) se tiene la menor distancia B–N de 1.565(3) Å, el ligante HFB ($pK_a = 5.31$) tiene una distancia B–N de 1.571(9) Å y el ligante con el átomo donador menos básico PyPh ($pK_a = 4.1$) exhibe una distancia B–N de 1.664(4) Å. Las distancias B–O para cada uno de los ésteres derivados de los diferentes ligantes son: 1.515(3) Å (DHIF, $pK_a = 6.69$), 1.491(9) Å (HFB, $pK_a = 8.93$) y 1.479(4) Å (PyPh, $pK_a = 11.3$).

La distancia B–N del éster derivado de PyPh y AFB es un poco más larga que la observada para el complejo derivado de PyPh y el ácido más fuerte difenilborónico (1.627(3) Å),^[75d]

pero para el caso del complejo derivado de HFB y AFB, la distancia B-N es más corta al compararla con complejo derivado de HFB y ácido difenilborónico (1.606(3) Å).^[75b]

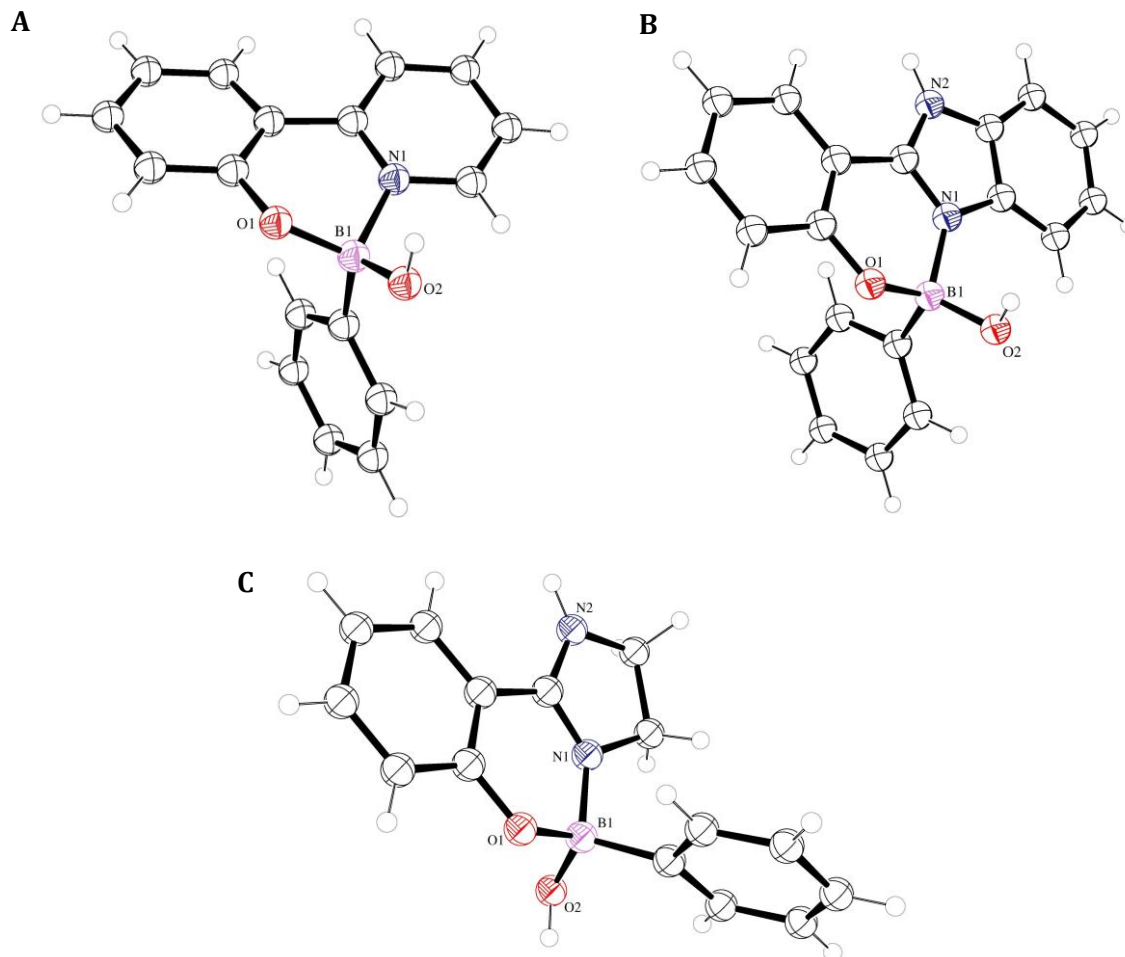
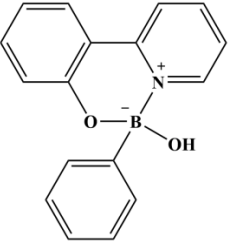
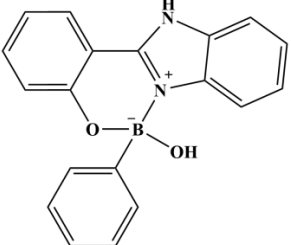
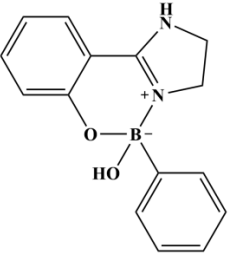


Figura 6.28: Estructuras de rayos X de los ésteres derivados de ácido fenilborónico y los ligantes (A) PyPh, (B) HFB y (C) DHIF. Las moléculas de disolvente se han omitido para mayor claridad. Elipsoides con 50% probabilidad. Clave de colores: C, negro; O, rojo; N, azul; B, rosa; H, gris.

Tabla 6.7: Distancias y ángulos alrededor del átomo de boro para los ésteres borónicos derivados de ácido fenilborónico y los ligantes PyPh, HFB y DHIF.

Ester borónico	Distancia de enlace (Å)		Ángulo de enlace (°)	
 PyPh + AFB	B—N	1.652(3)	C—B—N	108.1(2)
	B—O	1.479(4)	C—B—O	113.9(2)
	B—OH	1.421(3)	C—B—OH	110.2(2)
	B—C	1.614(3)	O—B—O	110.7(2)
			N—B—OH	118.8(2)
			N—B—O	104.9(2)
 HFB + AFB	B—N	1.571(9)	C—B—N	109.5(5)
	B—O	1.491(9)	C—B—O	112.4(5)
	B—OH	1.471(8)	C—B—OH	111.5(5)
	B—C	1.624(9)	O—B—O	107.2(5)
			N—B—OH	109.1(5)
			N—B—O	106.9(5)
 DHIF + AFB	B—N	1.565(3)	C—B—N	108.4(2)
	B—O	1.515(3)	C—B—O	109.0(2)
	B—OH	1.451(3)	C—B—OH	114.5(2)
	B—C	1.607(3)	O—B—O	109.8(2)
			N—B—OH	108.1(2)
			N—B—O	106.8(2)

RESUMEN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Con el fin de evitar los problemas de auto-oxidación que sufren los catecoles en disolución, se estudió la formación de ésteres borónicos con diversos ligantes, los cuales involucran en su estructura un grupo con un átomo donador y un grupo *orto*-hidroxilo.

Debido a que en la literatura se encontraron informes de la complejación de ácido fenilborónico (AFB) con ácido salicilhidroxámico (SHA), tal ligante y sus derivados

fueron elegidos en este estudio, además de otros ligantes con un grupo amino, piridilo o imidazol.

La constante de estabilidad observada para el complejo formado a partir de AFB y SHA tiene un valor máximo a pH 8.2 de $2.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ y se mantiene con valores de 10^3 M^{-1} en un intervalo de pH de 6 a 10. La estructura de rayos X de tal complejo, confirma la coordinación del átomo de boro de AFB, hacia los átomos de nitrógeno y oxígeno de SHA.

Los ligantes que involucran en su estructura unidades imidazol y fenol, formaron complejos neutros tetraédricos con AFB en disolución acuosa a pH 7, con constantes de estabilidad observada de alrededor de 10^4 M^{-1} para los ligantes 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (HFB) y 2-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)fenol (DHIF).

En las estructuras de rayos X de los complejos obtenidos se observó que la distancia del enlace covalente B-N es más que corta que la observada en otros aductos boronato.

Los ligantes estudiados pueden ser empleados para el autoensamble en agua de estructuras supramoleculares basadas en ésteres borónicos.

6.3 ÁCIDOS BORÓNICOS COMO RECEPTORES DE ANIONES.

Como se mencionó en los antecedentes los ácidos borónicos, a pesar de poseer grupos hidroxilo, tienen la propiedad de actuar como ácidos de Lewis formando aductos con geometría tetraédrica al interactuar con aniones (**A**, Figura 6.29).^[76] Sin embargo en estado sólido se han observado complejos de ácidos borónicos con carboxilatos, en los cuales los ácidos borónicos actúan como ácidos de Brønsted, actuando como donadores de hidrógeno en una interacción tipo enlace de hidrógeno (**B**, Figura 6.29).

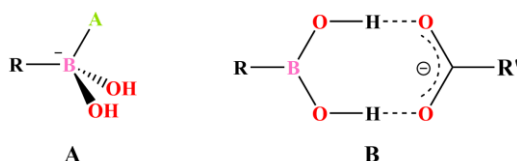


Figura 6.29: Tipos posibles de unión entre ácidos borónicos y aniones.

El tipo de interacción por enlace de hidrógeno bidentado observado en complejos ácido borónico-carboxilato es evocativo de la complejación de carboxilatos por medio de ureas, grupo funcional que se ha empleado ampliamente en el diseño de receptores de aniones.^[77] A pesar de la posibilidad de emplear ácidos borónicos como receptores de aniones del tipo ácido de Brønsted, no hay informes en la literatura acerca de la estabilidad y selectividad de complejos ácido borónico-carboxilato en disolución. Además, no es claro si los ácidos borónicos pueden interactuar por enlace de hidrógeno con otros aniones; por ejemplo en la literatura se menciona la posible interacción de enlace de hidrógeno entre los grupos B-OH y el ión cloruro como la causa del apagamiento de la fluorescencia de un receptor basado en ácido borónico en diclorometano.^[78]

Con base en lo anterior, se decidió realizar un estudio de la interacción entre ácidos arilborónicos y una serie de aniones en disolventes apróticos como dimetilsulfóxido y acetonitrilo empleando espectrometría de RMN-¹H, ¹¹B y espectrofotometría UV-Vis.

En la Figura 6.30, se muestra el curso de una titulación de ácido fenilborónico con acetato de tetrabutilamonio seguida por resonancia magnética nuclear de protón en DMSO- d_6 . En dicha titulación se observa el desplazamiento hacia frecuencias altas de la señal correspondiente a los protones B-OH, lo cual manifiesta una interacción de tipo puente de hidrógeno entre el ácido borónico y el anión, tal como **B** en la Figura 6.29. Es de notarse el ensanchamiento de la señal de los protones B-OH, asociado posiblemente con un intercambio relativamente lento entre la forma libre del ácido fenilborónico y su forma asociada con el anión AcO^- .

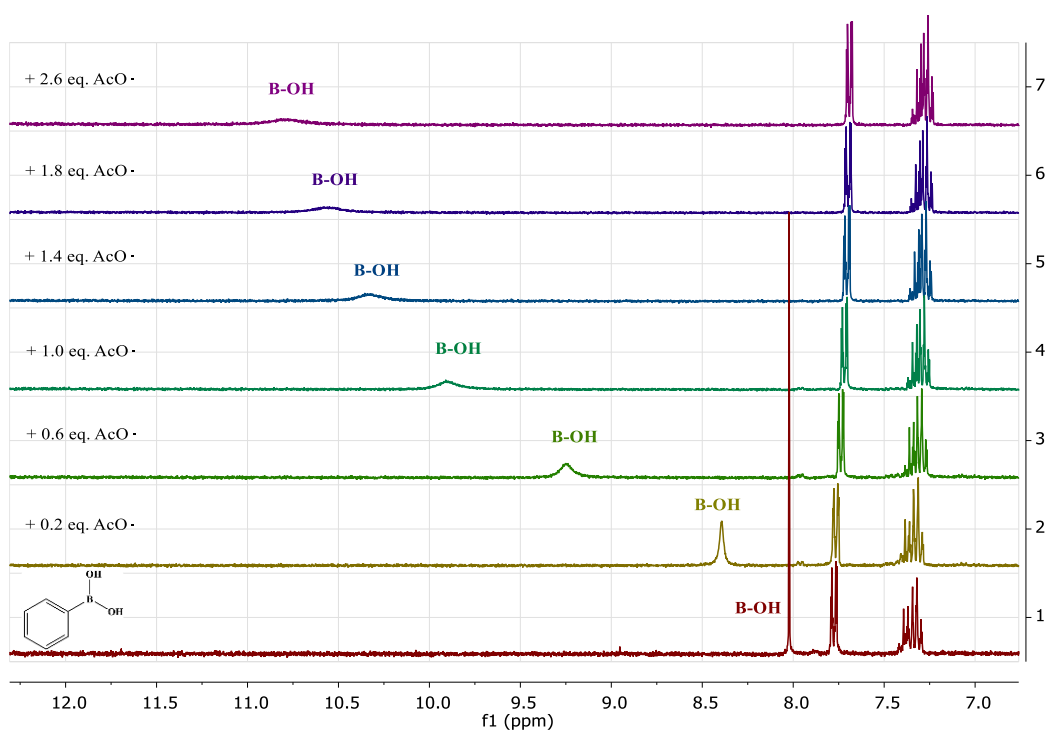


Figura 6.30: Espectros de RMN^{-1}H (300 MHz) en $\text{DMSO}-d_6$ de ácido fenilborónico 5mM con diferentes adiciones de $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{AcO}^-$.

Los perfiles de titulación de diferentes ácidos arilborónicos con AcO^- en DMSO, considerando el desplazamiento químico de la señal de protón $-\text{B}(\text{OH})_2$, se muestran en la Figura 6.31. Tales perfiles se ajustan a un modelo de asociación con estequiometría 1:1, lo cual nos permitió calcular los valores de las constantes de asociación K_A empleando la ecuación (1); dichos valores de K_A se muestran en la Tabla 6.8, se muestra

también el cambio de desplazamiento químico ($\Delta\delta$) de la señal de protón B-OH del ácido borónico y de la señal del grupo metilo CH_3 del anión, tras la asociación.

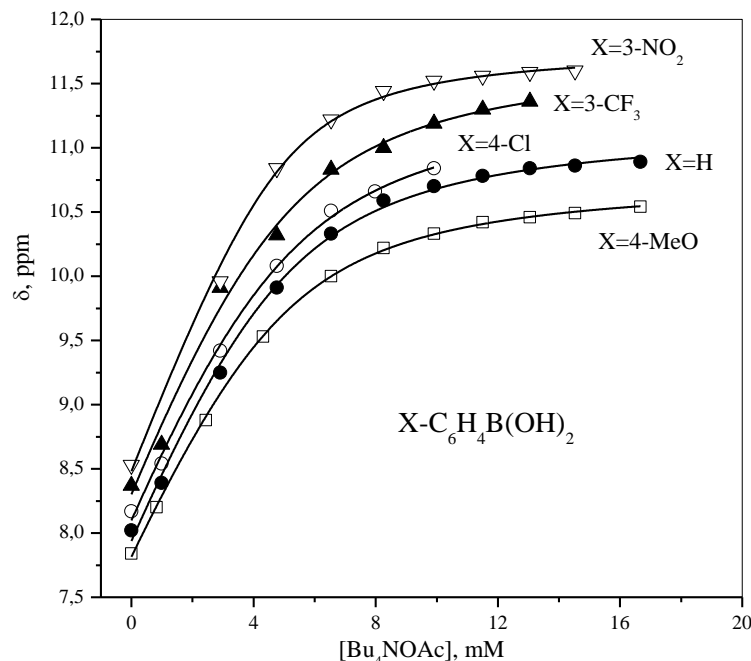


Figura 6.31: Perfiles de titulaciones seguidas por RMN- ^1H en DMSO-d_6 de ácidos arilborónicos 5mM con Bu_4NOAc . Las líneas representan los perfiles teóricos calculados mediante la ecuación 1.

Tabla 6.8: Constantes de asociación (K_A), desplazamientos inducidos ($\Delta\delta$) en las señales de protón para la interacción del anión acetato con ácidos arilborónicos sustituidos en DMSO y constantes de Hammett (σ) para cada sustituyente.

Sustituyente	K_A, M^{-1}	$\Delta\delta, \text{ppm (B-OH)}$	$\Delta\delta, \text{ppm (CH}_3\text{COO}^-)$	$\sigma^{(a)}$
4-MeO	990 ± 50	2.95	0.09	-0.27
H	950 ± 50	3.24	0.14	0
4-Cl	800 ± 100	3.34	0.15	0.23
3- CF_3	910 ± 100	3.44	0.20	0.43
4- CF_3	$3000 \pm 100^{(b)}$	3.10	0.22	0.54
3- NO_2	2100 ± 100	3.27	0.27	0.71
4- NO_2	$6200 \pm 100^{(b)}$	3.15	0.28	0.78

^(a) Compendio de constantes de Hammett en referencia [61], ^(b) Valores obtenidos de titulaciones espectrofotométricas UV-Vis, puesto que las K_A calculadas por titulaciones en RMN daban valores con gran incertidumbre.

A partir de los valores de K_A , obtenidos para la asociación entre ácidos arilborónicos con diferentes sustituyentes y el anión acetato, es posible evaluar el efecto del sustituyente en términos de una correlación de Hammett, para lo cual se construyó el gráfico mostrado en la Figura 6.32.

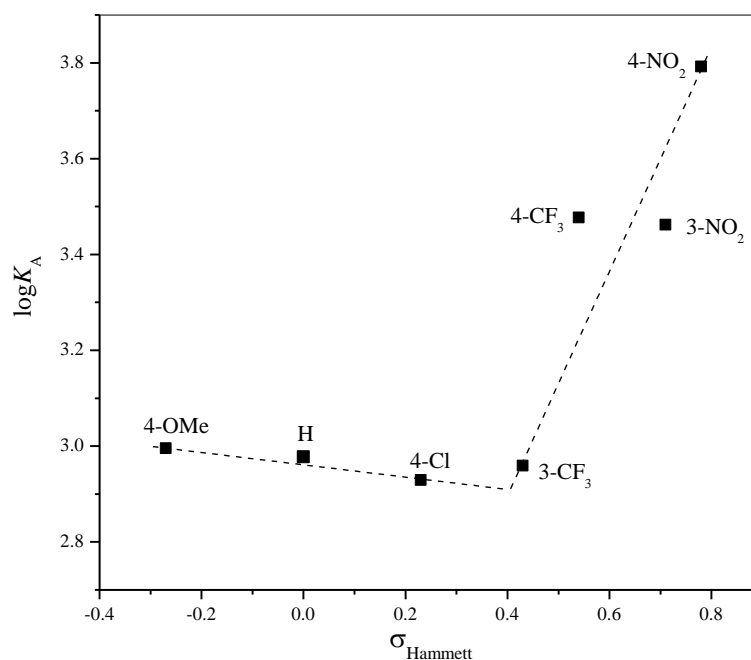


Figura 6.32: Gráfico de Hammett para las constantes de asociación de ácidos arilborónicos sustituidos $X\text{-C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$ con el anión AcO^- en DMSO.

Como puede observarse en la Figura 6.32, el gráfico de Hammett no es lineal. Sin embargo, analizando por partes, para el caso de sustituyentes fuertemente electroattractores la pendiente de la recta es positiva, lo cual indica la presencia de una carga negativa en el complejo formado. Con sustituyentes electrodonadores y débilmente electroattractores, la pendiente de la recta es ligeramente negativa. En la literatura podemos encontrar el valor de la pendiente del gráfico de Hammett ρ alrededor de 2, para las constantes de disociación ácida[‡] y para las constantes de estabilidad de ésteres aniónicos tetraédricos de ácidos borónicos.^[15b, 59] La pendiente de la recta, en el gráfico de la Figura 6.32, con sustituyentes fuertemente electroattractores ($-\text{CF}_3$ y $-\text{NO}_2$) tiene

[‡] Para los ácidos borónicos el proceso de disociación ácida en realidad corresponde a la adición de anión hidróxido en el centro de B(III).

también un valor de 2, tal como el valor de ρ encontrado en la literatura para la formación de complejos aniónicos covalentes; sin embargo con los demás sustituyentes no se tiene una idea clara de la tendencia. Una posible explicación podría ser un balance complicado entre la formación de los complejos y la solvatación de los ácidos borónicos, ambos involucrando interacciones por enlace de hidrógeno con el grupo $-B(OH)_2$.

Por otra parte, el desplazamiento inducido en la señal de protón para el grupo metilo en el anión acetato, sigue la misma tendencia que la constante σ de Hammett así, como se observa en la Tabla 6.8, el cambio en el desplazamiento químico del protón CH_3 es mayor para ácidos borónicos más fuertes, es decir con sustituyentes fuertemente electroattractores.

Adicionalmente, se realizaron titulaciones seguidas por RMN- 1H de ácido fenilborónico en DMSO con las sales de tetrametilamonio de ácidos benzoicos sustituidos, obteniendo los perfiles de titulación de la Figura 6.33, a partir de los cuales se obtuvieron las K_A mostradas en la Tabla 6.9.

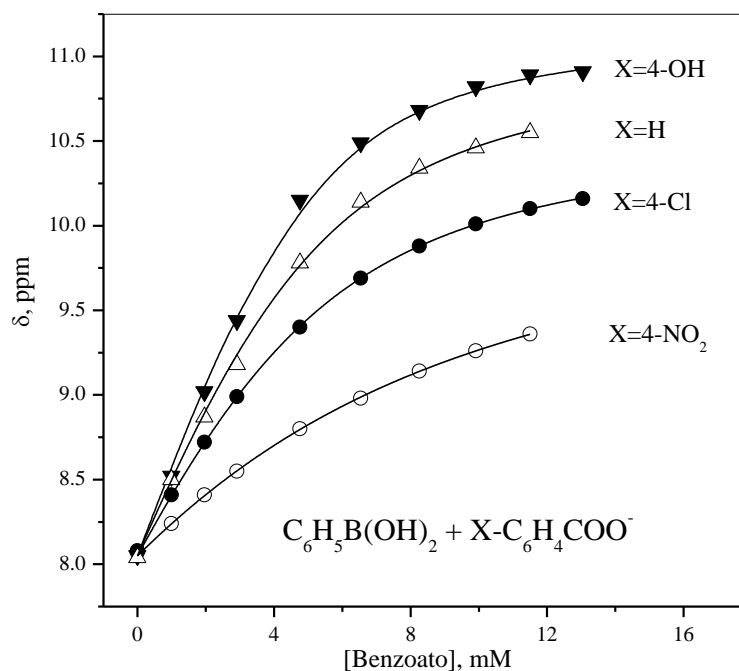


Figura 6.33: Perfiles de titulaciones seguidas por RMN- 1H en DMSO- d_6 de ácido fenilborónico 5mM con las sales de Me_4N de ácidos benzoicos sustituidos. Las líneas representan los perfiles teóricos calculados mediante la ecuación 1.

Tabla 6.9: Constantes de asociación (K_A), desplazamientos inducidos ($\Delta\delta$) en las señales de protón $-B(OH)_2$ para la interacción de ácido fenilborónico con benzoatos sustituidos en DMSO y constantes de Hammett (σ) para cada sustituyente.

Sustituyente	K_A, M^{-1}	$\Delta\delta, ppm (B-OH)$	$\sigma^{(a)}$
4-OH	1300±100	3.13	-0.37
H	720±90	3.00	0
4-Cl	490±20	2.56	0.23
4-NO ₂	132±6	2.40	0.78

^(a) Compendio de constantes de Hammett en referencia [61].

La correlación de Hammett (Figura 6.34) para las constantes de asociación de ácido fenilborónico con aniones benzoato sustituidos, muestra una pendiente con valor negativo ($\rho = -0.87 \pm 0.07$) como se esperaría ya que la asociación se ve desfavorecida con sustituyentes electroattractores en el anión benzoato.

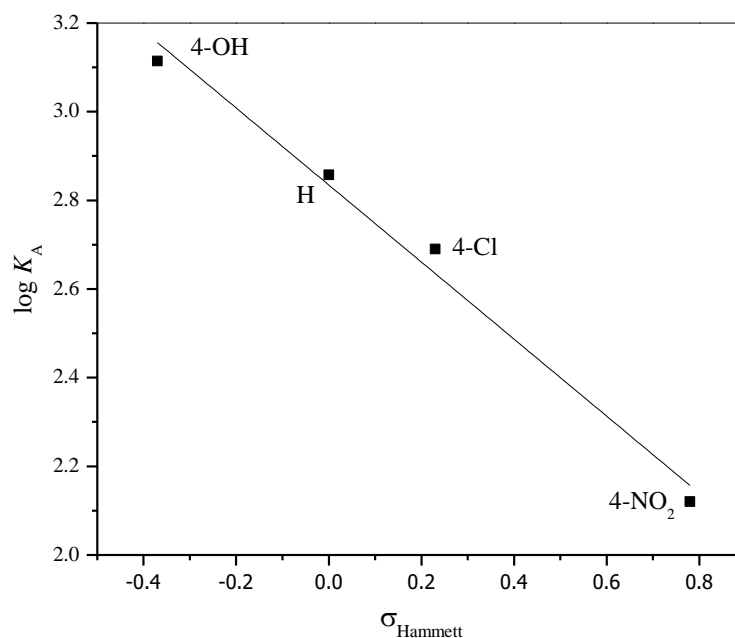


Figura 6.34: Gráfico de Hammett para las constantes de asociación de ácido fenilborónico con aniones benzoato sustituidos $X-C_6H_4-CO_2^-$ en DMSO.

La interacción de ácido fenilborónico con otros aniones tales como Cl^- , HSO_4^- , Br^- y I^- en $\text{DMSO-}d_6$ se analizó también por RMN- ^1H . Los perfiles de titulación de ácido fenilborónico con los diferentes aniones como sales de tetrabutilamonio se muestran en la Figura 6.35 y las constantes de asociación obtenidas mediante el ajuste de dichas curvas de titulación empleando la ecuación 1, se indican en la Tabla 6.10. Con el anión HSO_4^- no fue posible calcular la constante de asociación debido a que en este caso el perfil de titulación permanece lineal hasta altas concentraciones del anión.

En el caso de las titulaciones con Cl^- y HSO_4^- , la adición de los aniones ocasionó un cambio en el desplazamiento de la señal B-OH hacia frecuencias altas, en acuerdo con la formación de un enlace de hidrógeno. Con los aniones Br^- y I^- se observó un cambio en el desplazamiento hacia frecuencias bajas, dicho efecto contrario se logró explicar al realizar las mismas titulaciones con acetonitrilo como disolvente, lo cual se discutirá más adelante.

Las constantes de asociación de ácido fenilborónico con aniones tales como acetato y cloruro en DMSO son mayores en comparación con las informadas en la literatura con donadores de protones bidentados tal como fenilurea o *iso*-ftalimida en el mismo disolvente (alrededor de 100 M^{-1} para acetato y 10 M^{-1} para cloruro^[79]).

Al analizar la interacción de ácido fenilborónico con H_2PO_4^- , mediante RMN- ^1H en $\text{DMSO-}d_6$, la señal correspondiente al protón B-OH no se observa en el espectro del ácido borónico (de concentración 5mM) al adicionar una alícuota (0.2 equivalentes) de una disolución de $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$. Sin embargo, la constante de asociación (en Tabla 6.10) se calculó a partir del perfil de titulación (δ vs. $[(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4]$) (Figura 6.36) considerando el desplazamiento químico las señales de los protones aromáticos, las cuales se movieron hacia frecuencias bajas como consecuencia de la interacción.

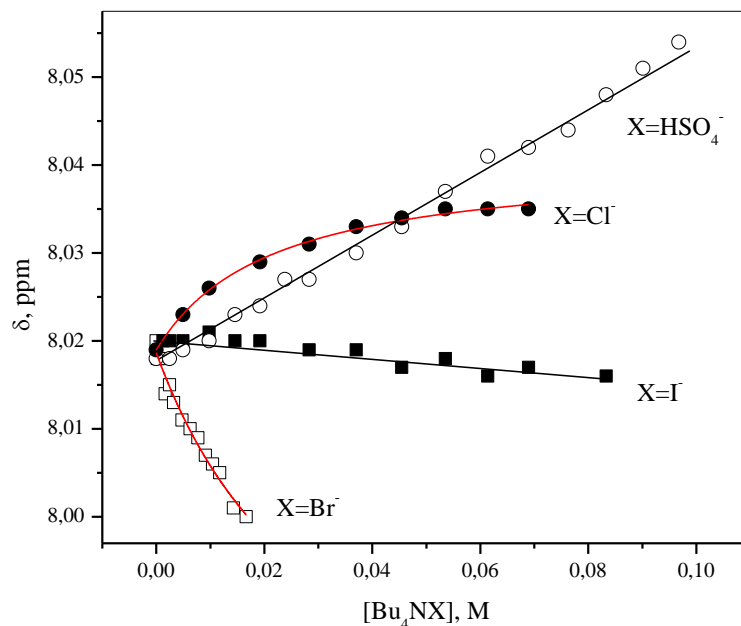


Figura 6.35: Perfiles de titulaciones seguidas por RMN- ^1H en DMSO- d_6 de ácido fenilborónico 5mM con diferentes aniones como sales de tetrabutilamonio. Las líneas color rojo representan los perfiles teóricos calculados mediante la ecuación 1.

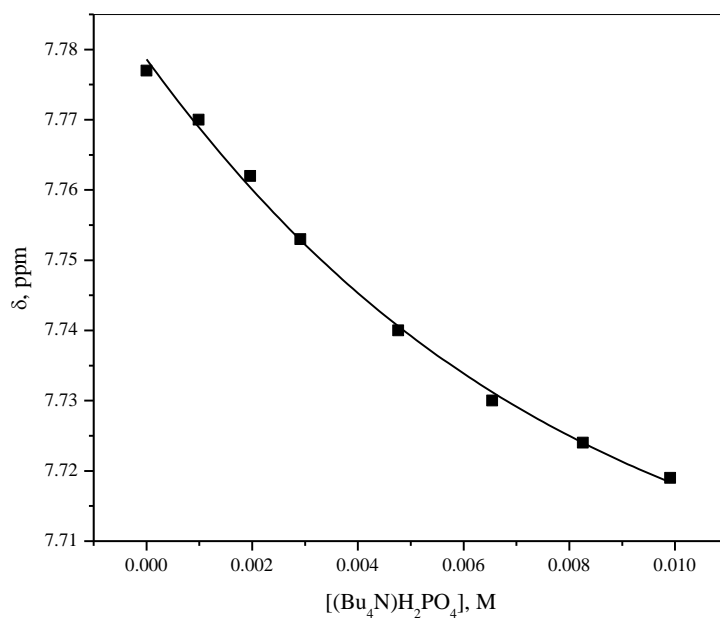


Figura 6.36: Perfil de titulación seguida por RMN- ^1H en DMSO- d_6 de ácido fenilborónico 5 mM con $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$. La línea representa el perfil teórico calculado mediante la ecuación 1.

Tabla 6.10: Constantes de asociación K_A (M^{-1}) para ácido fenilborónico y 3-nitrofenilborónico con diversos aniones en diferentes disolventes y desplazamiento químico de ^{11}B , δ (ppm) a la saturación.

Anión	PhB(OH) ₂				3-O ₂ N-C ₆ H ₄ -B(OH) ₂			
	DMSO		MeCN		DMSO		MeCN	CHCl ₃
	log $K_A^{(a)}$	δ (^{11}B)	log $K_A^{(a)}$	δ (^{11}B)	log $K_A^{(a)}$	δ (^{11}B)	log $K_A^{(a)}$	log $K_A^{(a)}$
Ácido libre		28.53				27.69		
AcO ⁻	2.98(2)	28.78	3.41(8)	29.13	3.46(3) ^(b)	27.16	3.73(2) ^(b)	4.01(1) ^(b)
H ₂ PO ₄ ⁻	2.34(6)	^(c)			3.4(1)	4.78		
HSO ₄ ⁻	< 0.3							
F ⁻	^(d)	4.07				4.14		
Cl ⁻	1.78(7)	29.09	2.41(8)	29.92			2.74(3)	
Br ⁻	1.6(9)	28.86	1.72(4)					
I ⁻	< 0.3							

^(a) El número entre paréntesis es el error estándar en el último dígito. ^(b) Datos obtenidos de titulaciones espectrofotométricas UV-Vis. ^(c) Señal no detectada. ^(d) Valor no determinado.

Con la finalidad de aclarar el tipo de interacción con el anión H₂PO₄⁻, se decidió realizar la titulación del ácido 3-nitrofenilborónico (A3NFB), un ácido más fuerte, con H₂PO₄⁻ en DMSO. Como puede observarse en la Figura 6.37, con la primera adición (0.2 equivalentes) de H₂PO₄⁻, la señal del protón B-OH de A3NFB se ensancha y desplaza hacia frecuencias altas y como en el caso con ácido fenilborónico, la señal tampoco se observa a mayor concentración del anión. Además, aparece un nuevo juego de señales de protones aromáticos hacia frecuencias bajas, las cuales aumentan de intensidad conforme se incrementa la concentración del anión (ver señales en color rojo, Figura 6.37). Lo anterior refleja que el proceso de intercambio entre el ácido borónico libre y el ácido borónico asociado con el anión es lento en la escala de tiempo de la resonancia magnética nuclear.^[80], lo cual no es típico para interacciones de enlace de hidrógeno. La constante de asociación se calculó a partir del espectro con concentración equimolar de

ambos reactantes por integración de las señales del ácido borónico libre y del ácido borónico asociado con el anión; tal valor se muestra en la Tabla 6.10.

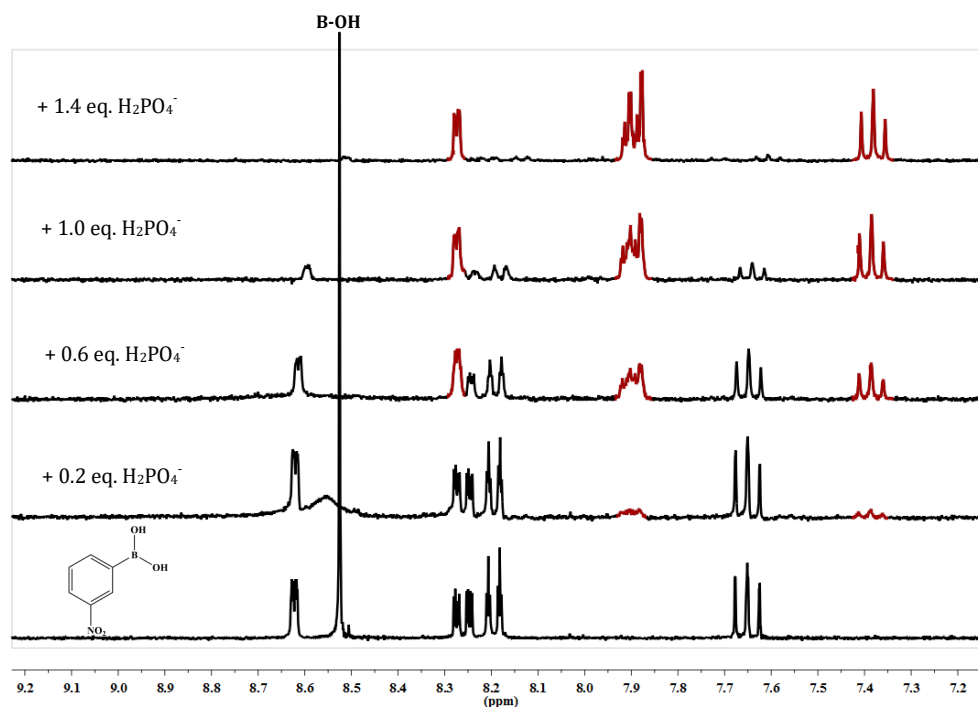


Figura 6.37: Espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (300 MHz) en $\text{DMSO-}d_6$ de ácido 3-nitrofenilborónico 5mM con diferentes adiciones de $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$.

Al titular una disolución de ácido fenilborónico en $\text{DMSO-}d_6$ con fluoruro de benciltrimetilamonio, siguiendo los cambios por $\text{RMN-}^1\text{H}$ (Figura 6.38), se observó un comportamiento similar como en el caso de $\text{A3NFB-H}_2\text{PO}_4^-$. La adición de una alícuota del titulante, causó el desplazamiento hacia frecuencias altas y el ensanchamiento de la señal de protón B-OH. Al incrementar la concentración del titulante dicha señal dejó de observarse y apareció otro conjunto de señales de protones aromáticos, completándose los cambios (se dejó de observar señales de AFB libre) hasta una relación molar 1:1, lo cual indica una fuerte interacción. Sin embargo en el espectro final se observa la presencia de una mezcla de productos. La razón de la desaparición de la señal de protón del grupo B-OH en presencia de F^- y H_2PO_4^- no es clara, aunque la inicial observación del cambio en el desplazamiento hacia frecuencias altas de la señal B-OH indica al menos alguna contribución de enlace de hidrógeno con dichos aniones.

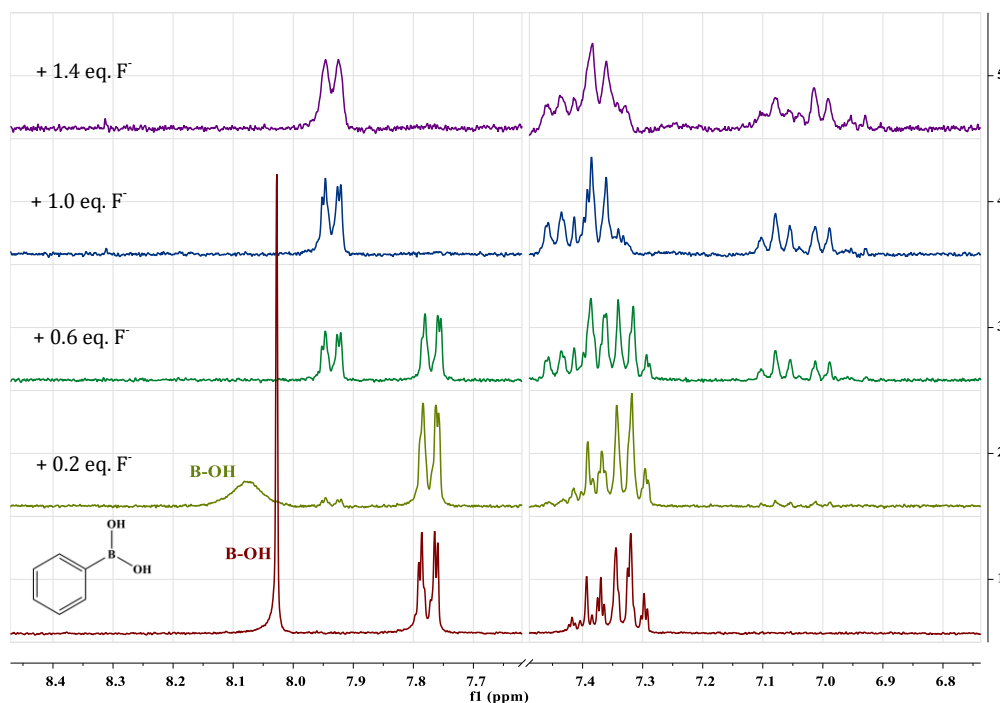


Figura 6.38: Espectros de RMN- ^1H (300 MHz) en DMSO-d_6 de ácido fenilborónico 5mM con diferentes adiciones de $(\text{PhCH}_2\text{NMe}_3)\text{F}$. El intervalo entre 7.6-7.5 ppm se cortó para eliminar la señal interferente del grupo fenil del catión benciltrimetilamonio.

6.3.1 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{11}B .

Las señales de boro en RMN para ácidos borónicos tricoordinados (boro con hibridación sp^2) generalmente son detectadas en el intervalo de 25-35 ppm mientras que, derivados tetracoordinados (boro con hibridación sp^3) muestran señales entre 0 y 10 ppm.^[81] Dicho lo anterior, a fin de confirmar el tipo de interacción entre los ácidos borónicos y los diferentes aniones, se procedió a obtener los espectros de RMN- ^{11}B de disoluciones de ácido fenilborónico ó 3-nitrofenilborónico en ausencia y en presencia de las sales de los diferentes aniones (Anexo 9.10) a la concentración de saturación en DMSO-d_6 . En la Tabla 6.10, se muestran los desplazamientos químicos de las señales de boro y como puede observarse para el caso de los aductos derivados de los aniones AcO^- , Cl^- y Br^- las señales de boro muestran desplazamientos en el intervalo esperado para un átomo de boro con hibridación sp^2 , lo cual confirma la formación de enlace de hidrógeno, ya que en este caso se conserva el tipo de hibridación en comparación con los ácidos libres. Los

espectros de RMN-¹¹B para ácido fenilborónico con I⁻ y HSO₄⁻ no se obtuvieron debido a que las constantes de asociación entre el ácido borónico y ambos aniones, fueron muy bajas (<0.3 M⁻¹).

Los aductos derivados de F⁻ y H₂PO₄⁻ (con ácido 3-nitrofenilborónico) tienen un desplazamiento químico de las señales de boro que se encuentran en el intervalo esperado para compuestos tetracoordinados por lo tanto, el tipo de interacción entre estos aniones y los ácidos borónicos es de tipo covalente.

6.3.2 CONSTANTES DE ASOCIACIÓN EN ACETONITRILLO.

En el caso de la constante de asociación entre ácido fenilborónico y el anión acetato empleando acetonitrilo como disolvente, el valor de K_A se obtuvo del perfil de titulación (δ vs. [Bu₄NAcO]) considerando el cambio en el desplazamiento químico de una de las señales de los protones aromáticos. Lo anterior fue debido a que aún a concentraciones bajas del anión, la señal correspondiente al protón B-OH sufrió un gran ensanchamiento, impidiendo que se pudiera emplear su desplazamiento inducido en el cálculo de K_A .

En las titulaciones de ácido fenilborónico con Cl⁻ y Br⁻ como sales de tetrabutilamonio, seguidas por RMN-¹H en CH₃CN-*d*₃, se observó el desplazamiento de la señal B-OH hacia frecuencias altas y el desplazamiento de las señales de protones aromáticos hacia frecuencias bajas. Los perfiles de titulación con ambos aniones se muestran en la Figura 6.39 y las constantes obtenidas mediante el ajuste de tales curvas se encuentran en la Tabla 6.10. Las constantes de asociación para AcO⁻ y Cl⁻ en acetonitrilo (un disolvente menos polar) son entre 3 y 4 veces más grandes que las obtenidas en DMSO; en el caso de la constante para Br⁻, la constante es solo ligeramente mayor en acetonitrilo.

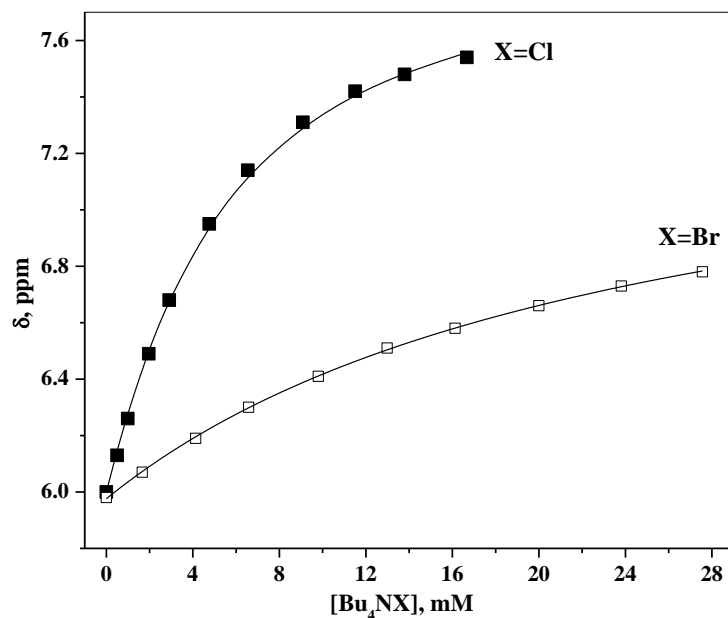


Figura 6.39: Perfiles de titulaciones seguidas por RMN-¹H en CH₃CN-d₃ de ácido fenilborónico 2.5mM con Bu₄NCl y Bu₄NBr. Las líneas sólidas representan los perfiles teóricos calculados empleando la ecuación 1.

Como se mencionó en el párrafo anterior, la adición de Br⁻ provocó el desplazamiento esperado de la señal B-OH hacia frecuencias altas en el espectro de RMN-¹H empleando acetonitrilo como disolvente, contrario a lo que se observó en DMSO (ver Figura 6.35). La posible razón de esta diferencia puede deberse a que la solvatación de B-OH en un disolvente tan donador como lo es DMSO, induce un desplazamiento químico hacia frecuencias más altas en comparación al desplazamiento inducido por la interacción de B-OH con Br⁻. Así, el desplazamiento químico de la señal B-OH del ácido fenilborónico con Br⁻, a la concentración de saturación, es de 7.39 ppm (calculado del ajuste de la curva en Figura 6.39), mientras que el desplazamiento de la misma señal para el ácido sin anión en DMSO es de 8.02 ppm.

El desplazamiento químico de la señal de ¹¹B a la saturación para los casos de ácido fenilborónico con AcO⁻ y Cl⁻ en CH₃CN-d₃ (Tabla 6.10) confirma que el tipo de interacción con dichos aniones es de tipo enlace de hidrógeno.

También se estudió el tipo de interacción entre ácido 3-nitrofenilborónico y el anión fluoruro en acetonitrilo por RMN-¹H. Antes de mencionar los resultados de este estudio, es de notarse que la formación de aductos derivados de ácidos de Lewis, en muchas

ocasiones es lenta en la escala de RMN, tal como observamos al estudiar la interacción de ácido fenilborónico con F^- y $H_2PO_4^-$ en DMSO, y como es común en la formación de ésteres borónicos covalentes.^[82]

La adición de 0.6 equivalentes de F^- a una disolución de ácido 3-nitrofenilborónico en acetonitrilo induce un desplazamiento de la señal de protón B-OH hacia frecuencia más alta y la formación de un nuevo grupo de señales, marcadas con asterisco (*) en la Figura 6.40, las cuales coexisten con otro de grupo de señales marcadas con una punta de flecha (^) que pertenecen al ácido borónico sin asociar. Además, aparece otro conjunto de señales de menor intensidad marcadas con un signo más (+). Con base en lo anterior, lo más probable es que con tal cantidad de anión añadido lo que se observa sea la mezcla de un aducto covalente, con intercambio lento en la escala de tiempo de RMN, y de un aducto por enlace de hidrógeno, con intercambio rápido en la escala de tiempo de RMN, como componentes principales.

A la relación molar 1:1 (tercer espectro en Figura 6.40) la señal de protón B-OH desaparece al igual que las señales de los protones aromáticos del ácido borónico libre. Al añadir un segundo equivalente del anión (cuarto espectro en Figura 6.40) se observa otro conjunto de señales. Lo anterior indica la formación de varios aductos con fluoruro. Sin embargo, solo podrían formarse dos tipos de aductos 1:1, uno de tipo covalente (**A**, Figura 6.41) y otro por enlace de hidrógeno (**B**, Figura 6.41), además de un aducto 1:2 con ambos tipos de enlace (**C**, Figura 6.41). La formación de aductos covalentes 1:2 es improbable puesto que se necesitaría de la formación de un compuesto extraño pentacoordinado de B (III) o la unión de un segundo anión por intercambio OH^-/F^- , lo cual es improbable en un disolvente aprótico puesto que es necesaria la protonación del anión hidróxido saliente.^[83] Es posible la formación de otras especies poliméricas, como el aducto **D** en Figura 6.41, resultado de la auto-asociación de los componentes de reacción en un disolvente de baja polaridad y a la concentración empleada para mediciones en RMN.

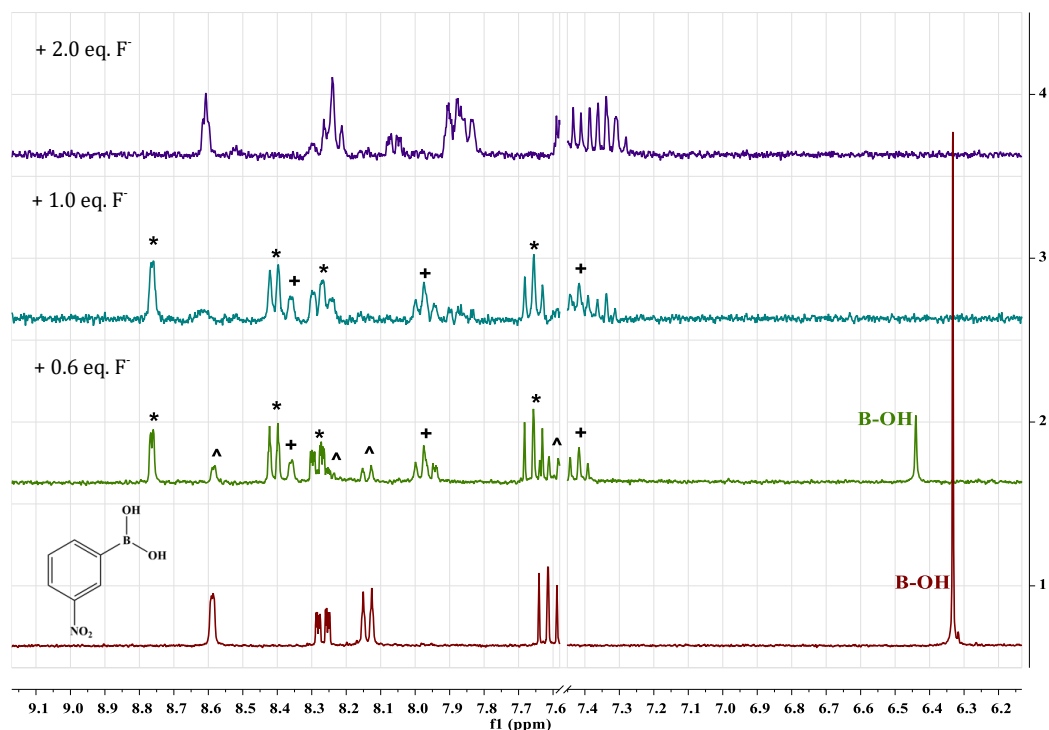


Figura 6.40: Espectros de RMN- ^1H (300 MHz) en $\text{CH}_3\text{CN}-d_3$ de ácido 3-nitrofenilborónico 5mM con diferentes adiciones de $(\text{PhCH}_2\text{NMe}_3)\text{F}$. El intervalo entre 7.58-7.46 ppm se cortó para eliminar la señal interferente del grupo fenil del catión benciltrimetilamonio.

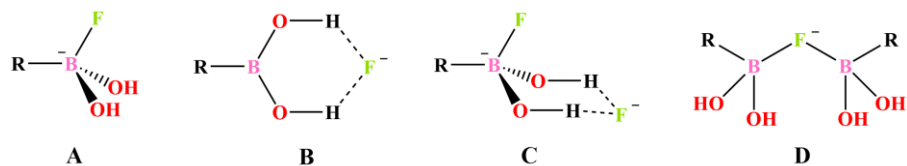


Figura 6.41: Aductos posibles derivados de ácido borónico y el anión fluoruro.

Más información fue obtenida de espectros de ^{11}B y ^{19}F (Figura 6.42) sobre la interacción entre ácido 3-nitrofenilborónico y el anión fluoruro en acetonitrilo. De acuerdo con los espectros de ^{11}B , la adición de 0.5 equivalentes del anión induce la formación de un aducto covalente (probablemente del tipo **A**, Figura 6.41) con desplazamiento químico de 4.14 ppm y con intercambio lento en la escala de tiempo de RMN. El hecho de que la señal de 4.14 ppm no sea una señal doble como se esperaría, puede atribuirse al ensanchamiento de la señal debido al intercambio lento con el exceso de ácido borónico. La adición de 1 equivalente de F^- transforma por completo el ácido borónico en un aducto covalente tetraédrico ya que solo se observa la señal en 4.14 ppm, y la adición de un

segundo equivalente del anión prácticamente no induce cambios en el espectro, lo que significa que el segundo anión fluoruro no interactúa directamente con el átomo de Boro. La constante de acoplamiento $J(^{11}\text{B}-^{19}\text{F}) = 59.02 \text{ Hz}$ es cercana a otros valores informados para ácidos arilborónicos,^[84] sin embargo es extraña la observación de una señal triple en lugar de una señal doble. Tal multiplicidad corresponde a la unión de dos aniones fluoruro al centro de B(III), lo cual es improbable como se mencionó anteriormente. Probablemente la multiplicidad observada en realidad sea el resultado de la superposición de señales de diferentes especies con desplazamiento cercano, como aductos poliméricos (D, Figura 6.41).

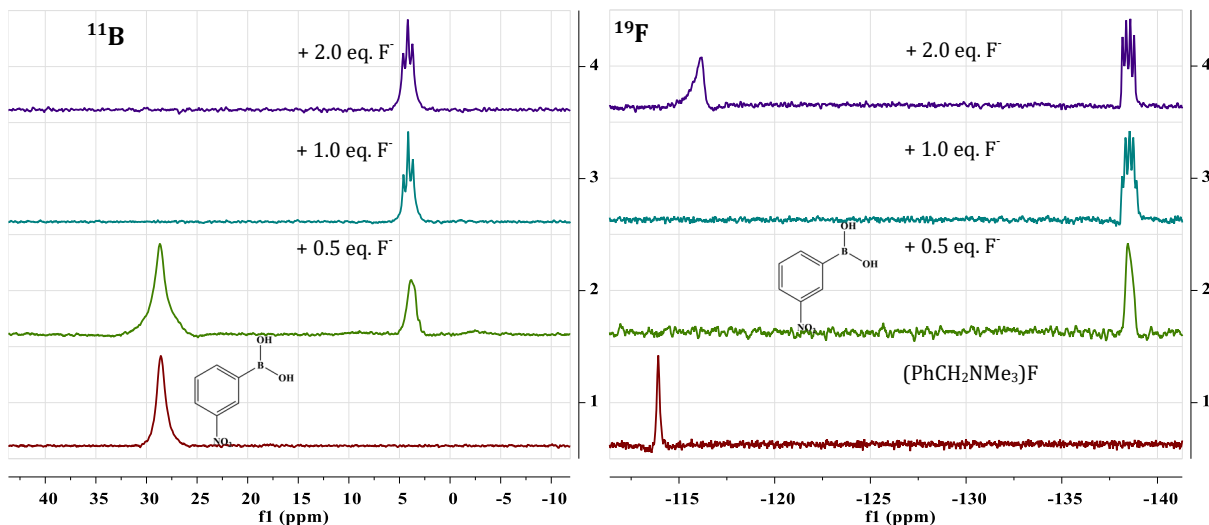


Figura 6.42: Espectros de RMN de ^{11}B (128 MHz) y ^{19}F (282 MHz) en $\text{CH}_3\text{CN}-d_3$ de ácido 3-nitrofenilborónico 20 mM con diferentes adiciones de $(\text{PhCH}_2\text{NMe}_3)\text{F}$.

Los resultados de RMN- ^{19}F , concuerdan con los datos de RMN- ^{11}B . La adición de 0.5 equivalentes de F^- trasforma por completo el anión en un aducto covalente con desplazamiento químico de -138.33 ppm que carece de la multiplicidad de cuarteto esperada debido al intercambio con el exceso de ácido borónico. En la mezcla 1:1, sin ácido borónico libre, se puede observar una señal a -138.33 ppm , correspondiente al aducto covalente; en este caso nuevamente la multiplicidad de la señal no corresponde al cuarteto esperado, lo cual se puede explicar de la misma forma que en los espectros de ^{11}B , por la superposición de señales de especies poliméricas. Con dos equivalentes de F^- ,

la señal anterior se observa como cuarteto, como se esperaría para un aducto 1:1, y aparece una nueva señal en -116.20 ppm, que es cercana pero no coincide exactamente con la señal de F^- libre en -113.92 ppm y probablemente corresponda al anión participando en un enlace de hidrógeno, por lo que la estructura probable en presencia de 2 equivalentes de F^- sería **C**, Figura 6.41.

6.3.3 TITULACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS UV-VIS.

Con el fin de analizar si los ácidos arilborónicos pueden emplearse como sensores ópticos de aniones vía enlace de hidrógeno, se realizaron titulaciones espectrofotométricas del ácido 3-nitrofenilborónico con acetato en dimetilsulfóxido, acetonitrilo y cloroformo. En todos los casos se observó que con la adición del anión, el máximo de absorción se desplazó hacia el rojo (Figura 6.43), tal y como ocurre en interacciones de aniones con arilureas^[85]. Las curvas de titulación empleando el valor de absorbancia a una sola longitud de onda se muestran en la Figura 6.44 y las constantes de asociación obtenidas del ajuste de dichas curvas se encuentran en la Tabla 6.10. El cambio de absorción inducido tras la interacción es mayor con el disolvente menos polar.

Cambios espectrofotométricos más pequeños pero aún detectables fueron observados en las titulaciones de ácido fenilborónico con AcO^- y Cl^- en acetonitrilo. Las constantes de asociación determinadas son cercanas a las determinadas por titulaciones seguidas por RMN.

Al comparar los resultados de las constantes de asociación obtenidas, para ácido 3-nitrofenilborónico con AcO^- en los diferentes disolventes, se observa que los valores decrecen conforme el disolvente es más polar (poco menos de 4 veces al ir de $CHCl_3$ a DMSO), sin embargo el efecto es pequeño en comparación con las constantes de asociación de receptores basados en urea para aniones, las cuales son alrededor de dos órdenes de magnitud menores en DMSO comparadas con las obtenidas en cloroformo.^[86]

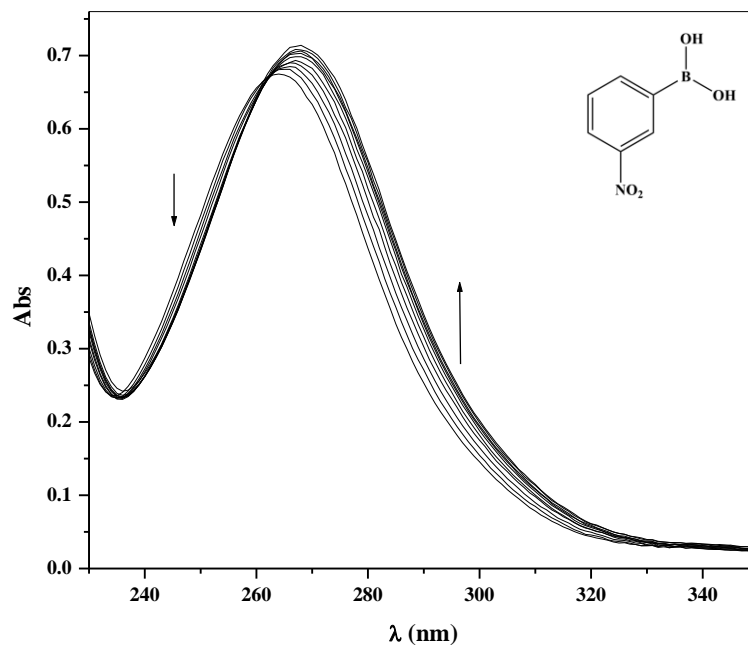


Figura 6.63: Titulación espectrofotométrica de ácido 3-nitrofenilborónico 0.1mM con Bu_4NAcO en CH_3CN .

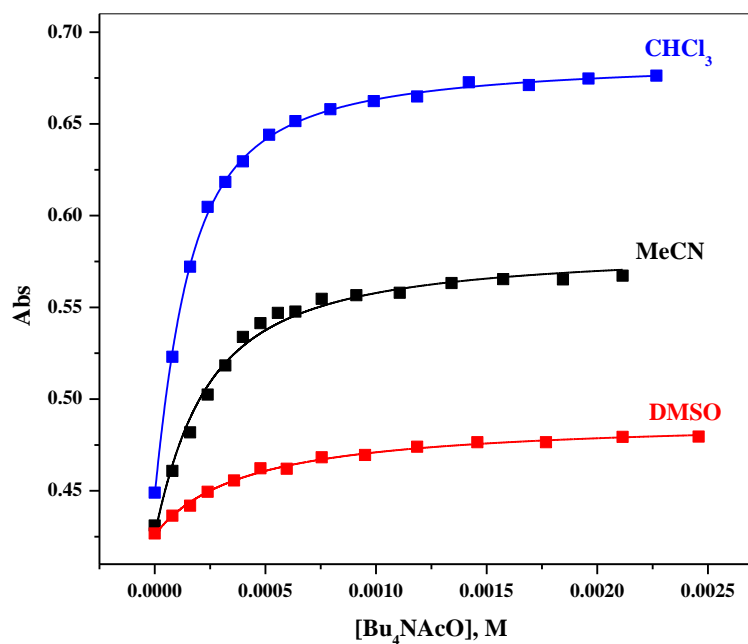


Figura 6.64: Perfiles de titulación espectrofotométrica de ácido 3-nitrofenilborónico con Bu_4NAcO en diferentes disolventes a 290nm (DMSO), 280nm (CH_3CN) y 285nm ($CHCl_3$).

También se observó que las constantes de asociación de ácido fenilborónico con acetato en DMSO disminuyen al adicionar 1 y 3% v/v de agua (Tabla 6.11). El valor de K_A

disminuye alrededor de 2 veces con 1% de agua y 4 veces en presencia de un 3% de agua v/v.

Tabla 6.11: Constantes de asociación K_A (M^{-1}) para ácido fenilborónico-acetato en DMSO con diferente porcentaje (v/v) de agua.

% H ₂ O, v/v	K_A , M^{-1}
0	950±50
1	420±46
3	230±22

Numerosas estructuras cristalinas de complejos con enlace de hidrógeno se han informado en la literatura los cuales corresponden a complejos con zwitteriones de aminoácidos tal como por ejemplo, el complejo de ácido fenilborónico con prolina (Figura 6.44).^[31c, 87] Además se ha observado que algunos aminoácidos libres, se encuentran predominantemente como zwitteriones en DMSO^[88]; por lo tanto se decidió examinar al ácido 3-nitrofenilborónico como ácido de Brønsted para reconocer aminoácidos en DMSO.

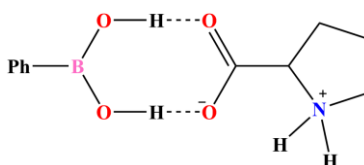


Figura 6.44: Enlaces de hidrogeno observados entre ácido fenilborónico y prolina.

En la Figura 6.45 se muestra la titulación seguida por RMN-¹H de ácido 3-nitrofenilborónico con prolina y en la Figura 6.46 se muestran los perfiles de titulación con prolina y *N,N'*-dimetilglicina, considerando el desplazamiento químico de la señal B-OH, la cual se dirige hacia frecuencias altas como resultado de la interacción por enlace de hidrógeno. Los valores de K_A para la interacción de ácido 3-nitrofenilborónico con ambos aminoácidos, son de alrededor de $30 \pm M^{-1}$. El decremento de afinidad para estas

especies, comparada con la afinidad a acetato, es resultado de la menor basicidad del grupo carboxilato de los zwitteriones.

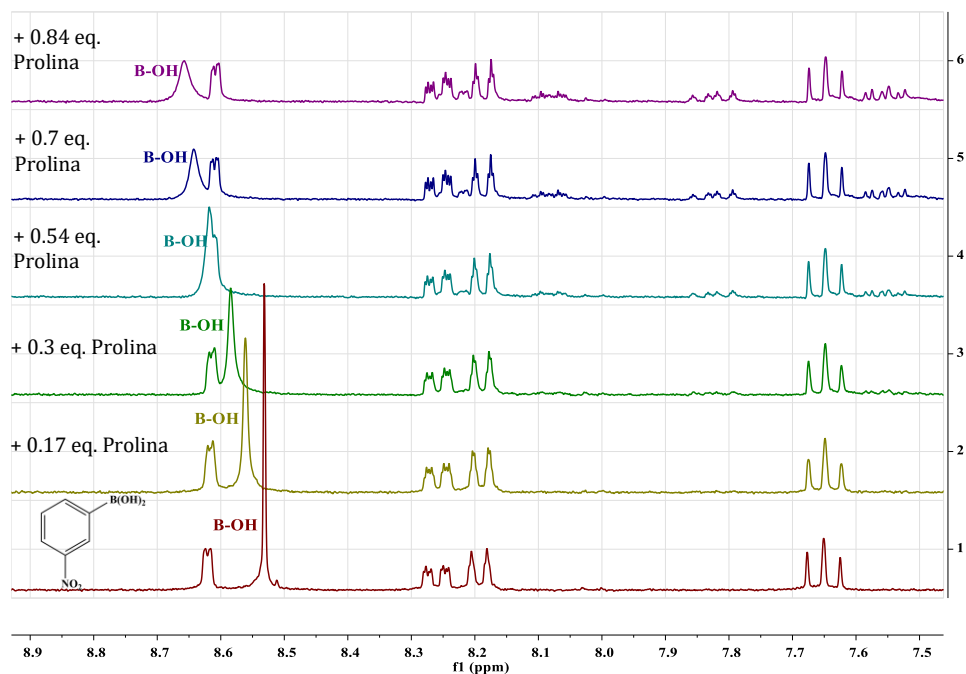


Figura 6.45: Espectros de RMN^{-1}H (300 MHz) en DMSO-d_6 de ácido 3-nitrofenilborónico 5mM con diferentes adiciones de prolina. Concentraciones de prolina: (1) 0; (2) 0.84 mM; (3) 1.5 mM; (4) 2.7 mM; (5) 3.5 mM; (6) 4.2 mM.

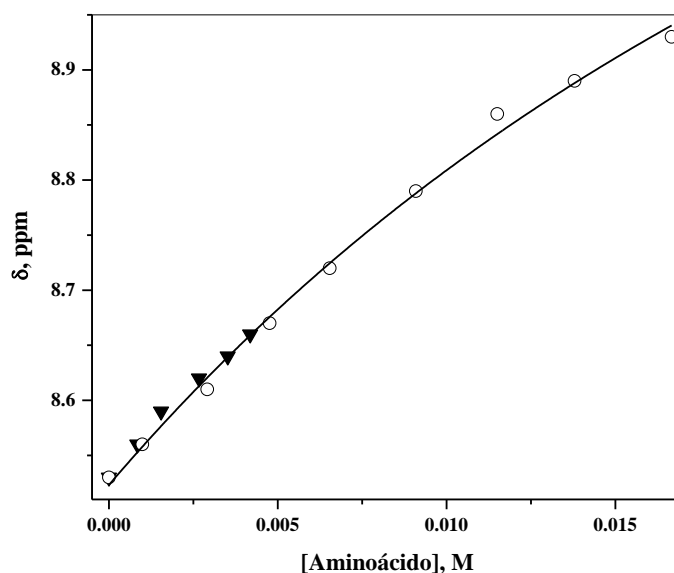


Figura 6.46: Perfiles de titulaciones seguidas por RMN^{-1}H de ácido 3-nitrofenilborónico 5mM con prolina (triángulos) y con N,N -dimetilglicina (círculos) en DMSO-d_6 . Las líneas sólidas representan los perfiles teóricos calculados con la ecuación 1.

6.4 ÁCIDOS DIBORÓNICOS COMO RECEPTORES DITÓPICOS DE ANIONES Y AZÚCARES.

Derivados de 2,6-piridindicarboxiamida e isoftalamida se han propuesto como receptores de aniones a través de enlace de hidrógeno y se han empleado como bloques de construcción en el diseño de numerosos receptores cíclicos y acíclicos para diferentes huéspedes incluyendo aniones, cationes y moléculas neutras.^[89] Derivados de piridindicarboxiamida se han empleado más comúnmente como receptores de aniones puesto que poseen una estructura preorganizada.^[89e-f]

Con base en lo anterior, en este trabajo se propuso el diseño de un receptor ditópico empleando la unidad piridin-2,6-dicarboxiamida como sitio de reconocimiento de aniones y como andamio para incorporar el grupo funcional ácido borónico empleado comúnmente para el reconocimiento de azúcares.^[90]

Los derivados de piridin-2,6-dicarboxiamida propuestos como receptores ditópicos se muestran en la Figura 6.47 (**R1** y **R2**), junto con la estructura de un compuesto de referencia sin el grupo funcional ácido borónico (**R3**).

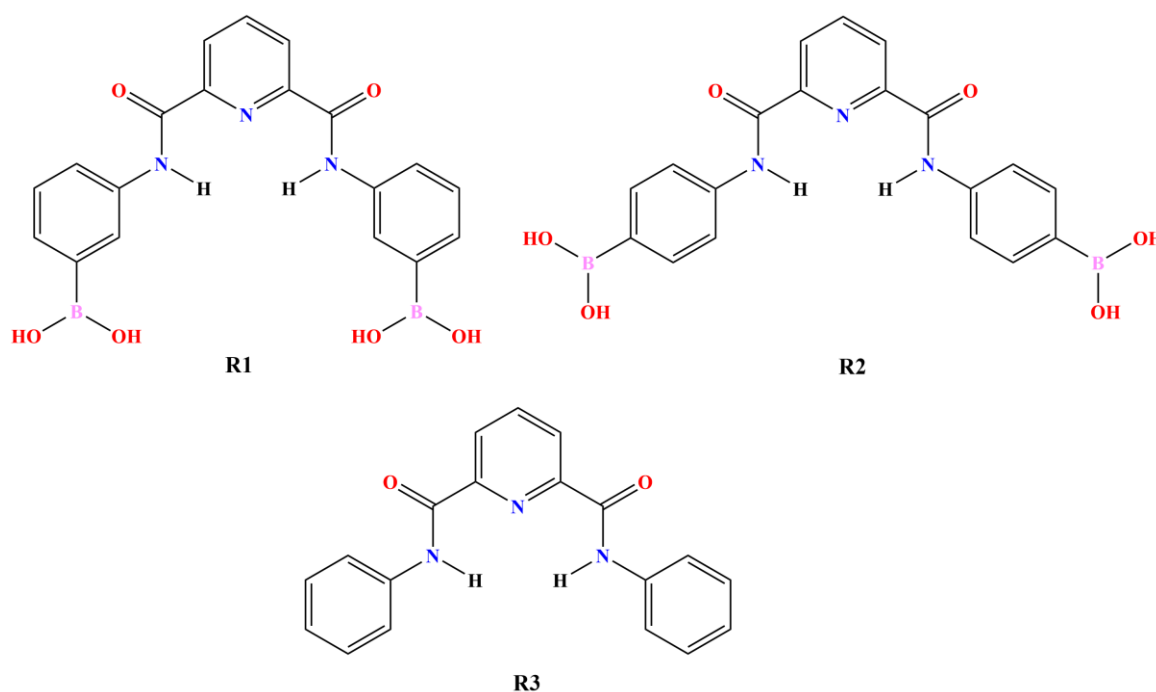


Figura 6.47: Receptores derivados de 2,6-piridindicarboxiamida.

Los receptores se prepararon a partir del dicloruro de piridin-2,6-dicarbonilo y el correspondiente ácido *meta* o *para* aminoborónico o bien anilina en el caso del compuesto de referencia.

Las estructuras del receptor **R1** y del éster de pinacol del receptor **R2** se determinaron por difracción de rayos X de monocristal (Figura 6.48 y 6.49).

La molécula del receptor **R1** es casi plana como puede observarse por los ángulos diedros de 6.73° y 10.53° entre el plano formado por el anillo central de piridina y los planos formados por los anillos aromáticos laterales. Los grupos NH se encuentran dirigidos hacia el interior de una cavidad, con distancias $N\cdots N$ de $4.743(3)$ Å y $C\cdots C$, de los átomos *orto*-CH de los anillos aromáticos laterales, de $6.089(4)$ Å. Los grupos ácidos borónicos se encuentran separados a una distancia de $7.083(5)$ Å.

En cuanto al receptor **R2**, los ángulos diedros entre los planos formados por los anillos aromáticos laterales y el plano formado por el anillo central de piridina son de 11.4° y 12.21° . La cavidad en este caso tiene distancias $N\cdots N$ de $4.629(2)$ Å y $C\cdots C$ de $5.927(2)$ Å, de los átomos *orto*-CH de los anillos aromáticos laterales. Los grupos ácidos borónicos del receptor **R2** se encuentran separados a una distancia de $12.713(2)$ Å.

En ambas estructuras el tamaño de la cavidad es idóneo para la inclusión de un anión cloruro a través de la formación de enlaces de hidrógeno con los grupos NH, como se ha observado en una estructura similar informada en la literatura.^[91]

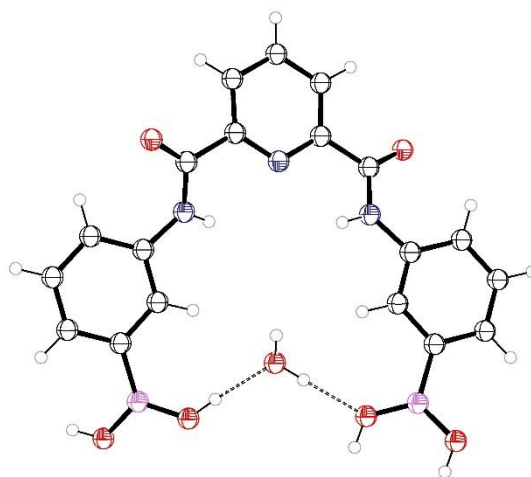


Figura 6.48: Estructura de Rayos X del receptor **R1** con una molécula de agua formando enlaces de hidrógeno con los grupos $-B(OH)$. Clave de colores: C, negro; O, rojo; N, azul; B, rosa; H, gris.

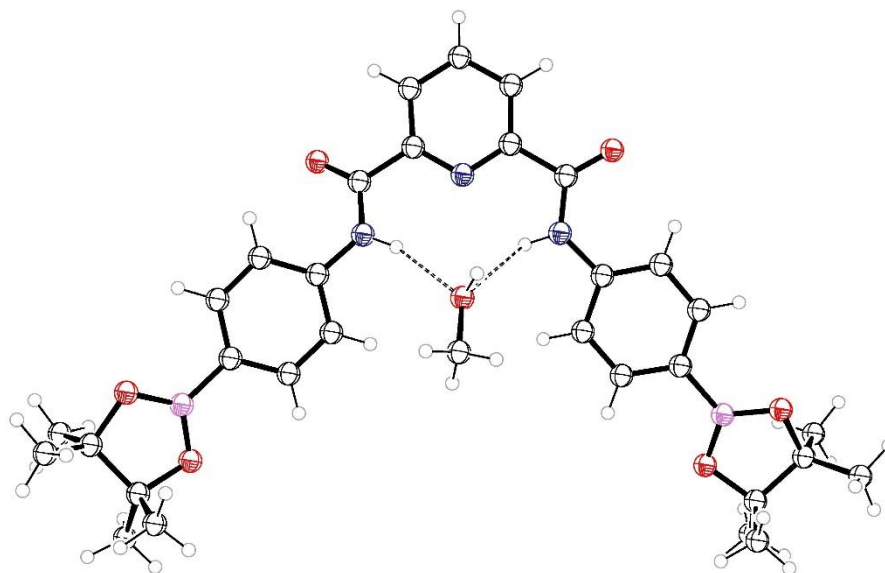


Figura 6.49: Estructura de Rayos X del éster pinacol del receptor **R2**, con una molécula del disolvente de cristalización (metanol). Clave de colores: C, negro; O, rojo; N, azul; B, rosa; H, gris.

Las constantes de disociación ácida, de ambos ácidos diborónicos **R1** y **R2**, además de las constantes de estabilidad para la complejación de dichos ácidos con glucosa y fructosa se determinaron por titulaciones potenciométricas en disolución acuosa con 50% de DMSO. La asociación de los tres receptores con aniones se estudió mediante titulaciones monitoreadas por RMN- ^1H en DMSO- d_6 .

En la Figura 6.50 se muestran las curvas de titulación potenciométrica del receptor **R1** y de las mezclas de dicho receptor con exceso de fructosa y glucosa. Con la adición de azúcares se observa un desplazamiento de las curvas de titulación a valores de pH más bajo y un salto de pH más pronunciado que corresponde al punto de equivalencia con dos equivalentes de NaOH, lo cual indica la formación de ésteres borónicos tetraédricos aniónicos a partir de ambos grupos de ácidos borónicos en el receptor. Curvas de titulación similares se obtienen empleando el receptor **R2**.

El ajuste de los datos potenciométricos, para la determinación de las constantes de estabilidad, se realizó empleando el programa Hyperquad 2008^[71]; los valores obtenidos se muestran en la Tabla 6.12 y como comparación se incluyen los valores correspondientes para ácido fenilborónico. En la determinación de las constantes de estabilidad se consideraron los equilibrios que se muestran en el Esquema 6.6.

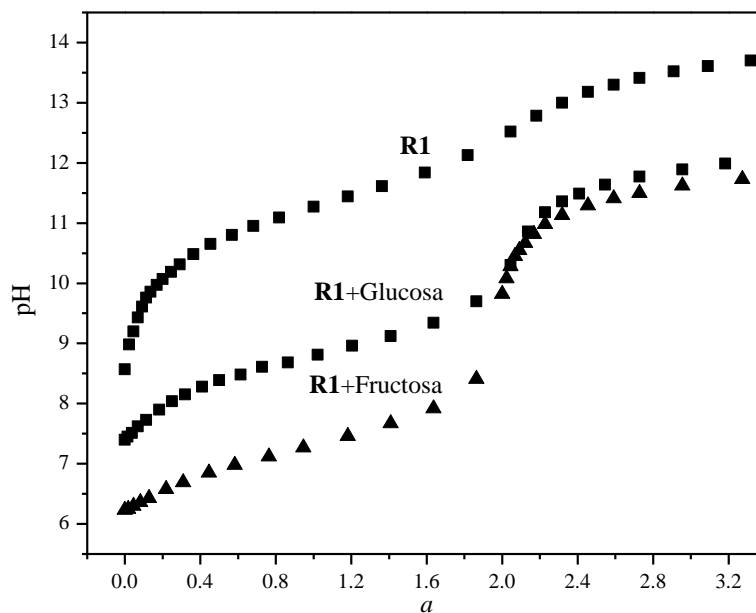
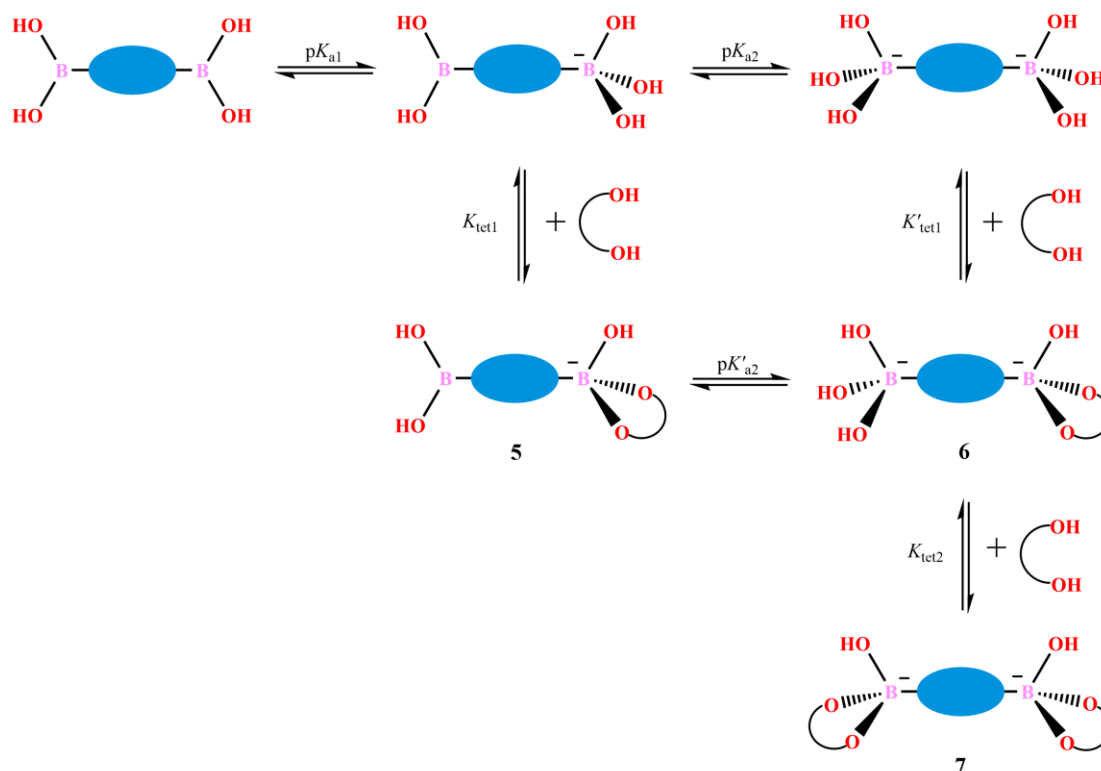


Figura 6.50: Perfiles de titulación potenciométrica de 2.1 mM de **R1** (cuadrados negros) y de las mezclas de dicho receptor con 0.2 M de glucosa (cuadrados blancos) y con 0.2 M de fructosa (triángulos) en disolución acuosa con 50% de DMSO; “a” corresponde al número de equivalentes de NaOH añadidos.

Tabla 6.12: Constantes de disociación ácida determinadas mediante potenciometría de los receptores **R1** y **R2** y de estabilidad de ésteres borónicos derivados de dichos receptores (50% DMSO, 0.1 M NaCl).

	R1		R2		PhB(OH)₂^(a)	
pK_{a1}	10.34±0.03		11.40±0.06		8.9	
pK_{a2}	11.22±0.04		12.3±0.1			
	Glucosa	Fructosa	Glucosa	Fructosa	Glucosa	Fructosa
logβ₁₁₋₁	-7.48±0.04	-5.18±0.02	-8.81±0.05	-6.9±0.2	-6.75	-5.36
logβ₁₂₋₂	-15.28±0.02	-11.55±0.03	-19.13±0.06	ND ^(b)		
logK_{tet1}	2.86	5.16	2.59	4.5	2.15	3.54

^(a) Ácido fenilborónico en agua, dato obtenido de Ref. 7 y 15a, ^(b) El ajuste de los datos de titulación no requiere un valor de β₁₂₋₂.



Esquema 6.6: Equilibrios asociados a la formación de éteres tetraédricos aniónicos obtenidos a partir de ácidos bis-borónicos.

Los valores de pK_{a1} para ambos receptores **R1** y **R2** son significativamente más altos en comparación con el pK_a del ácido fenilborónico en agua probablemente debido al efecto del disolvente orgánico. Valores más altos de pK_a para ambos receptores se esperarían que tuvieran un efecto negativo en la formación de ésteres con polioles, lo cual se refleja en valores más pequeños de β_{11-1} para **R1** y **R2** en comparación con ácido fenilborónico. Sin embargo, las constantes de estabilidad de los ésteres expresadas en términos de K_{tet1} son más grandes para los receptores **R1** y **R2**. La relación entre las constantes β_{11-1} y K_{tet1} se expresa en la ecuación (11) y los valores calculados para $\log K_{tet1}$ se muestran en la Tabla 6.12.

$$\log K_{tet1} = \log \beta_{11-1} + pK_{a1} \quad (11)$$

Los valores de K_{tet1} para glucosa son alrededor de 5 y 3 veces más grandes con **R1** y **R2**, respectivamente, comparados con ácido fenilborónico; mientras que los valores de K_{tet1} para fructosa son incluso más grandes, entre 40 y 10 veces, respectivamente.

De los resultados de las titulaciones potenciométricas no fue posible determinar el valor de β_{11-2} , el cual corresponde a la constante global de formación del monoéster con el segundo grupo ácido borónico desprotonado (especie **6** en esquema 6.6), lo anterior por el bajo grado de formación de tales especies.

Sin el valor de la constante de equilibrio β_{11-2} , no es posible calcular el valor de K_{tet2} que corresponde a la formación del diéster dianiónico (**7** en esquema 6.6); sin embargo aún sin ese dato, se puede concluir que la estabilidad total de los diésteres borónicos derivados de **1** y **2** es mayor de acuerdo a lo observado en los diagramas de distribución de especies que se muestran en la Figura 6.51 para el receptor **R1**.

La Figura 6.51 ilustra los diagramas de distribución de especies, para la interacción del receptor **R1** en concentración 0.1 mM con exceso de glucosa y fructosa, calculados a partir de los valores de las constantes de equilibrio en la Tabla 6.12. Tales diagramas muestran el grado de formación de las diferentes especies como porcentaje del total de concentración del receptor a diferentes valores de pH y a modo de comparación se muestran en líneas discontinuas los perfiles correspondientes para ácido fenilborónico en agua.

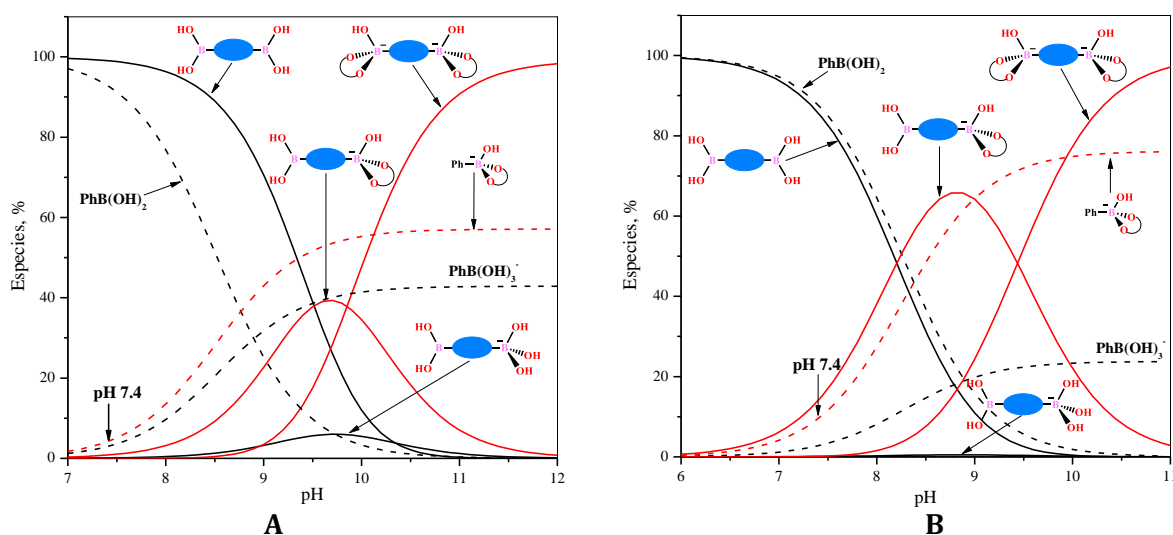


Figure 6.51: Diagramas de distribución de especies para 0.1 mM del receptor **R1** en presencia de: (A) 10 mM de glucosa y (B) 1 mM fructosa, en 50 % v/v DMSO/agua. Las líneas color rojo muestran las concentraciones relativas de los ésteres boronato. Las líneas discontinuas muestran las distribuciones calculadas para ácido fenilborónico en agua con la misma concentración de azúcares.

En el diagrama de distribución de especies de **R1** con glucosa (Figura 6.51A) se observa que el monoéster, especie **5** (Esquema 6.6), alcanza un valor máximo de formación de 40% a pH 9.7 y después disminuye con incremento en la fracción del diéster **7**. La fracción del receptor **R1** monodesprotonado alcanza un valor máximo de 6% al mismo valor de pH y la forma doblemente desprotonada, así como también la especie **6**, no contribuyen notablemente a la especiación a ningún valor de pH. Un alto porcentaje del diéster **7**, el cual excede el 90%, se observa a valores por arriba de pH 11.

Al comparar la distribución de especies de **R1** con la distribución de especies de AFB, debe considerarse que la presencia de DMSO como co-solvente desplaza la constante de autoprotólisis del agua (pK_w) y por lo tanto desplaza la escala completa de pH.^[92] En 50% (v/v) de DMSO, el valor de pK_w es de 15.9 en lugar de 13.8 en agua (con fuerza iónica de 0.1M), lo cual significa que las disoluciones con 50% de DMSO tendrán valores de pH 2.1 unidades por arriba que en agua sin co-solvente. A pH fisiológico (7.4) la formación del éster de ácido fenilborónico con glucosa es de solo 4%, mientras que a pH 9.5 (valor equivalente en 50% DMSO) el grado total de formación de éster (**5+7**) con **R1** es de poco más del 60%.

Para el caso de fructosa, con valor más alto de K_{tet1} , se observa en el diagrama de distribución de especies (Figura 6.51B) un mayor grado de formación de éster borónico, sobre todo a valores de pH por arriba de 10.5 la complejación de **R1** es casi cuantitativa con baja fracción del ácido borónico aniónico libre.

Con base en los resultados anteriores, **R1** podría emplearse como sensor de fructosa pero carece de propiedades espectrales adecuadas. El problema anterior se resuelve usando la técnica de desplazamiento de indicador. Un indicador comúnmente empleado para el estudio de la asociación de ácidos borónicos con carbohidratos es rojo de alizarina S (ARS).^[93]

En la Figura 6.52 se muestra la titulación espectrofotométrica del indicador ARS con el receptor **R1** a pH 8, en la cual se observa el característico desplazamiento del máximo de absorción hacia el azul. El ajuste de la curva de titulación empleando la ecuación (1) nos permitió calcular la constante de asociación $K=(4.6\pm 0.4)\times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Cabe señalar que el

ajuste a la ecuación (1), la cual implica un equilibrio de complejación 1:1 puede emplearse porque en el experimento se empleó un exceso del receptor y por lo tanto se forma predominantemente un complejo 1:1. Para el receptor **R2** la constante de asociación fue $K=(3.0\pm 0.3)\times 10^4 \text{ M}^{-1}$. La respectiva constante de asociación de ARS con ácido fenilborónico en agua a pH 7.4 tiene un valor más bajo ($K=1.5\times 10^3 \text{ M}^{-1}$).^[15a]

Al adicionar fructosa a la mezcla de **R1** con ARS se observa la recuperación del espectro de absorbancia del indicador libre y el gráfico de calibración a 555 nm muestra una respuesta lineal para la concentración de fructosa hasta 8 mM, con un límite de detección de 0.05 mM.

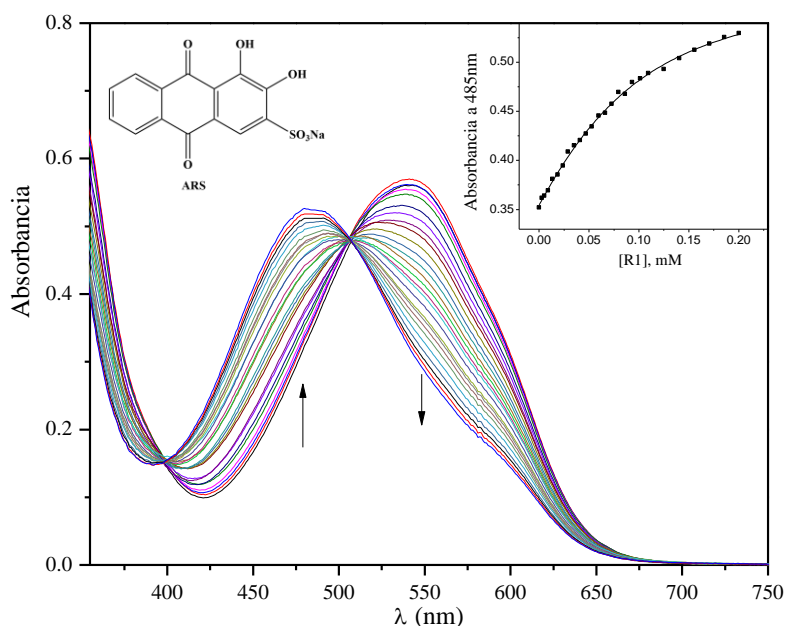


Figura 6.52: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ARS con **R1** en 50% (v/v) DMSO/agua a pH 8. El recuadro superior derecho muestra el perfil de titulación a 485 nm y la línea sólida es el ajuste de la curva empleando la ecuación (1).

La capacidad de los receptores **R1** y **R2**, además del receptor **R3**, sin grupos ácido borónico, para reconocer aniones se estudió por titulaciones seguidas por RMN-¹H en DMSO-*d*₆. Los aniones elegidos por sus diferentes geometrías y grado de basicidad fueron acetato (anión triangular plano, base fuerte) y cloruro (anión esférico, base débil).

En la Figura 6.53 y 6.54 se muestran los espectros de RMN- ^1H para la titulación de **R3** con ambos aniones; como puede observarse ambos aniones inducen el desplazamiento de las señales de los protones NH a frecuencias más altas y un ligero desplazamiento de las señales de los protones *orto*-CH de los anillos aromáticos también a frecuencias más altas, lo anterior como resultado de la formación de enlaces de hidrógeno entre el anión con dichos protones NH y *orto*-CH de los anillos aromáticos.

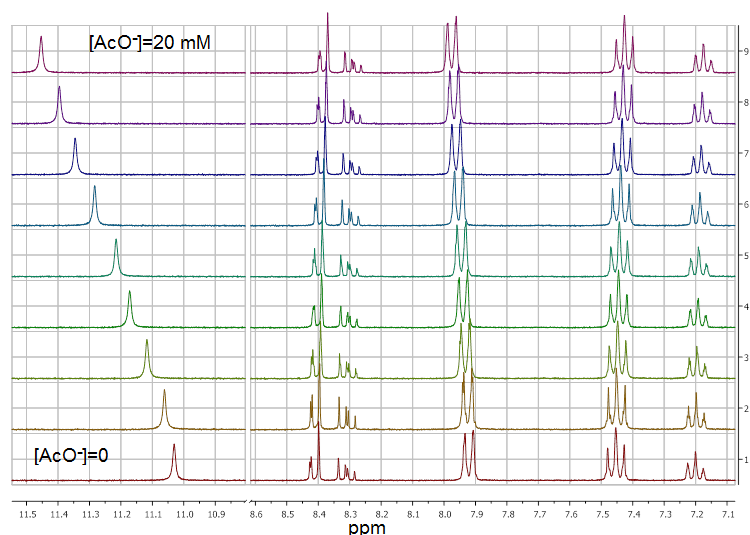


Figura 6.53: Titulaciones seguidas por RMN- ^1H de 5 mM de **R3** con el anión acetato como sal de tetrabutilamonio en DMSO- d_6 .

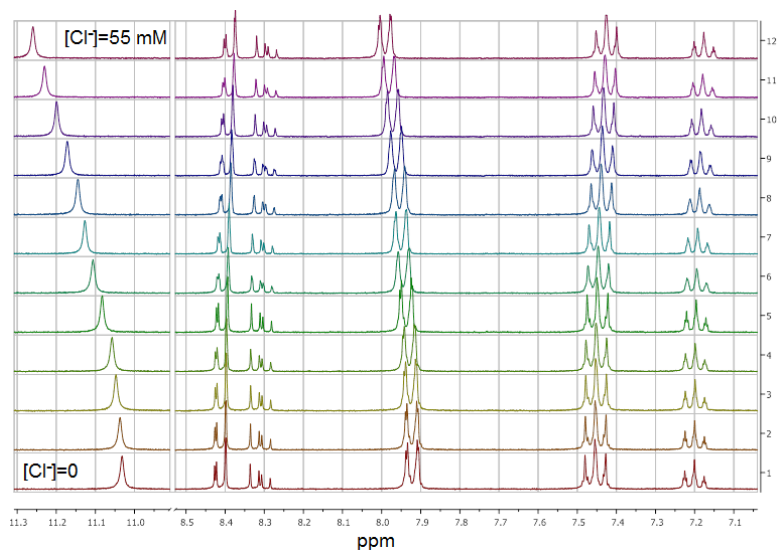


Figura 6.54: Titulaciones seguidas por RMN- ^1H de 5 mM de **R3** con el anión cloruro como sal de tetrabutilamonio en DMSO- d_6 .

El ajuste de los perfiles de titulación (δ vs [anión]) obtenidos a partir de los datos de RMN nos permitió calcular las constantes de asociación que se muestran en la Tabla 6.13.

El anión más básico (acetato) induce mayor desplazamiento de las señales de los protones NH (1.26 ppm) a la saturación, comparado con el anión menos básico (cloruro) que induce un desplazamiento de 1.06 ppm.

Tabla 6.13: Constantes de asociación de los receptores **R1-R3** y de ácido fenilborónico con aniones en DMSO- d_6 .

Anión	K (M ⁻¹)			
	R1	R2	R3	PhB(OH) ₂
AcO ⁻	630±50; 320±30 ^{a)}	3200±300; 200±20 ^{a)}	33±3	950
Cl ⁻	9.8±0.8	3.6±0.5 12±1 ^{b)}	5.1±0.9	60

^{a)} Constantes para la asociación con un segundo anión; ^{b)} Constantes de asociación calculadas a partir del desplazamiento químico de los protones del grupo PhB(OH)₂.

Las titulaciones seguidas por RMN-¹H para **R1** y **R2** con anión acetato y cloruro se muestran en las Figuras 6.55-6.58. Como puede observarse en las figuras, la adición de acetato induce el desplazamiento hacia frecuencias más altas de la señal correspondiente a los protones del grupo B(OH)₂, lo cual es indicativo de la interacción con el anión por enlaces de hidrógeno. Además, se observa un ligero desplazamiento hacia frecuencias más bajas de las señales correspondientes a los protones aromáticos de los anillos fenilo lo cual puede atribuirse al efecto inductivo por la interacción con el anión. Las señales correspondientes a los protones NH prácticamente no se ven afectadas.

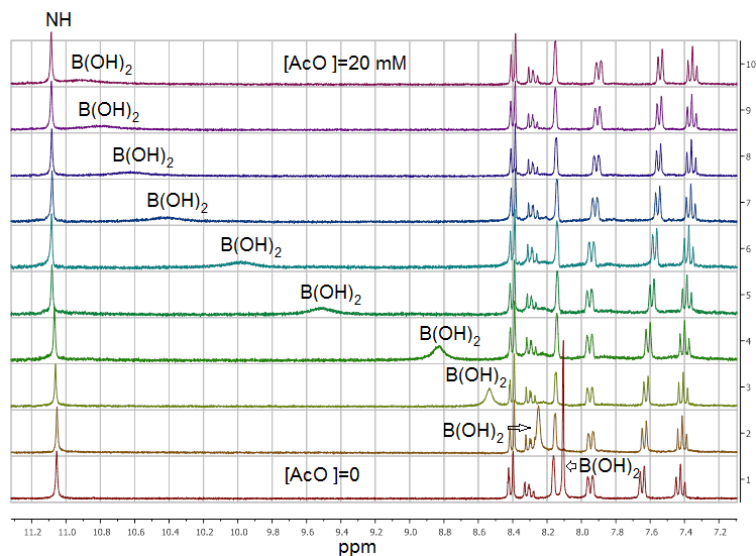


Figura 6.55: Titulaciones seguidas por RMN-¹H de 5 mM de **R1** con el anión acetato como sal de tetrabutilamonio en DMSO-d₆.

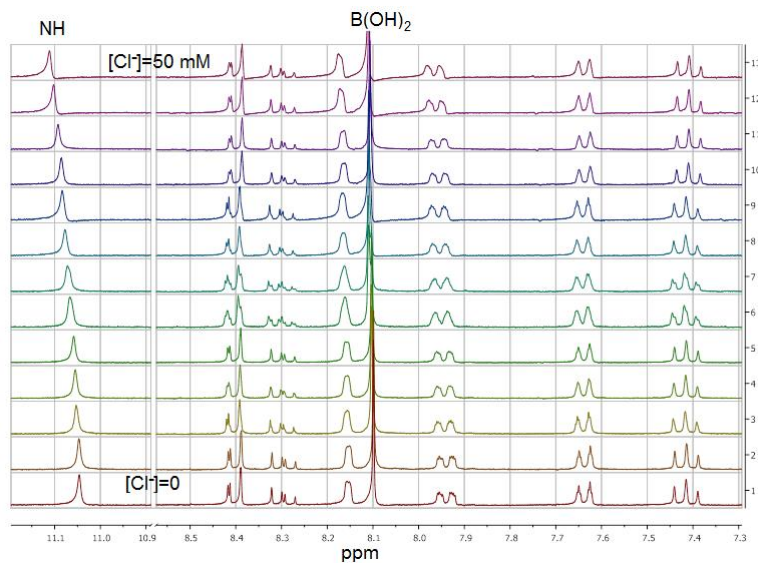


Figura 6.56: Titulaciones seguidas por RMN-¹H de 5 mM de **R1** con el anión cloruro como sal de tetrabutilamonio en DMSO-d₆.

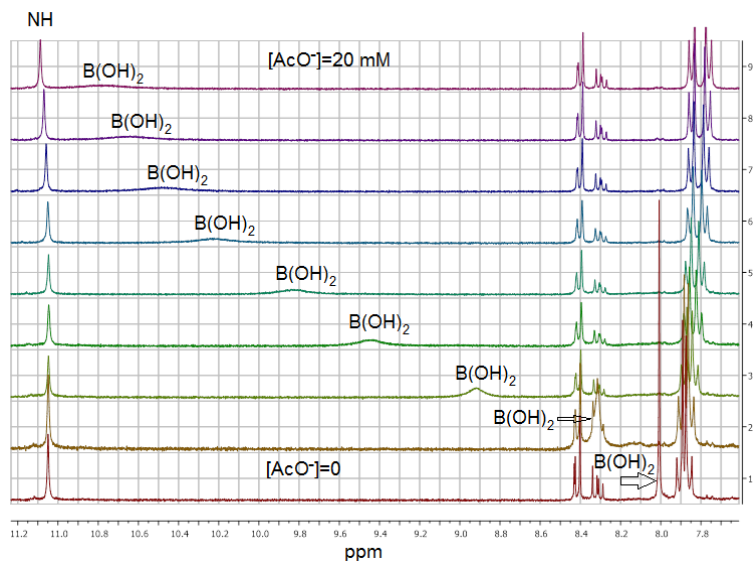


Figura 6.57: Titulaciones monitoreadas por RMN- ^1H de 5 mM de **R2** con el anión acetato como sal de tetrabutilamonio en DMSO- d_6 .

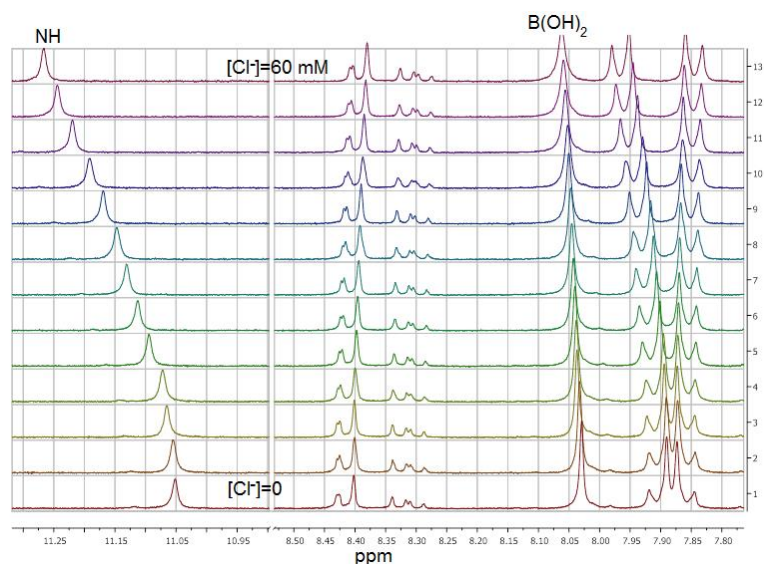


Figura 6.58: Titulaciones monitoreadas por RMN- ^1H de 5 mM de **R2** con el anión cloruro como sale de tetrabutilamonio en DMSO- d_6 .

El ajuste de los datos de titulación permitió determinar las constantes de asociación; los valores de dichas constantes se muestran en la Tabla 6.13 junto con los valores de las constantes para el caso de ácido fenilborónico como receptor a modo de comparación.

La asociación del anión acetato con el receptor **R3**, que involucra los grupos amida, posee una constante de asociación más baja comparada con las correspondientes para los receptores **R1** y **R2** que contienen ácidos borónicos.

Por otra parte, la adición de cloruro a una disolución del receptor **R1** induce un ligero desplazamiento hacia frecuencias más altas de la señal correspondiente a los protones NH y el ajuste de los datos nos permite determinar una constante de asociación casi dos veces más grande comparada con **R3** (ver tabla 6.13). Aunque el anión cloruro interactúa con ácido fenilborónico, en el caso del receptor **R1** no se observa desplazamiento de la señal de los protones del grupo B(OH)₂ (Figura 6.56).

En el caso del receptor **R2**, la adición de cloruro induce también el desplazamiento hacia frecuencias altas de la señal de los protones NH, del fragmento dicarboxiamida, y además de la señal de los protones *orto*-CH (señal a 7.9 ppm) como resultado de la formación de enlaces de hidrógeno (Figura 6.58). Para este receptor **R2**, se observa además un ligero desplazamiento hacia frecuencias altas de la señal de los protones del grupo B(OH)₂ y al considerar el desplazamiento químico de dicha señal se obtiene una constante de asociación mucho más baja que en el caso de ácido fenilborónico como receptor.

De manera general, el anión acetato muestra una clara selectividad hacia el grupo ácido borónico mientras que, el anión cloruro prefiere interactuar a través del fragmento dicarboxiamida.

Receptores monotópicos, como ácido fenilborónico y el receptor **R3**, forman complejos más estables con el anión acetato induciendo un mayor desplazamiento de las señales de protón involucradas en la interacción; este es un comportamiento típico en receptores neutros los cuales discriminan aniones, vía la formación de enlaces de hidrógeno, principalmente con base en su basicidad. Sin embargo en el caso de los receptores ditópicos la discriminación de aniones está determinada por el sitio preferencial de interacción.

7. CONCLUSIONES

Se realizó un estudio termodinámico y estructural de la formación de ésteres borónicos en medio acuoso a partir de un ácido diborónico y un dicatcol. Así, la viabilidad de generar estructuras supramoleculares discretas basadas en ésteres borónicos por autoensamble en medio acuoso se comprobó a través de la formación de un éster macrocíclico aniónico (**M1**) a partir del ácido *para*-bencendiborónico y el dicatcol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol. Tal macrociclo se forma en ausencia de un huésped catiónico al contrario de otros macrociclos basados en ésteres borónicos informados en la literatura, los cuales requieren de un huésped para su síntesis por efecto plantilla y además son obtenidos en disolventes orgánicos.

El macrociclo **M1** obtenido posee propiedades de reconocimiento hacia especies catiónicas de importancia biológica como colina y acetilcolina. La alta afinidad de dicho macrociclo hacia cationes alquilamonio está gobernada por interacción electrostática e hidrofobicidad del huésped. Además el macrociclo **M1** aumenta la fluorescencia de un alcaloide, barberina, por formación de un complejo que puede ser empleado como sensor óptico de especies catiónicas.

Con el fin de evitar los problemas de auto-oxidación que sufren los catecoles en disolución, se estudió también la formación de ésteres borónicos con diversos ligantes, los cuales involucran en su estructura un grupo con un átomo donador y un grupo *orto*-hidroxilo. Entre los ligantes elegidos en este estudio se incluyó al ácido salicilhidroxámico (SHA), sus derivados metilados y otros ligantes con un grupo amino, piridilo o imidazol.

Las constantes de estabilidad observada para los complejos formados a partir de ácido fenilborónico (AFB) y los ligantes, ácido salicilhidroxámico (SHA), 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-bencimidazol (HFB) y 2-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)fenol (DHIF), tienen valores de alrededor de 10^4 M^{-1} en disolución acuosa a pH 7, por lo tanto

tales ligantes podrían emplearse para el autoensamble en agua de estructuras supramoleculares.

Además, en este trabajo se estudió la interacción de ácidos arilborónicos con aniones y fue posible determinar que los ácidos borónicos actúan como ácidos de Brønsted interactuando mediante enlace de hidrógeno con algunos aniones como Cl^- , Br^- , HSO_4^- y AcO^- . Sin embargo, frente a otros aniones como F^- y H_2PO_4^- , los ácidos borónicos actúan como ácidos de Lewis formando aductos tetraédricos con el centro de B(III).

En cuanto al estudio de dos ácidos piridindicarboxidiamidabóronicos como receptores ditópicos para aniones y azúcares, el reconocimiento selectivo de polioles por parte de dichos ácidos diborónicos sigue la tendencia usual catecol>fructosa>glucosa y tales receptores pueden emplearse como sensores empleando la técnica de desplazamiento de indicador. En el caso del reconocimiento de aniones, los ácidos borónicos en los receptores responden al anión acetato, mientras que el fragmento dicarboxiamida responde al anión cloruro. Este comportamiento de los receptores crea un tipo de discriminación de aniones que se basa en el sitio preferencial de unión y no simplemente en la basicidad del anión, como ocurre usualmente con la mayoría de los receptores de aniones neutros que interactúan vía enlace de hidrógeno.

8. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

8.1 REACTIVOS.

Se utilizaron reactivos comerciales de la compañía Sigma Aldrich® y Alfa Aesar® sin previa purificación.

Se emplearon disolventes orgánicos grado reactivo, acetonitrilo (CH₃CN) metanol (MeOH), dimetilsulfóxido (DMSO) y cloroformo (CHCl₃) de la marca J. T. Baker® ó Sigma Aldrich®, así como disolventes deuterados, óxido de deuterio D₂O (99.9% D), DMSO-*d*₆ (99.9% D + 1% v/v TMS) y CH₃CN-*d*₃ (99.8% D) de Sigma Aldrich® ó Cambridge Isotope Laboratories.

El agua empleada para la preparación de disoluciones en los estudios de potenciometría y espectrofotometría fue destilada y desionizada con resistividad de 18±0.1 MΩ·cm a través de un equipo Nanopure Barnstead.

8.2 POTENCIOMETRÍA.

Las constantes de disociación ácida, de los diferentes ácidos fenilborónicos y ligantes, y las constantes de estabilidad para las reacciones de complejación, ácido borónico-ligante, se determinaron por titulaciones potenciométricas. Las mediciones de pH se realizaron con un potenciómetro de la marca Thermo Orion Modelo 710-A, con una precisión de ±0.01 en unidad de pH empleando un electrodo de vidrio Orion 8102BNUWP, conforme se realizaban adiciones de disolución estándar de NaOH típicamente 0.2 M. La calibración del potenciómetro se realizó previamente con amortiguadores estándar de referencia de pH 4.00, 7.00 y 10.00, de la marca Sigma Aldrich® con precisión de ±0.01.

Todas las titulaciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno en un vaso de doble pared el cual se mantuvo a 25±0.1°C empleando un baño de recirculación de agua. Se titularon disoluciones de 25 mL con una fuerza iónica de 0.05 M por adición de NaCl.

Para la determinación de constantes de estabilidad, se emplearon disoluciones de 2-5 mM, según la solubilidad de los compuestos. Los valores de pK_a de todos los componentes se determinaron independientemente con disoluciones 2-5 mM y se emplearon como parámetros fijos en los ajustes de los resultados para las mezclas ácidos fenilborónicos-ligantes.

Para el cálculo de las constantes de equilibrio se empleó el programa Hyperquad 2008.^[71]

8.3 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS Y FLUORESCENCIA.

Se realizaron titulaciones espectrofotométricas UV-Vis y fluorométricas a diferentes valores de pH empleando el buffer adecuado (MES, MOPS o CHES 0.05 M). Antes de obtener cada lectura, las mezclas se dejaron estabilizar durante 3 min. después de cada adición del titulante.

Las mediciones espectrofotométricas UV-Vis se realizaron con dos equipos, Thermo Scientific Evolution y Hewlett Packard 8453, ambos de doble haz con arreglo de diodos, ventana espectral de 190-1100 nm, resolución de 1 nm y precisión de longitud de onda de $<\pm 0.5$ nm, equipados con compartimentos termostatados a $25\pm 0.1^\circ\text{C}$ mediante un baño de recirculación de agua.

Las mediciones de intensidad de fluorescencia se realizaron en un espectrómetro marca Horiba.

En ambas técnicas se usaron celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Las constantes de equilibrio observadas (K_{obs}) para el equilibrio 1:1, se calcularon a partir de los perfiles de titulación, Absorbancia o Intensidad de Fluorescencia (A) vs la concentración de ácido borónico (B), a diferentes longitudes de onda, mediante ajuste no lineal por mínimos cuadrados empleando la ecuación (1), y promediando los resultados.

$$A = A_0 + 0.5(\Delta\epsilon) \left([L]_T + [B]_T + K_{\text{obs}}^{-1} - \left(([L]_T + [B]_T + K_{\text{obs}}^{-1})^2 - 4[L]_T[B]_T \right)^{0.5} \right) \quad (1)$$

En la ecuación anterior, el subíndice T se refiere a la concentración total, A_0 es la absorbancia o fluorescencia inicial del ligante (L) en ausencia de B y $\Delta\epsilon$ es la diferencia en absorptividad molar o el respectivo coeficiente de proporcionalidad para fluorescencia entre el éster y el ligante libre.

Los resultados para estequiometría diferente a 1:1 se ajustaron mediante el programa HypSpec.^[90]

8.4 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

Se obtuvieron espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para la caracterización de algunos ligantes y de ésteres borónicos.

Los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C se obtuvieron en un equipo Varian Unity Inova con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los espectros de RMN- ^{11}B se obtuvieron en un equipo Varian Mercury con borohidruro de sodio en D_2O a -38.7 ppm (con respecto a $\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{BF}_3$) como referencia externa, empleando un pulso de 4.9 μs y 90° , tiempo de adquisición FID 50 ms, ancho de barrido en 87.2 ppm y dos mil escaneos por cada muestra.

Espectros de ^{19}F también se obtuvieron en un equipo Varian Unity Inova con $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ a -76.55 ppm (con respecto a CFCl_3) como referencia externa.

8.5 DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE MONOCRISTAL.

Los cristales de los ésteres boronato se obtuvieron por evaporación lenta de disoluciones de los compuestos aislados disueltos en DMSO.

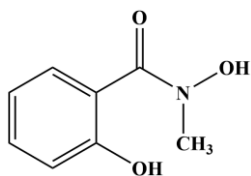
La difracción de rayos X de monocristal se llevó a cabo empleando un difractómetro Oxford Gemini "A" con un detector de área CCD y un monocromador de grafito ($\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$). Para la colección e integración de datos se emplearon los paquetes de

software CrysAlis Pro y CrYsAlis RED.^[94] Los datos colectados se corrigieron por absorción empleando la corrección de absorción numérica analítica^[95]

Las estructuras fueron resueltas por métodos directos y refinadas usando el programa SHELXS-2014 y SHELXL-2014.^[96] Todos los átomos con excepción de los átomos de hidrógeno fueron refinados anisotrópicamente. Los átomos de hidrogeno del tipo O-H y N-H fueron localizados por mapas diferenciales y refinados isotrópicamente.

8.6 SÍNTESIS DE LIGANTES.

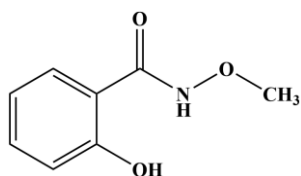
N-2-dihidroxi-N-metilbenzamida (SHA-NMe).



El ligante se sintetizó con un procedimiento similar al descrito en la literatura.^[24] En un baño de hielo se enfrió una disolución de 626.1 mg (7.5 mmol) de clorhidrato de *N*-metilhidroxilamina en 10 mL de metanol y se agregó 634 mg (11.3 mmol) de hidróxido de potasio, agitando la mezcla durante 20 min. Trascurrido el tiempo, se adicionó 500 mg. (2.5 mmol) de cloruro de acetilsalicilólo y se agito la mezcla a temperatura ambiente durante 30h. La disolución se acidificó con ácido acético (0.22 mL) y se evaporó el disolvente. El residuo se colocó en agua (10 mL) y se realizaron extracciones con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y se evaporó el disolvente a presión reducida. El producto sólido se recristalizó con acetato de etilo/hexano 1:1.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.13 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 7.38 – 7.16 (m, 2H), 6.82 (dd, 2H), 3.18 (s, 3H); RMN ¹H (300 MHz, D₂O) δ 7.36 (t, 1H), 7.29 (d, 1H), 6.99 (dd, 2H), 3.30 (s, 3H); EM (IE, m/z) 167 [M]⁺ para C₈H₉NO₃ (calc. 167.058).

2-hidroxi-N-metoxibenzamida (SHA-OMe).

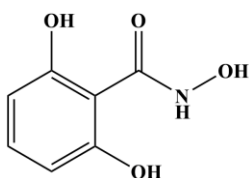


El ligante se sintetizó con un procedimiento similar al descrito en la literatura.^[24] En un baño de hielo se enfrió una disolución de 626.1 mg (7.5 mmol) de clorhidrato de metoxiamina en 10 mL de metanol y se agregó 634 mg (11.3 mmol) de hidróxido de

potasio, agitando la mezcla durante 20 min. Transcurrido el tiempo, se adicionó 500 mg. (2.5 mmol) de cloruro de acetilsalicililo y se agito la mezcla a temperatura ambiente durante 30h. La disolución se acidificó con ácido acético (0.22 mL) y se evaporó el disolvente. El residuo se colocó en agua (10 mL) y se realizaron extracciones con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y se evaporó el disolvente. El producto se purificó por cromatografía de columna usando sílica gel y AcOEt/Hexano 1:1 como eluyente ($R_f=0.59$).

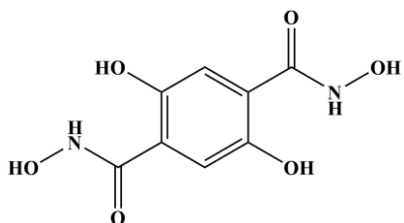
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.80 (s, 1H), 11.74 (s, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.42 (t, 1H), 6.93 (dd, 2H), 3.75 (s, 3H); RMN ^1H (300 MHz, D $_2$ O) δ 7.65 (d, 1H), 7.47 (t, 1H), 7.07 – 6.95 (m, 2H), 3.84 (s, 3H); EM (IE, m/z) 167 [M] $^+$ para C $_8$ H $_9$ NO $_3$ (calc. 167.058).

Ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxiámico (DHBHA).



El ligante se sintetizó con un procedimiento similar al descrito anteriormente. En un baño de hielo se enfrió una disolución de 214.1 mg (3.1 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina en 5 mL de metanol y se adicionó 347.9 mg (6.2 mmol) de hidróxido de potasio agitando la mezcla durante 20 min. Transcurrido el tiempo se adicionó 388 mg (1.54 mmol) de 2-(metoxicarbonil)-1,3-fenilendiacetate, preparado previamente de la reacción de metil 2,6-dihidroxibenzoato con anhídrido acético. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La disolución se acidificó con ácido acético (0.22 mL) y se evaporó el disolvente. El residuo se colocó en agua (10 mL) y realizaron extracciones con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con Na $_2$ SO $_4$ y se evaporó el disolvente a presión reducida obteniendo un sólido, el cual se lavó con cloroformo.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.27 (s, 2H), 10.86 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 7.13 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H); RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) δ 167.61, 159.95, 133.50, 107.43, 107.40, 102.12; EM-AR (ESI, m/z) 170.0452 [M+H] $^+$ para [C $_7$ H $_8$ NO $_4$] $^+$ (calc. 170.0453).

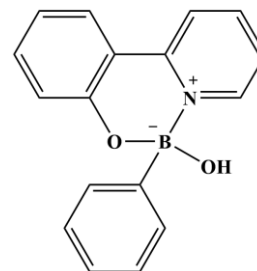
Ácido 2,5-dihidroxi-benzo-1,4-dihidroxámico (DHBDHA).

El ligante se sintetizó con un procedimiento similar al descrito anteriormente. En un baño de hielo se enfrió una disolución de 333.6 mg (4.8 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina en 10 mL de metanol y se adicionaron 505 mg (9 mmol) de hidróxido de potasio. Después de agitar la mezcla durante 20 min., se adicionó 300 mg (1.2 mmol) de dietil 2,6-dihidroxitereftalato. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 día. La disolución se acidificó con ácido acético (0.15 mL) y el disolvente se evaporó. El residuo se colocó en agua (5 mL) y se realizaron extracciones con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se evaporó el disolvente a presión reducida obteniendo un sólido.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.30 (s, 2H), 9.44 (s, 1H), 7.24 (s, 1H); RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 164.98, 150.74, 119.22, 115.46; EM-AR (ESI, m/z) 229.0461 [M+H]⁺ para [C₈H₉N₂O₆]⁺ (calc. 229.0461).

8.7 SÍNTESIS DE COMPLEJOS BORONATO.**Complejo derivado de ácido fenil borónico y 2-(2-piridil)fenol.**

Se adicionaron 51.4 mg (0.3 mmol) de 2-(2-piridil)fenol disueltos en 1 mL de acetonitrilo a una disolución de 36.7 mg (0.3 mmol) de ácido fenilborónico en 4 mL de agua, la mezcla se agitó durante 1 h y el precipitado color blanco obtenido se filtró y lavó con agua. El producto se secó a vacío, obteniendo 53.4 mg (64% de rendimiento).

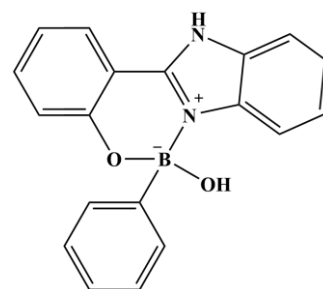


RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.82 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.30 (t, *J* = 9.3 Hz, 2H), 8.05 (s, 2H), 7.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.02 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H), 4.45 (s, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158.58, 149.48, 142.97, 142.46, 134.56, 134.24, 131.86, 130.51, 127.85, 127.26, 126.63, 124.03, 121.06, 120.48, 119.40,

118.26; RMN ^{11}B (128 MHz, DMSO- d_6) δ 5.27; EM (IE, m/z) 257 [M - H $_2$ O]; IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3439, 3289 (O-H), 1614 (C=N), 1264 (C-O); Anal. calc. para C $_{17}$ H $_{14}$ BN $_2$ O $_2$ (275.122): C, 74.22; H, 5.13; B, 3.93; N, 5.09. Experimental: C, 74.15; H, 4.84; N, 5.18.

Complejo derivado de ácido fenil borónico y 2-(2-hidroxifenil)-1H-benzimidazol.

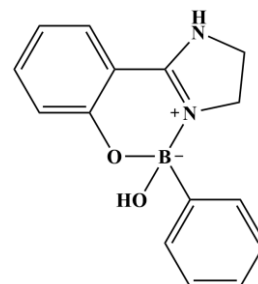
Se adicionaron 63 mg (0.3 mmol) de 2-(2-hidroxifenil)-1H-benzimidazol disueltos en 1 mL de acetonitrilo a una disolución de 36.6 mg (0.3 mmol) de ácido fenilborónico en 4 mL de agua, la mezcla se agitó durante 1 h y el precipitado color blanco obtenido se filtró y lavó con agua. El producto se secó a vacío, obteniendo 74.4 mg (80% de rendimiento).



RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.06 (s), 7.98 (d), 7.78 (d), 7.63 (dd), 7.51-7.17 (m), 7.04 (d), 6.99-6.87 (m), 4.09 (s); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ 147.26, 134.92, 132.74, 131.74, 127.19, 126.37, 125.74, 124.93, 124.17, 119.94, 118.26, 116.91, 112.76, 109.76; RMN ^{11}B (128 MHz, DMSO- d_6) δ 6.00; EM (IE, m/z) 296 [M - H $_2$ O]; IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3589 (N-H), 3470 (O-H), 1630 (C=N), 1229 (C-O); Anal. calc. para C $_{19}$ H $_{15}$ BN $_2$ O $_2$ (314.123): C, 72.64; H, 4.81; B, 3.44; N, 8.92. Experimental: C, 72.66; H, 4.46; N, 9.21.

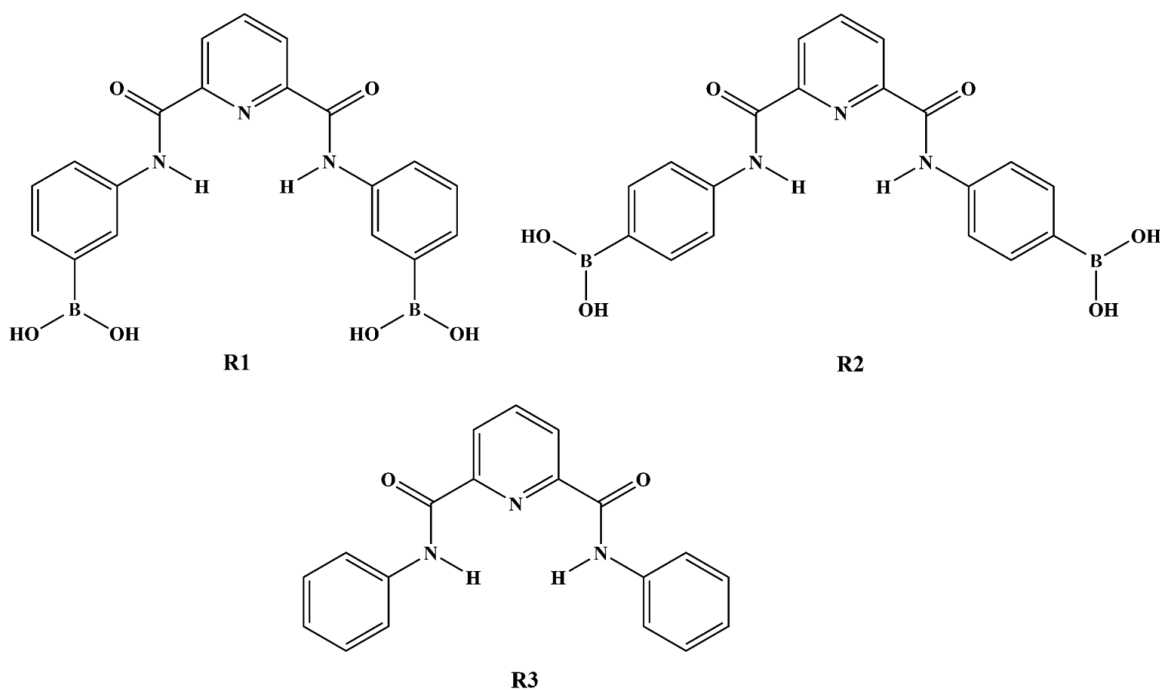
Complejo derivado de ácido fenil borónico y 2-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)fenol.

Se adicionaron 48.7 mg (0.3 mmol) de 2-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)fenol disueltos en 1 mL de acetonitrilo a una disolución de 36.6 mg (0.3 mmol) de ácido fenilborónico en 4 mL de agua, la mezcla se agitó durante 1 h y el precipitado color blanco obtenido se filtró y lavó con agua. El producto se secó a vacío, obteniendo 37.4 mg (47% de rendimiento).



RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.92 (s, 1H), 7.63 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.51-7.27 (m, 3H), 7.21-6.99 (m, 3H), 6.79 (dd, J = 15.3, 7.6 Hz, 2H), 3.9-3.63 (m, 4H); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ 161.13, 160.40, 135.61, 131.86, 127.10, 126.99, 126.06, 119.56, 117.17, 108.79, 47.52, 42.88; RMN ^{11}B (128 MHz, DMSO- d_6) δ 2.77; EM (IE, m/z) 248 [M - H $_2$ O]; IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3485 (O-H), 1622 (C=N), 1268 (C-O); Anal. calc. para C $_{15}$ H $_{15}$ BN $_2$ O $_2$ (266.123): C, 67.70; H, 5.68; B, 4.06; N, 10.53. Experimental: C, 67.63; H, 5.19; N, 10.48.

8.8 SÍNTESIS DE RECEPTORES (R1-R3)



Una mezcla de dicloruro de 2,6-piridilcarbonilo (50 mg, 0.25 mmol) y de ácido 3- ó 4-aminofenilborónico (70 mg, 0.5 mmol) ó anilina (47 mg, 0.5 mmol) en tolueno seco, se sometió a reflujo durante 4 horas. El precipitado formado se filtró y lavó con solución acuosa de bicarbonato de sodio al 3% y con agua. Los productos (**R1-R3**) obtenidos como sólidos blancos (con rendimientos entre 92-95%) se secaron a vacío.

Ácido [3-[[6-[(3-Borofenil)carbamoil]piridin-2-carbonil]amino]fenil]borónico (R1).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO d_6): δ 11.06 (s, 2H), 8.42 (d, J = 7 Hz, 2H), 8.30 (t, J = 9 Hz, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.11 (s, 4H), 7.93 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.63 (d, J = 7 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7 Hz, 2H);

RMN ^{13}C (75 MHz, 25°C, DMSO-d₆): δ 161.7, 148.9, 139.8, 138.6, 137.1, 130.4, 127.7, 127.6, 125.2, 123.7; EM (IE, m/z) 405 [M]⁺; ATR-IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3382, 2977, 1355, 1398, 1141, 1087. Anal. calc. para C₁₉H₁₇B₂N₃O₆: C, 56.35; H, 4.23; N, 10.38. Experimental: C, 56.37; H, 4.25; N, 10.75.

Ácido [4-[[6-[(4-Borofenil)carbamoil]piridin-2-carbonil]amino]fenil]borónico (R2).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.05 (s, 2H), 8.43 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 8.30 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.01 (s, 4H), 7.89 (m, 8H); RMN ^{13}C (75 MHz, 25°C, DMSO-d₆): δ 161.9, 148.8, 140.9, 140.0, 135.2, 125.6, 124.1, 119.9; EM (IE, m/z) 405 [M]⁺; ATR-IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3299, 2976, 1675, 1586, 1356, 1139. Anal. calc. para C₁₉H₁₇B₂N₃O₆: C, 56.35; H, 4.23; N, 10.38. Experimental: C, 56.38; H, 4.29; N, 10.29.

N2,N6-difenilpiridin-2,6-dicarboxamida (R3)

RMN ^1H (300 MHz, 25°C, DMSO-d₆): δ 11.04 (s, 2H), 8.43 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 8.30 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 9$ Hz, 4H), 7.45 (t, $J = 8$ Hz, 4H), 7.20 (t, $J = 8$ Hz, 2H); RMN ^{13}C (75 MHz, 25°C, DMSO-d₆): δ 161.6, 148.9, 139.9, 138.0, 128.8, 125.3, 124.3, 121.4; EM (IE, m/z) 317 [M]⁺; ATR-IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3270, 1672, 1659, 1533, 1533, 1079. Anal. calc. para C₁₉H₁₅N₃O₂: C, 71.91; H, 4.76; N, 13.24. Experimental: C, 71.98; H, 4.79; N, 13.19.

9. ANEXOS

9.1 TITULACIONES POTENCIOMÉTRICAS, ESTRUCTURAS Y ESPECTROS DE RMN-¹H DE APDB, TST Y DE SUS ESTERES DERIVADOS.

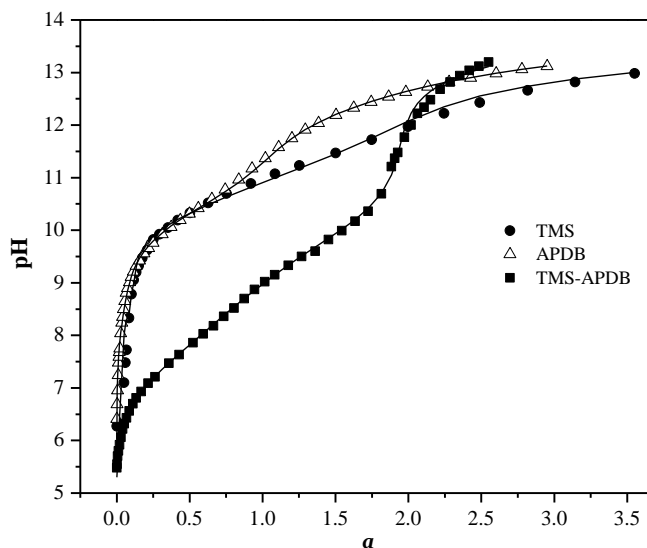


Figura 9.1: Titulaciones potenciométricas en concentraciones 2mM de ácido 1,4-bencendiborónico (APDB), 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol (TST) y de la mezcla equimolar de APDB y TST en disolución acuosa con 50% de DMSO, a 25°C, fuerza iónica 0.05 M por adición de NaCl, "α" es el número de equivalentes de NaOH.

Ajuste de datos potenciométricos

El ajuste de los datos de titulaciones potenciométricas, realizado con el programa Hyperquad 2008^[71] y mostrado como líneas sólidas en la Figura 9.1, se realizó considerando la ecuación general $pB + qS + rH \leftrightarrow BpSqHr$, donde B es la forma neutra del ácido 1,4-bencendiborónico (APDB), S es la forma neutra de 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol (TST) y H es un protón. El mejor ajuste de los datos se obtuvo asumiendo la formación de las especies BSH-1, B₂S₂H-3 y B₂S₂H-4 (nótese que H-1 es equivalente a la adición de un anión hidróxido). Los logaritmos de las constantes de equilibrio β_{pqr} para la ecuación anterior se muestran en la Tabla 9.1.

Tabla 9.1: Logaritmo de las constantes de equilibrio β_{pqr} para la disociación de APDB, TST y para la formación de ésteres borónicos derivados de ambos reactivos.

p	q	r	$\log \beta_{pqr}$	éster borónico formado
1	0	-1	-10.43±0.05	
1	0	-2	-22.91±0.06	
0	1	-1	-10.45±0.03	
0	1	-2	-21.87±0.05	
1	1	-1	-5.01±0.02	[SB(OH)] ¹⁻
2	2	-3	-16.87±0.07	[SB(OH) ₃] ³⁻
2	2	-4	-26.78±0.05	[SB(OH) ₄] ⁴⁻

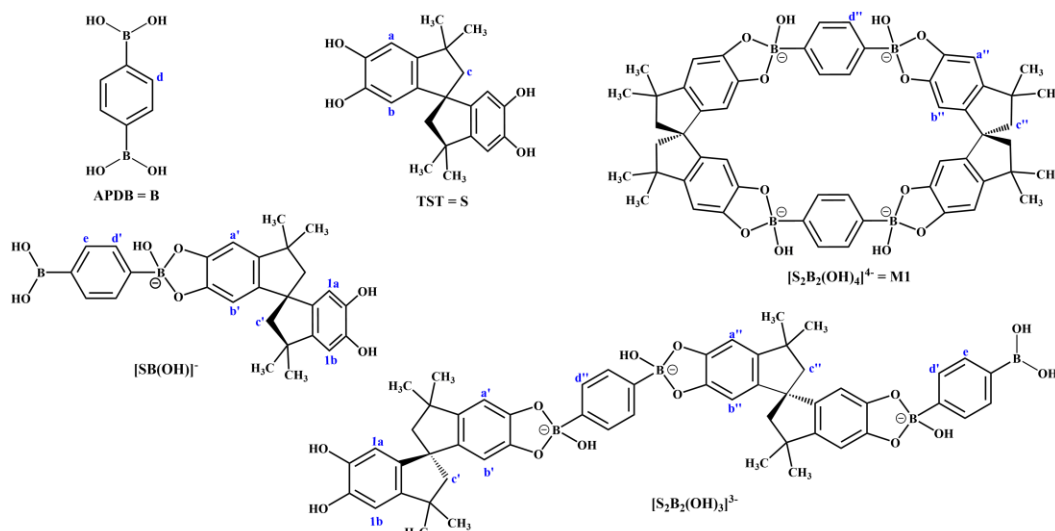


Figura 9.2: Estructuras de APDB, TST y de los ésteres borónicos derivados de ambos reactivos.

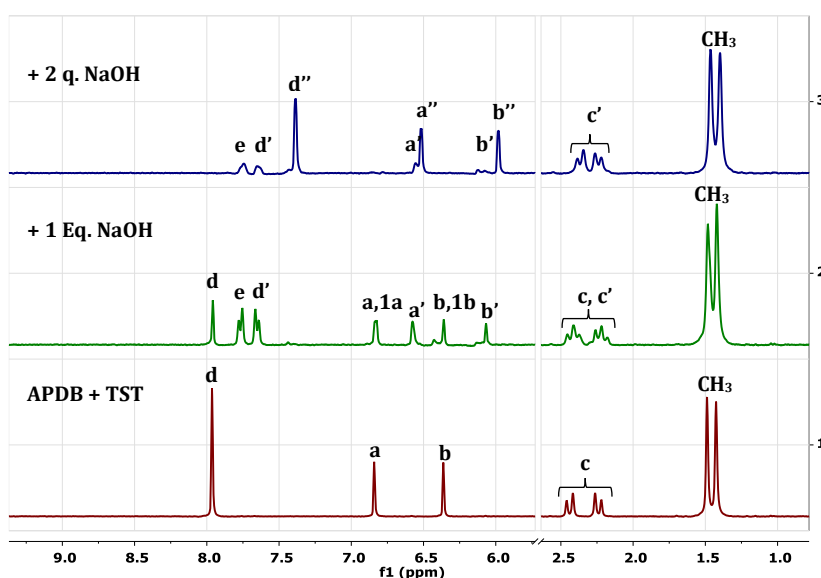


Figura 9.3: Espectros RMN-¹H (300 MHz), en mezcla 1:1 D₂O/DMSO d₆, de APDB-TST en relación 1:1 (0.01 M) sin NaOH y con 1 y 2 equivalentes de NaOH (espectros 1, 2 y 3, respectivamente).

9.2 ESPECTROS ROESY.

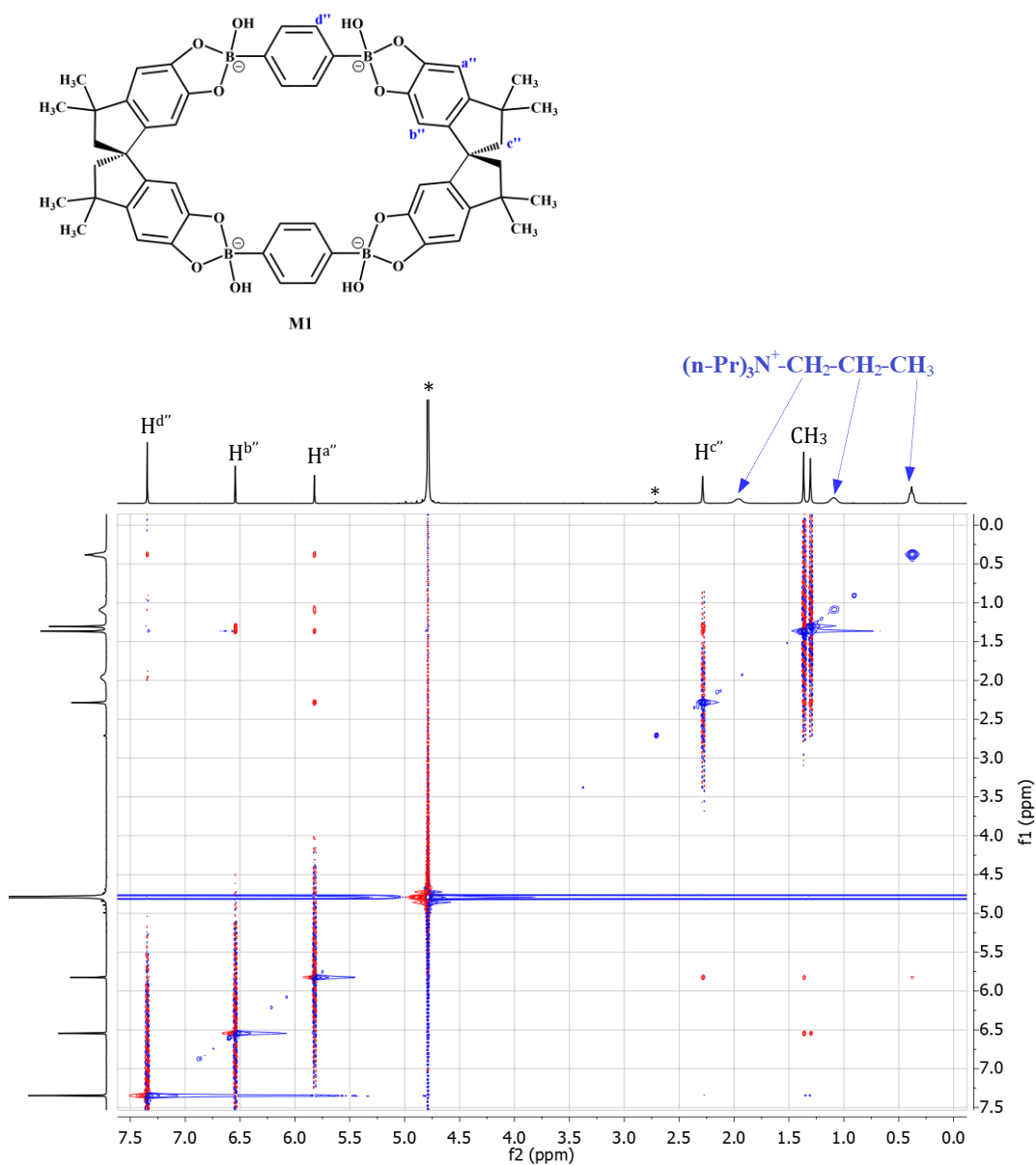


Figura 9.4: Espectro ROESY (400 MHz), en D₂O con 5% vol. de DMSO-d₆, del macrociclo, preparado a partir de una mezcla equimolar (40 mM) de APDB y de TST, con dos equivalentes de NaOH, en presencia de 20 mM de Pr₄N⁺. Las señales con asterisco corresponden a los disolventes residuales.

9.3 TITULACIONES SEGUIDAS POR RMN-¹H DEL MACROCICLO BORONATO M1 CON DIVERSOS HUÉSPEDES.

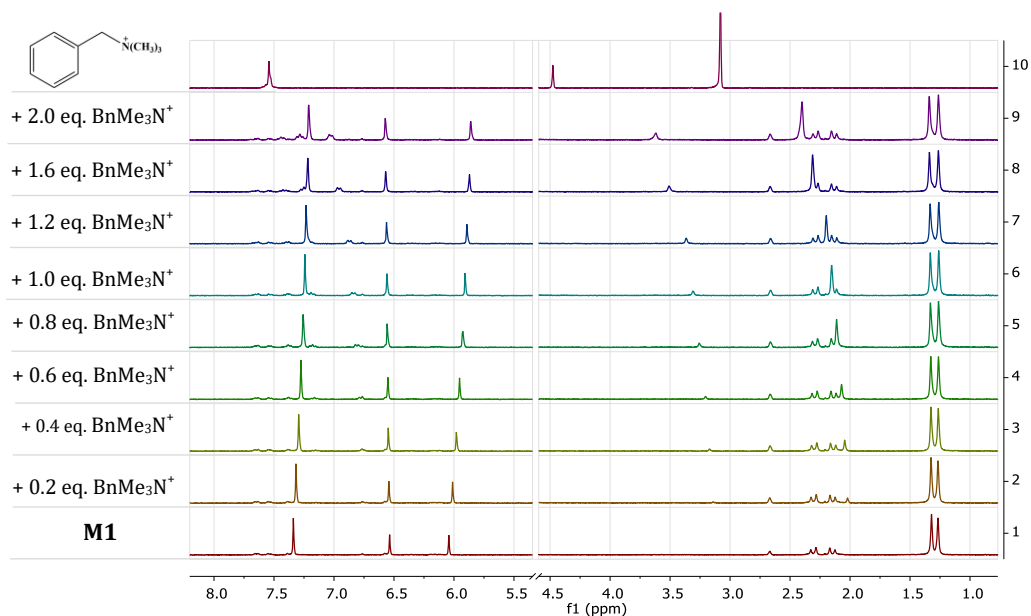


Figura 9.5: Titulación seguida por RMN-¹H (300 MHz), en D₂O con 5% v/v de DMSO-d₆, de 2.5 mM del macrociclo con N-benciltrimetilamonio. Concentraciones de N-benciltrimetilamonio: (1)-0, (2)-0.5 mM, (3)-1 mM, (4)-1.5 mM, (5)-2 mM, (6)-2.5 mM, (7)-3 mM, (8)-4 mM, (9)-5 mM, (10) N-benciltrimetilamonio libre.

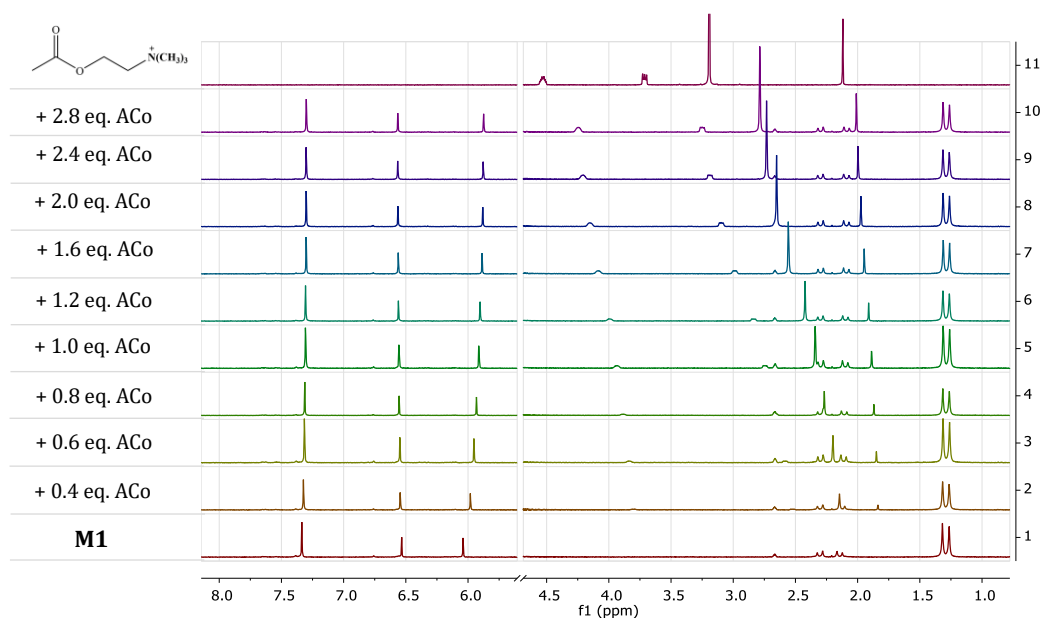


Figura 9.6: Titulación seguida por RMN-¹H (300 MHz), en D₂O con 5% v/v de DMSO-d₆, de 2.5 mM del macrociclo con acetilcolina. Concentraciones de acetilcolina: (1)-0, (2)-1 mM, (3)-1.5 mM, (4)-2 mM, (5)-2.5 mM, (6)-3 mM, (7)-4 mM, (8)-5 mM, (9)-6 mM, (10)-7 mM, (11) acetilcolina libre.

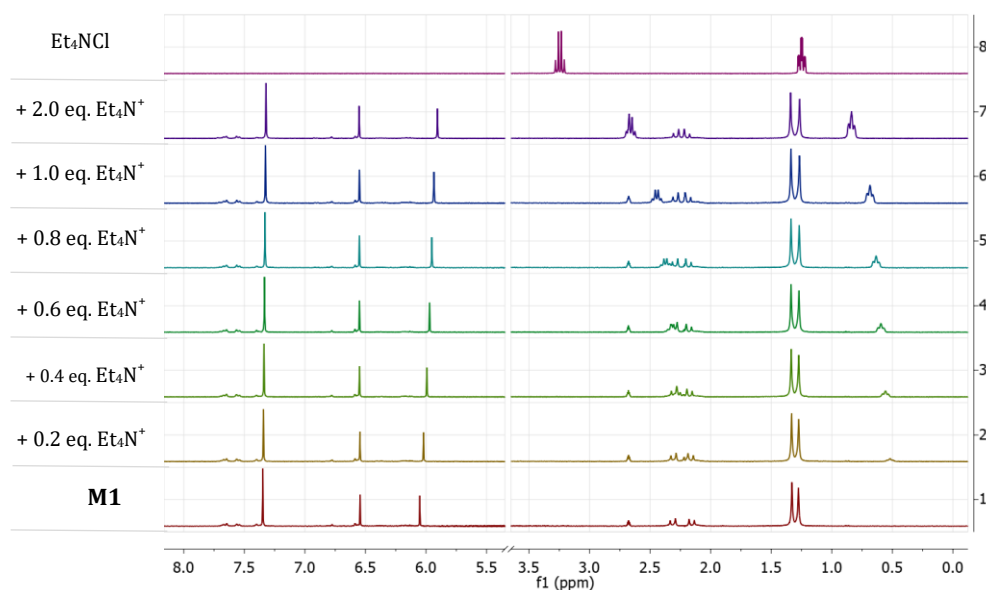


Figura 9.7: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% v/v de DMSO-d_6 , de 2.5 mM del macrociclo con cloruro de tetraetilamonio. Concentraciones de Et_4NCl : (1)-0, (2)-0.5 mM, (3)-1 mM, (4)-1.5 mM, (5)-2 mM, (6)-2.5 mM, (7)-5 mM, (8) Et_4NCl libre.

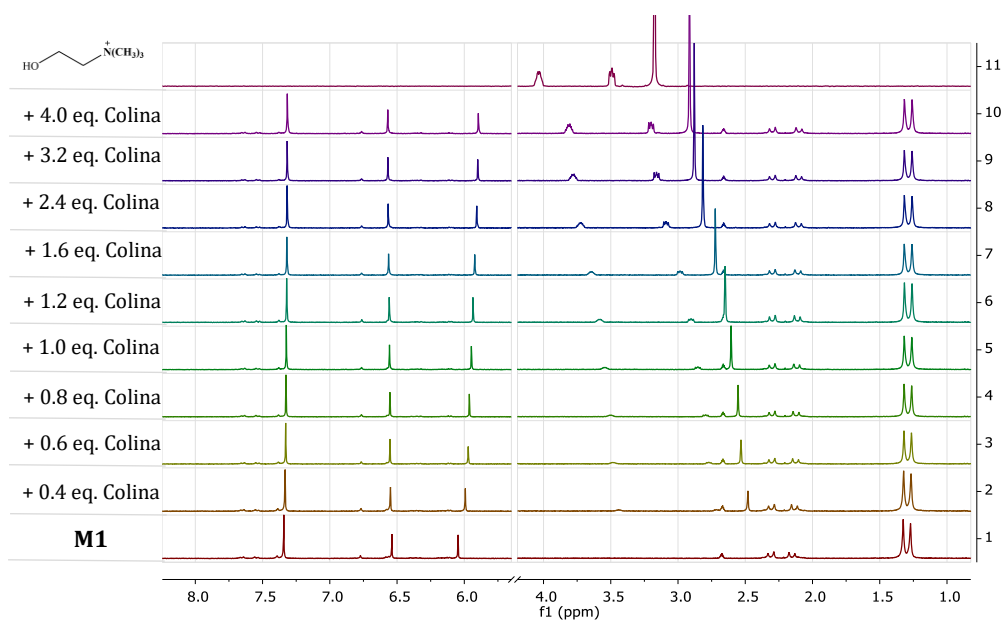


Figura 9.8: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% v/v de DMSO-d_6 , de 2.5 mM del macrociclo con colina. Concentraciones de colina: (1)-0, (2)-1 mM, (3)-1.5 mM, (4)-2 mM, (5)-2.5 mM, (6)-3 mM, (7)-4 mM, (8)-6 mM, (9)-8 mM, (10)-10 mM, (11) colina libre.

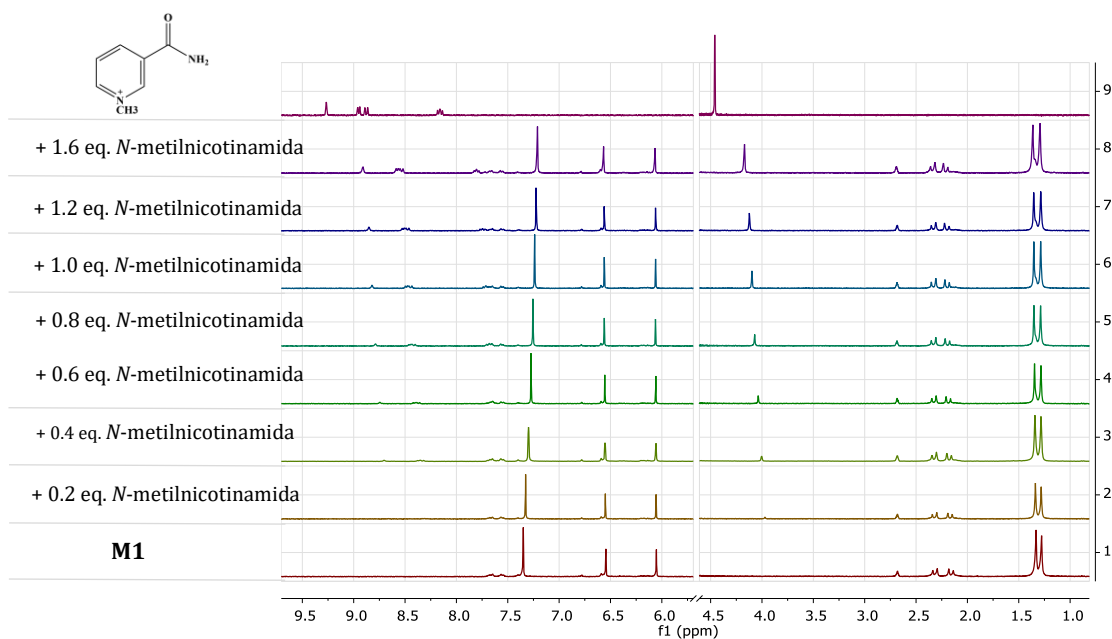


Figura 9.9: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% v/v de DMSO-d_6 , de 2.5 mM del macrociclo con *N*-metilnicotinamida. Concentraciones de *N*-metilnicotinamida: (1)-0, (2)-0.5 mM, (3)-1 mM, (4)-1.5 mM, (5)-2 mM, (6)-2.5 mM, (7)-3 mM, (8)-4 mM, (9) *N*-metilnicotinamida libre.

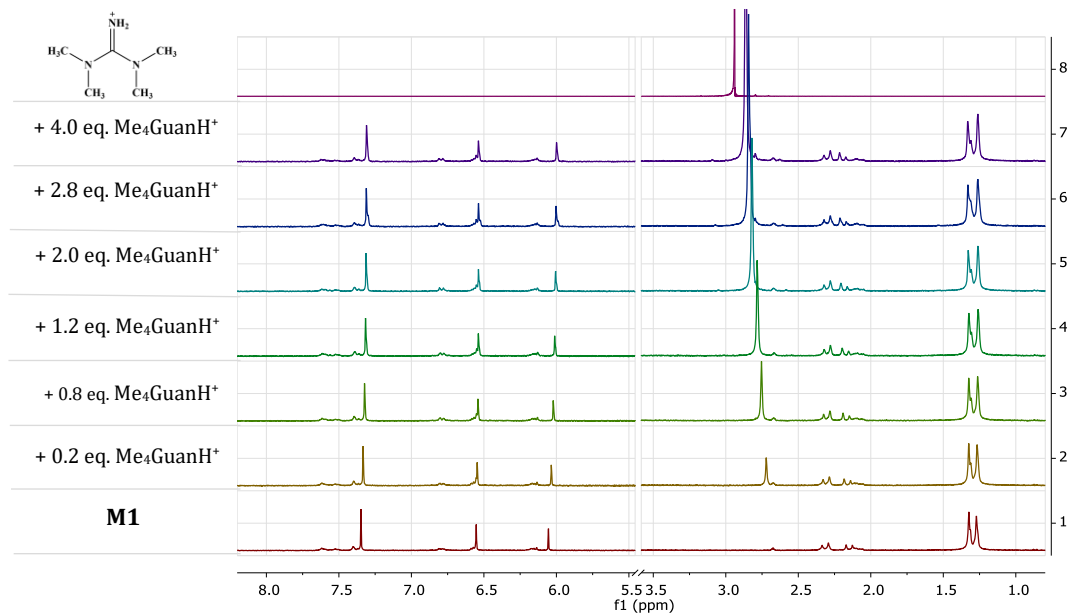


Figura 9.10: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en D_2O con 5% v/v de DMSO-d_6 , de 2.5 mM del macrociclo con *N,N,N',N'*-tetrametilguanidinio. Concentraciones de tetrametilguanidinio: (1)-0, (2)-1 mM, (3)-2 mM, (4)-3 mM, (5)-5 mM, (6)-7 mM, (7)-10 mM, (8) tetrametilguanidinio libre.

9.4 CÁLCULO DE ESTRUCTURAS.

La optimización estructural se realizó con el programa TeraChem^[43] (versión 1.5) utilizando el funcional de intercambio-correlación PBE^[44] en combinación con el conjunto de base 6-311++G**^[45] para todos los átomos y empleando coordenadas cartesianas. Tanto para el macrociclo boronato **M1** libre como para sus complejos de inclusión, las cargas formales negativas fueron compensadas por adición de cationes sodio, por lo que la carga neta en los complejos de inclusión es de (+1).

Para verificar si la interacción entre el macrociclo y los huéspedes era real, se ejecutó una evaluación de la energía potencial en un solo punto colocando el catión tetraalquilamonio alejado del centro del macrociclo a una distancia de 10 Å con respecto al átomo de nitrógeno del huésped. Así, el cálculo de la energía de interacción resultó en un proceso favorable de inclusión para el nivel de teoría empleado.

9.5 TITULACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS.

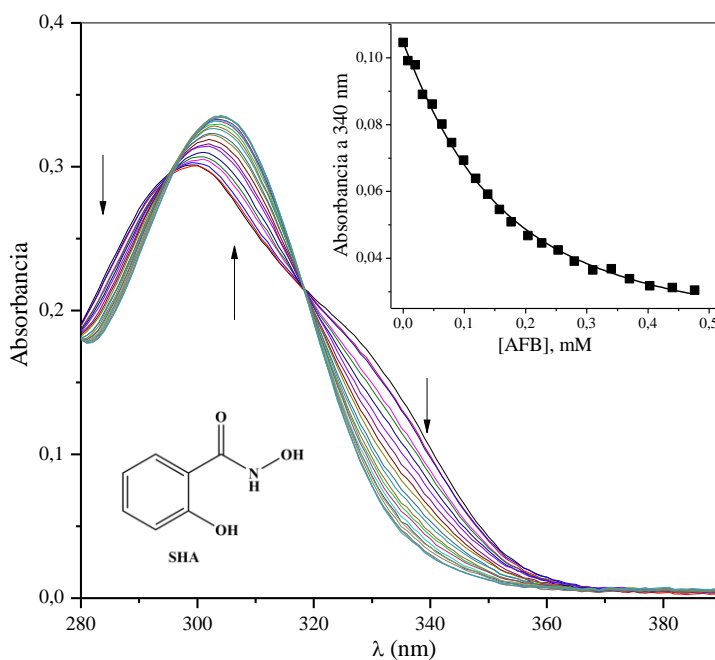


Figura 9.11: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ácido salicilhidroxámico (SHA) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 7.4. $K_{obs} = 10800 M^{-1}$.

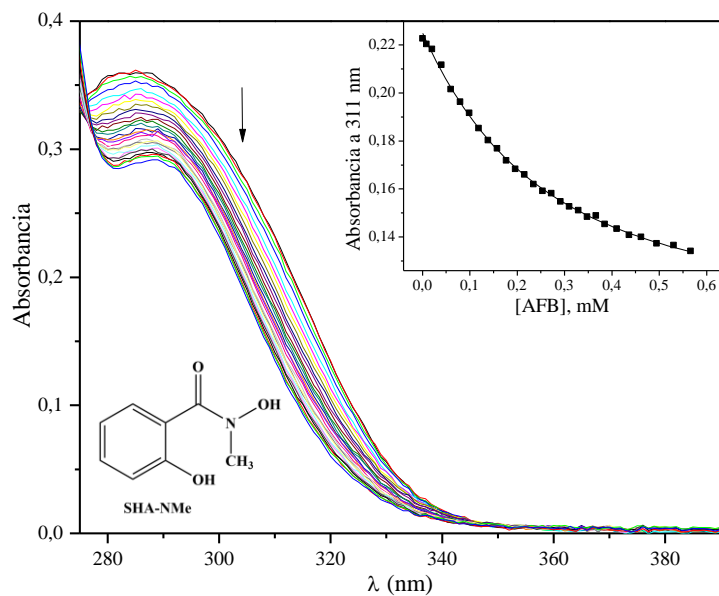


Figura 9.12: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ácido N-metilsalicilhidroxámico (SHA-NMe) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 7.4. $K_{obs} = 6600 M^{-1}$.

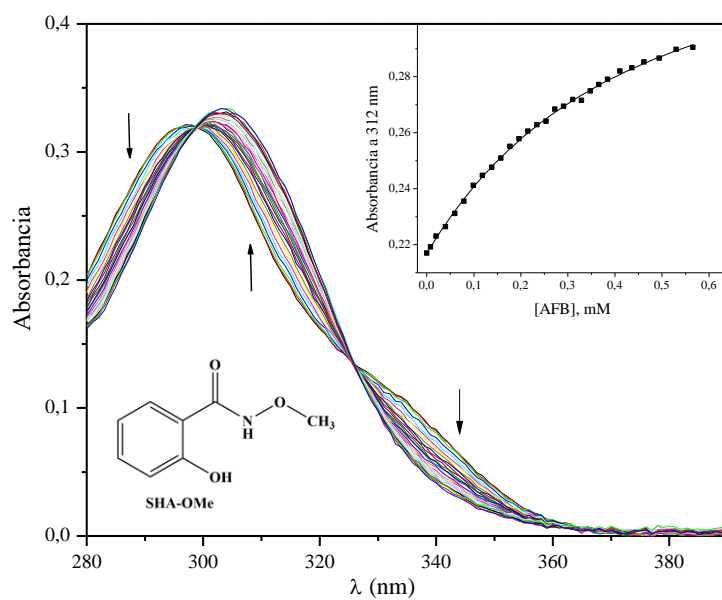


Figura 9.13: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ácido O-metilsalicilhidroxámico (SHA-OMe) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 7.4. $K_{obs} = 6500 M^{-1}$.

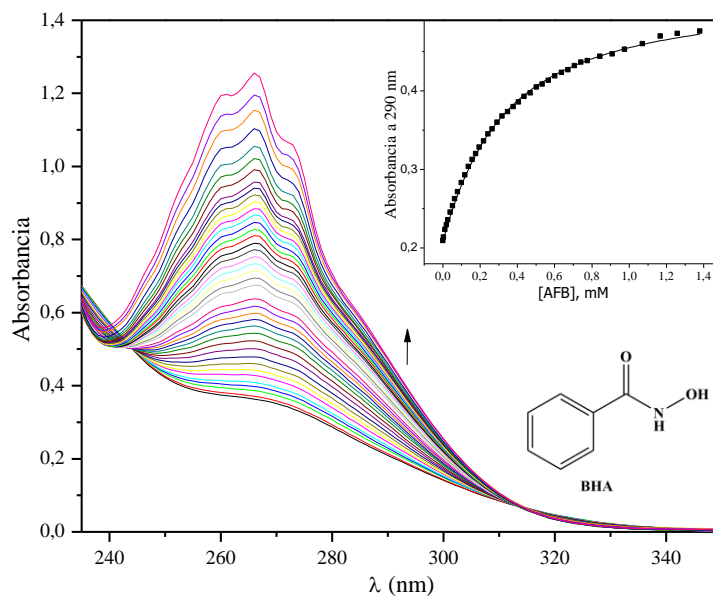


Figura 9.14: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ácido benzohidroxámico (BHA) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 8.9. $K_{obs} = 3700 \text{ M}^{-1}$.

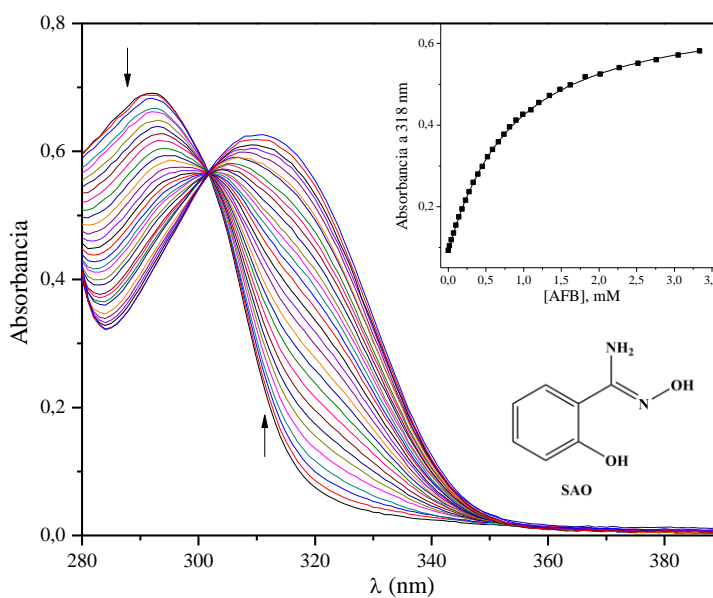


Figura 9.15: Titulación espectrofotométrica de 0.2 mM de salicilamidoxima (SAO) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 6.5. $K_{obs} = 1400 \text{ M}^{-1}$.

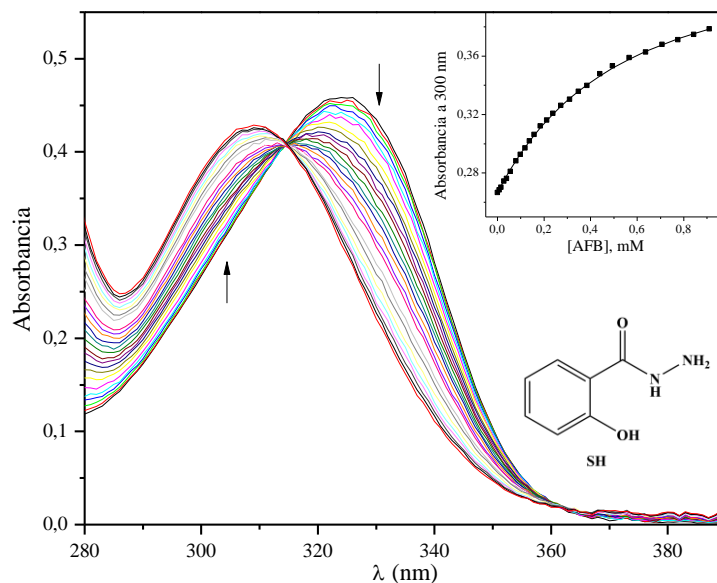


Figura 9.16: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de salicilohidrazida (SH) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 8.3. $K_{obs} = 2200 \text{ M}^{-1}$.

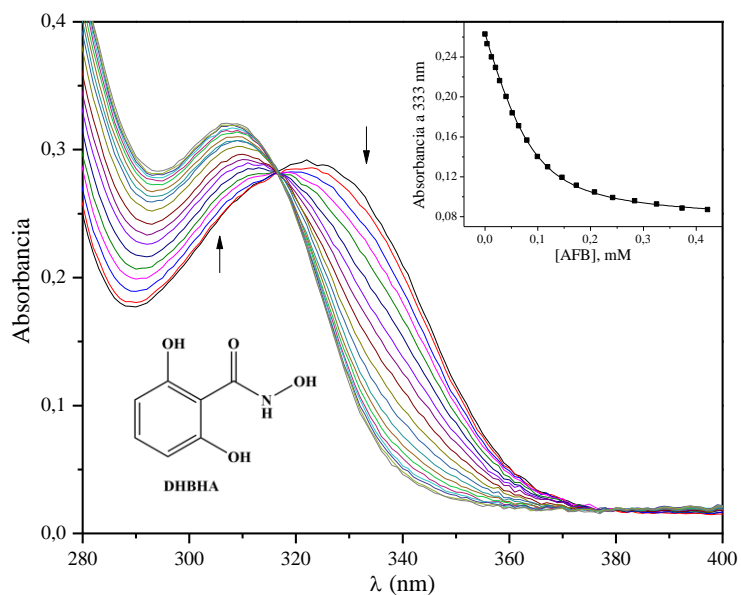


Figura 9.17: Titulación espectrofotométrica de 0.2 mM de ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxámico (DHBHA) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 7.4. $K_{obs} = 52000 \text{ M}^{-1}$.

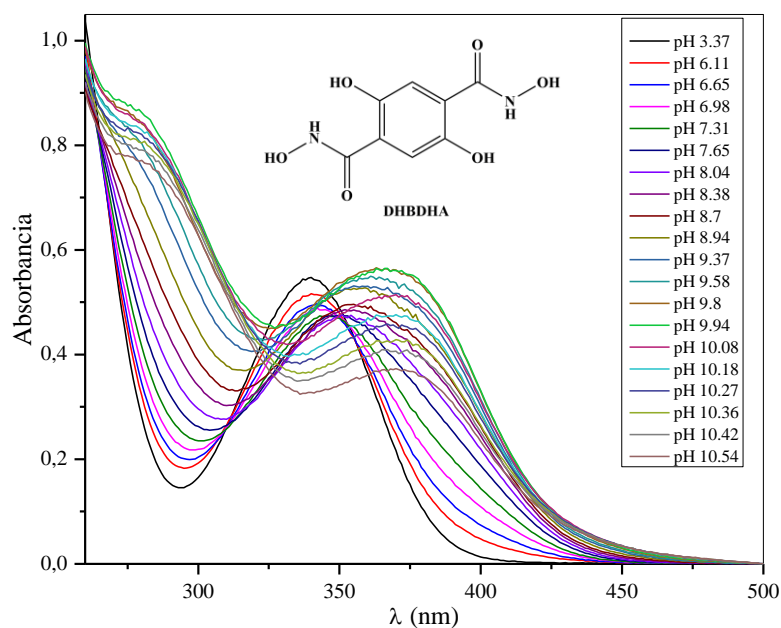


Figura 9.18: Espectros de absorción de 0.1 mM de ácido 2,5-dihidroxi-1,4-benzodihidroxámico (DHBDA) a diferentes valores de pH.

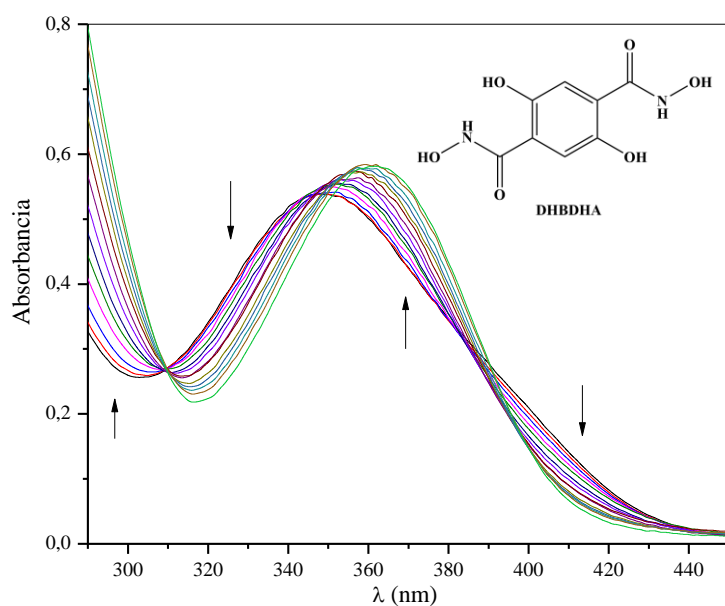


Figura 9.19: Titulación espectrofotométrica de 0.1 mM de ácido 2,5-dihidroxi-1,4-benzodihidroxámico (DHBDA) con ácido fenilborónico (AFB) a pH 7.4.

9.6 ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

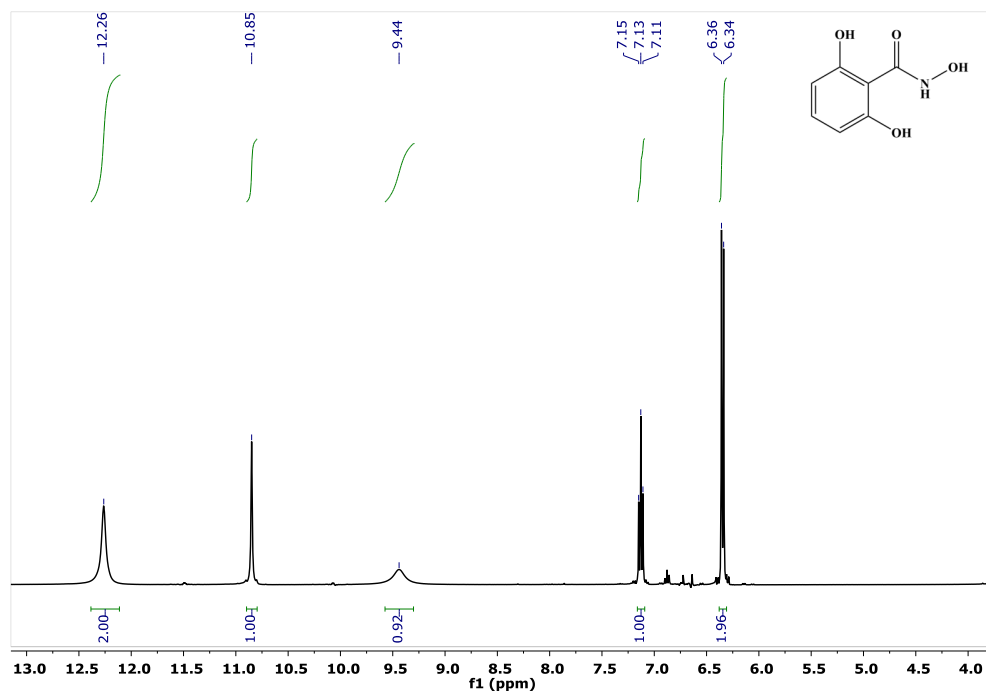


Figura 9.20: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxámico (DHBHA).

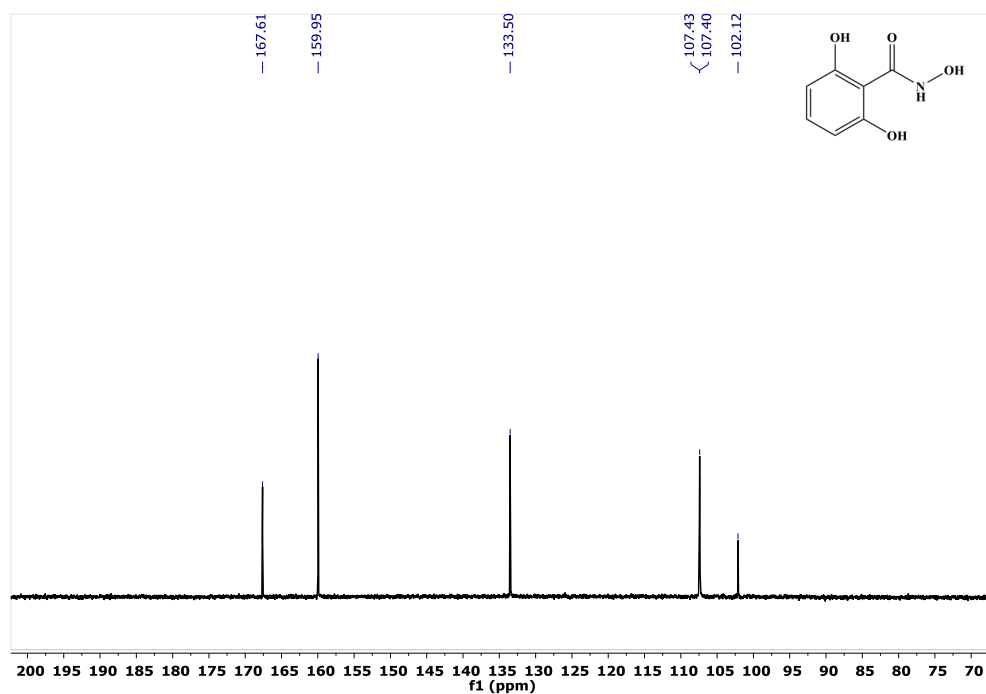


Figura 9.21: Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) de ácido 2,6-dihidroxibenzohidroxámico (DHBHA).

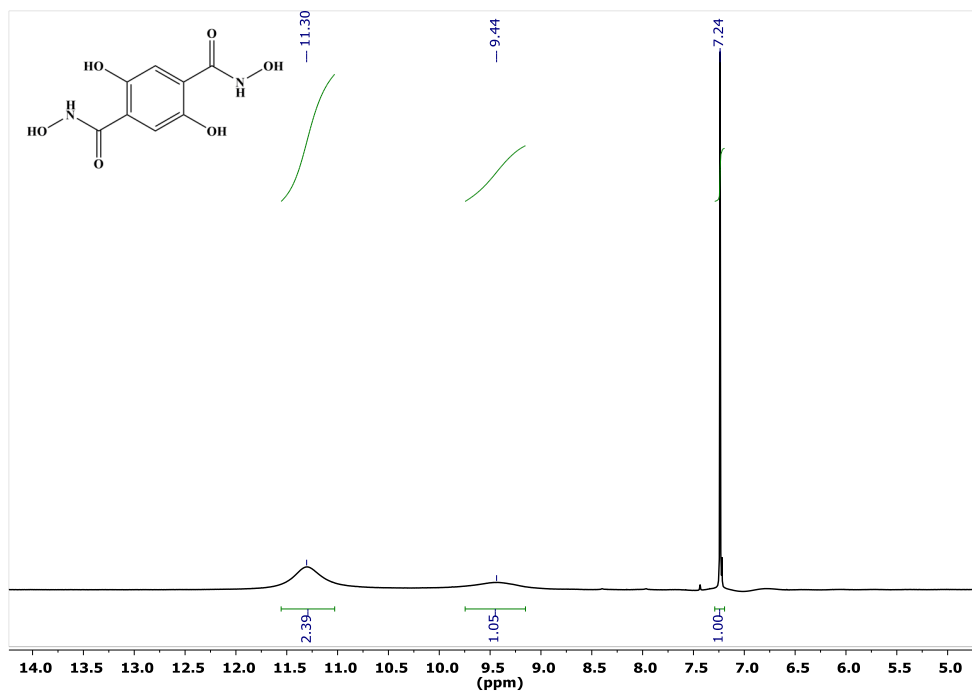


Figura 9.22: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de ácido 2,5-dihidroxi-1,4-benzodihidroxiámico (DHBDHA).

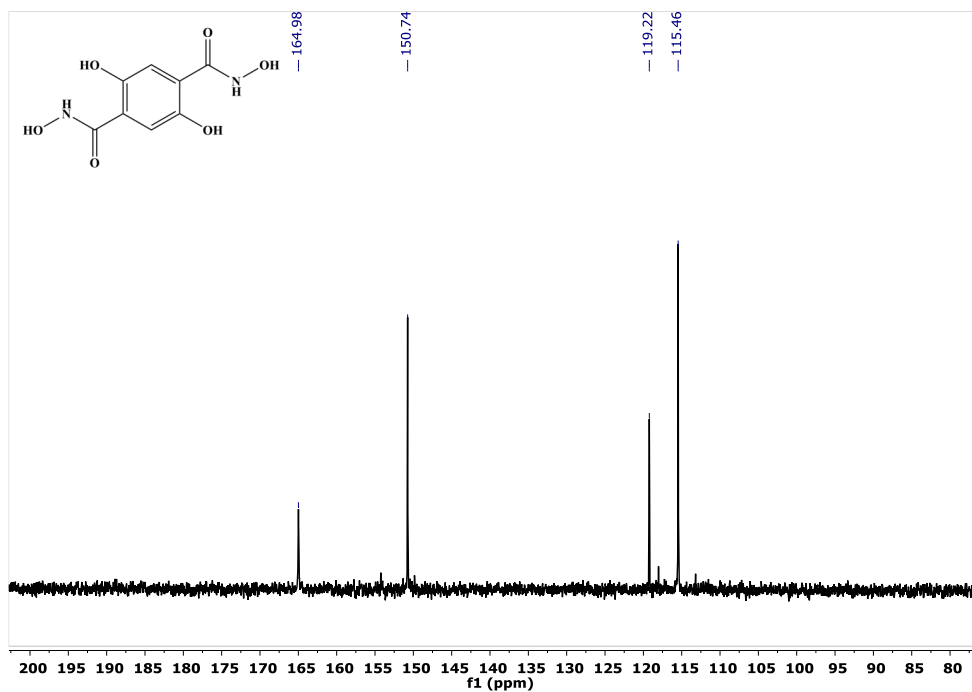


Figura 9.23: Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) de ácido 2,5-dihidroxi-1,4-benzodihidroxiámico (DHBDHA).

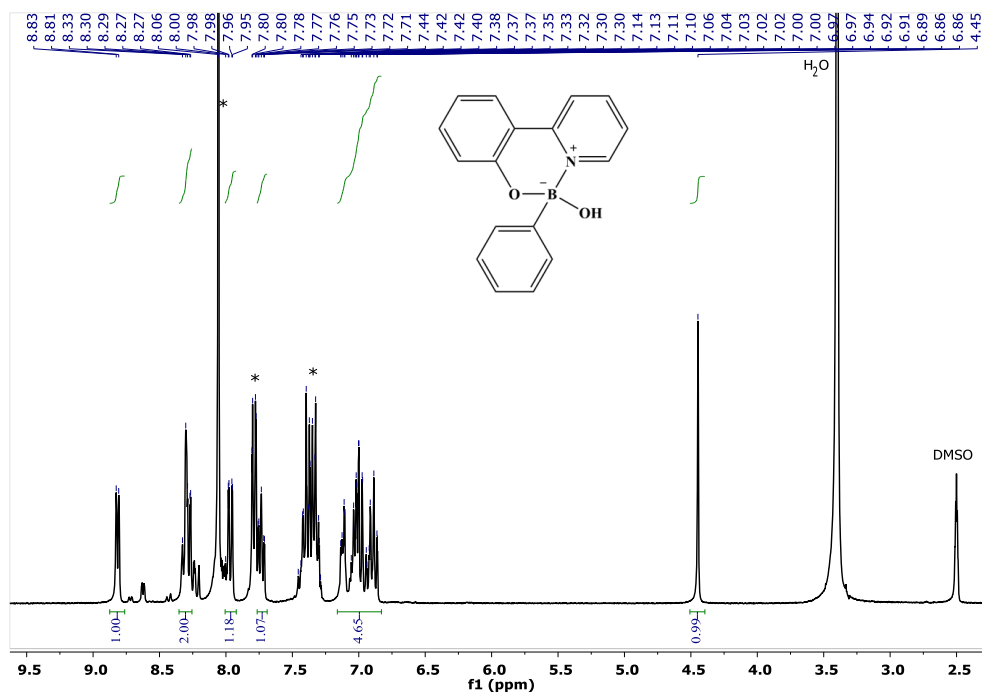


Figura 9.24: Espectro de RMN- ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de PyPh y AFB, (las señales con asteriscos corresponden a las señales de AFB libre añadido en exceso para lograr la completa formación del complejo boronato).

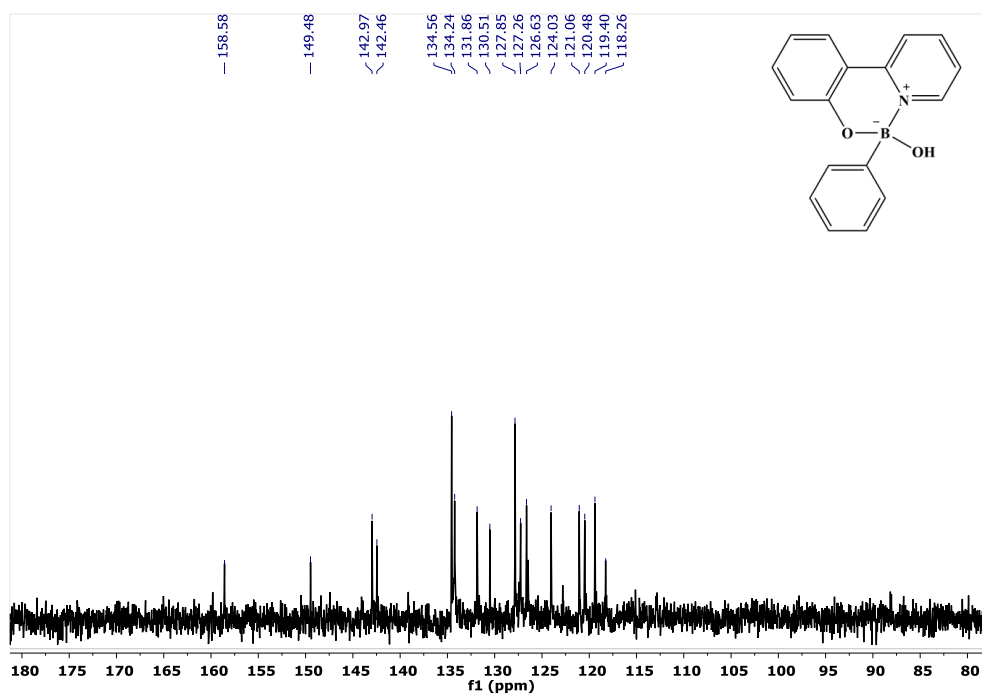


Figura 9.25: Espectro de RMN- ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de PyPh y AFB.

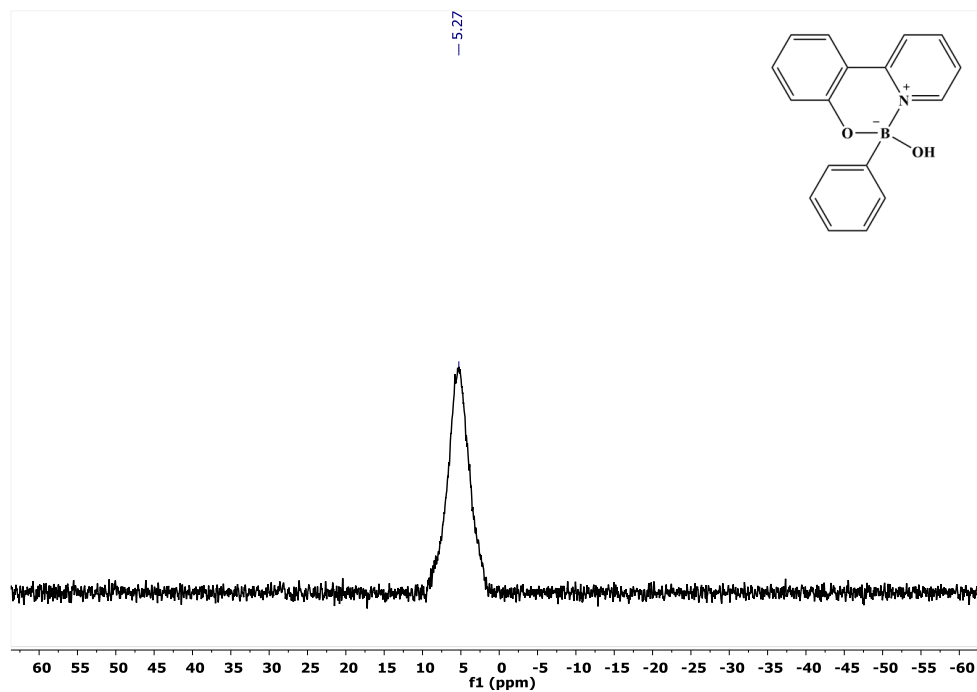


Figura 9.26: Espectro de RMN- ^{11}B (128 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de PyPh y AFB.

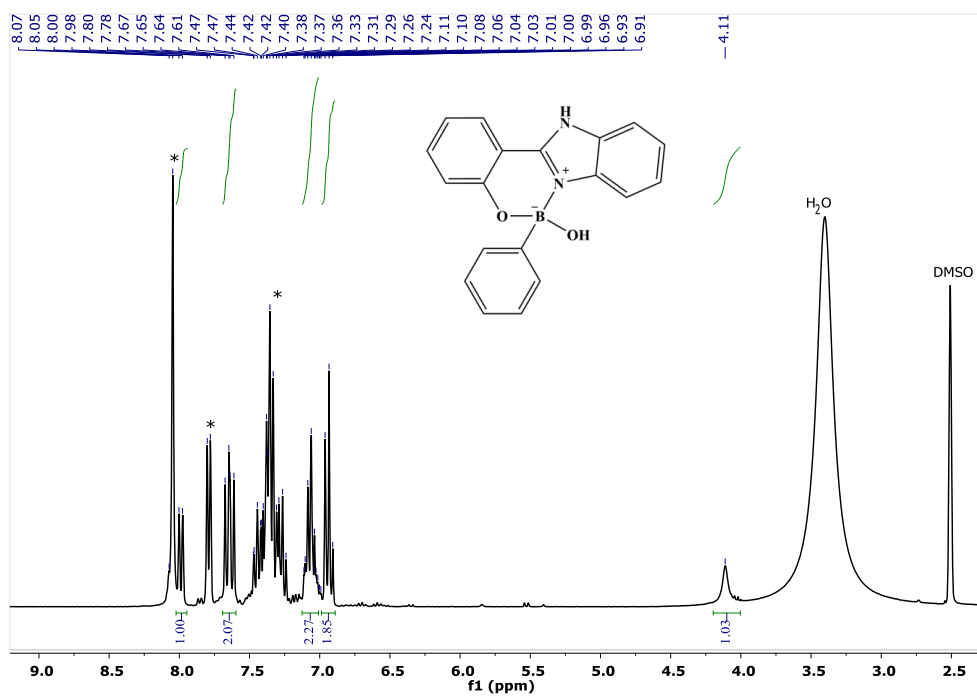


Figura 9.27: Espectro de RMN- ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de HFB y AFB, (las señales con asteriscos corresponden a las señales de AFB libre añadido en exceso para lograr la completa formación del complejo boronato).

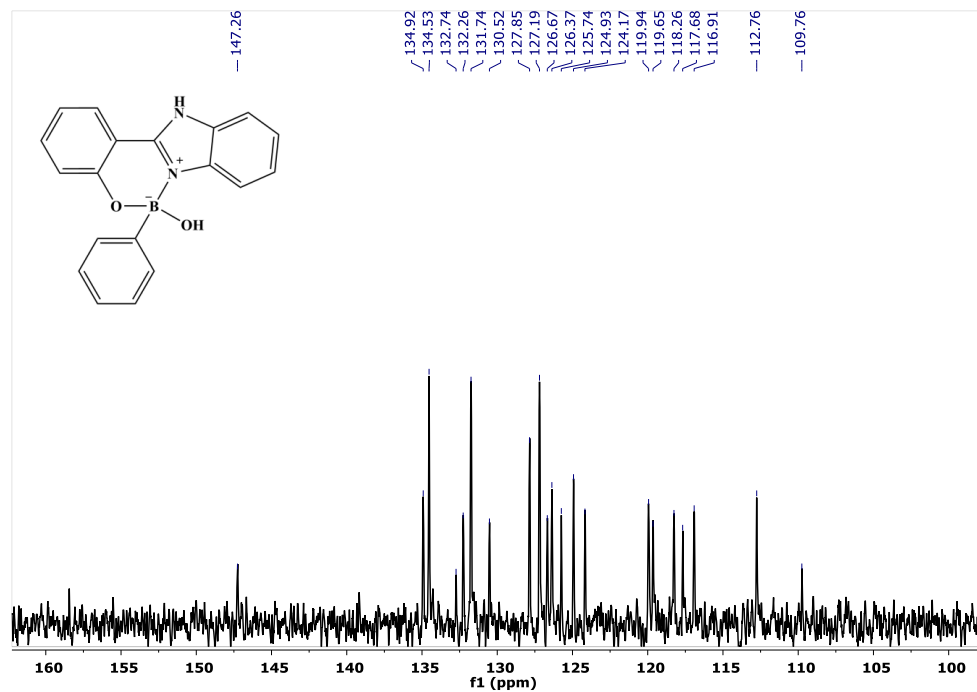


Figura 9.28: Espectro de RMN- ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de HFB y AFB.

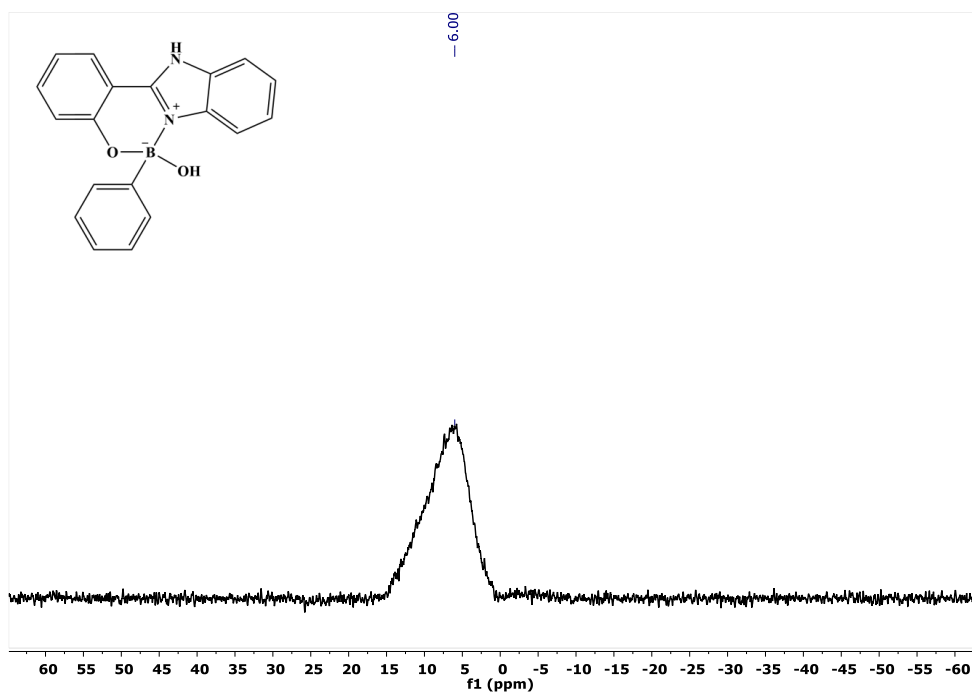


Figura 9.29: Espectro de RMN- ^{11}B (128 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de HFB y AFB.

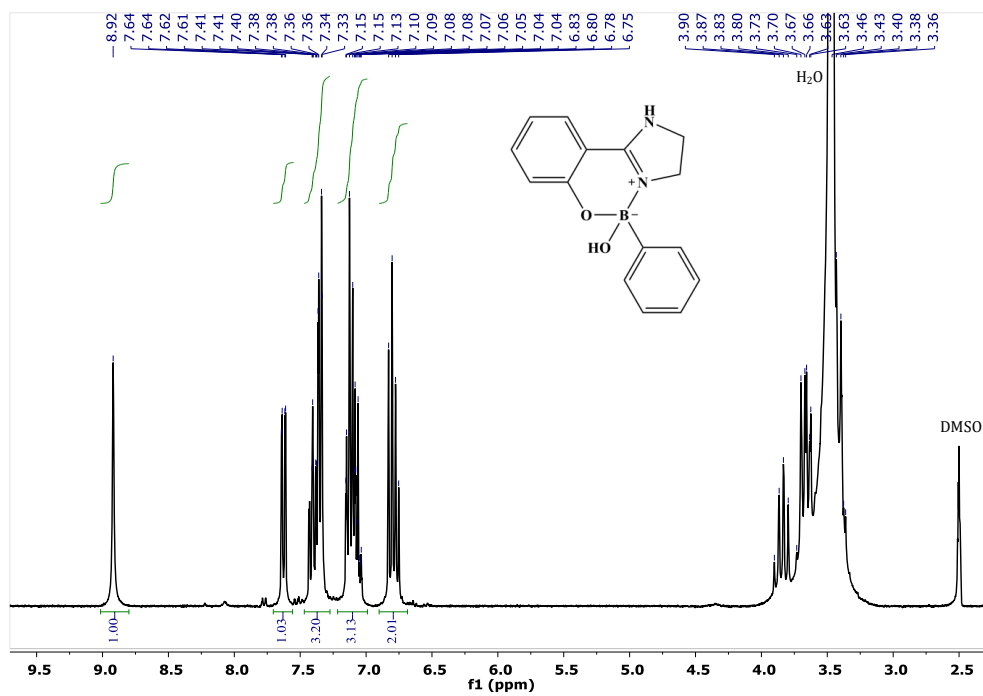


Figura 9.30: Espectro de RMN- ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de DHIF y AFB.

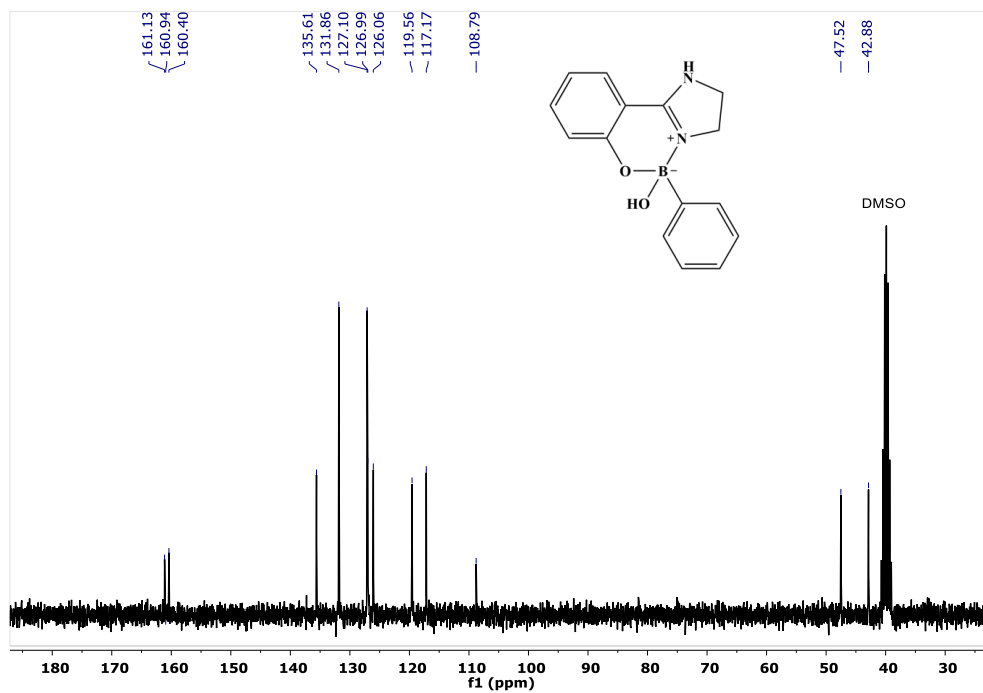


Figura 9.31: Espectro de RMN- ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de DHIF y AFB.

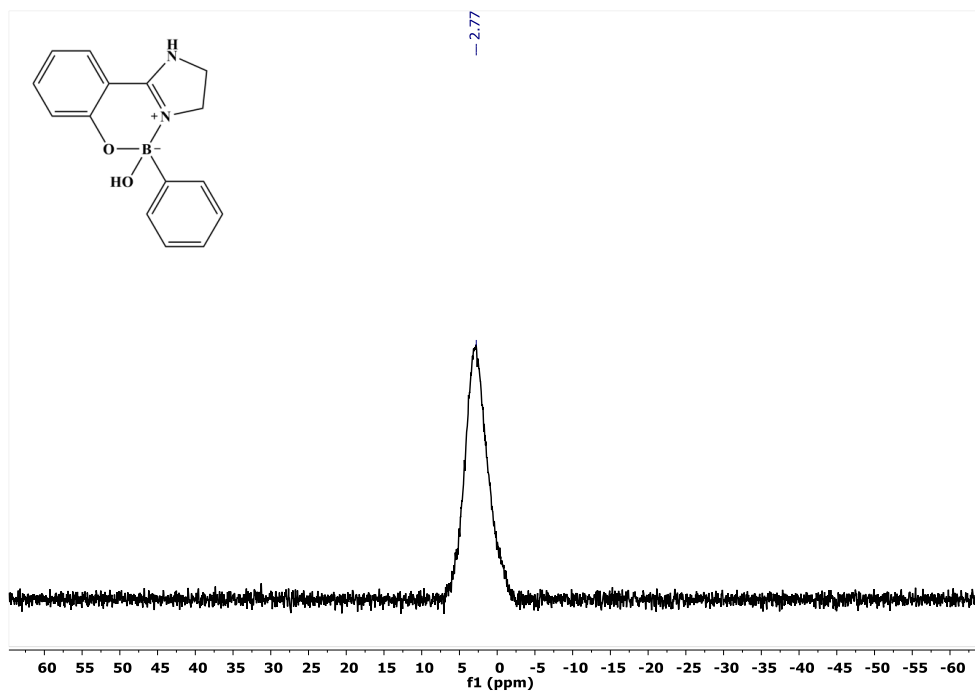


Figura 9.32: Espectro de RMN- ^{11}B (128 MHz, DMSO-d_6) del boronato derivado de DHIF y AFB.

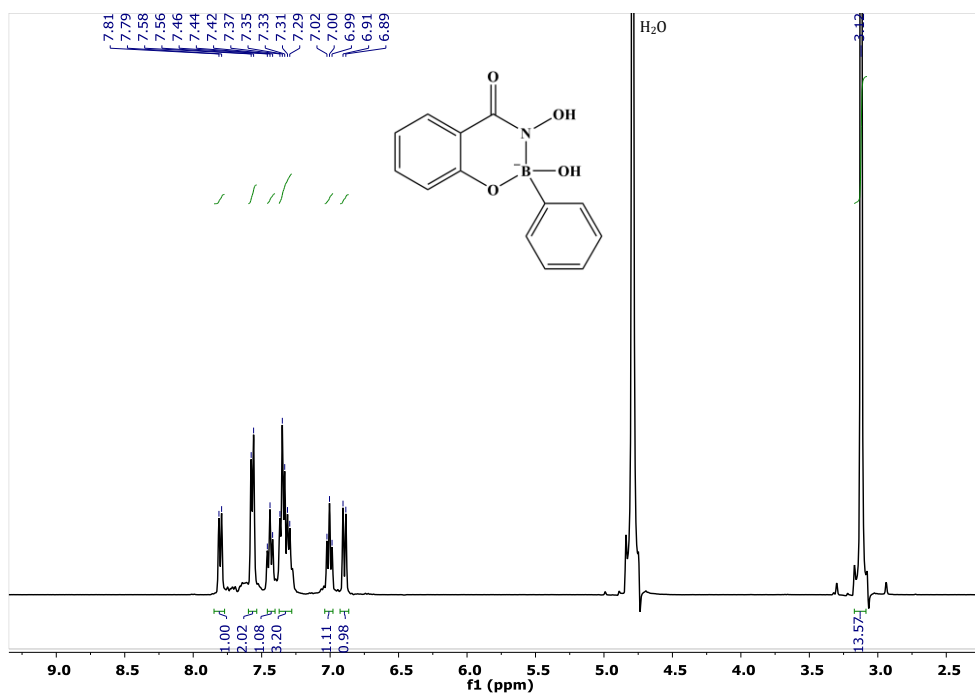


Figura 9.33: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y AFB.

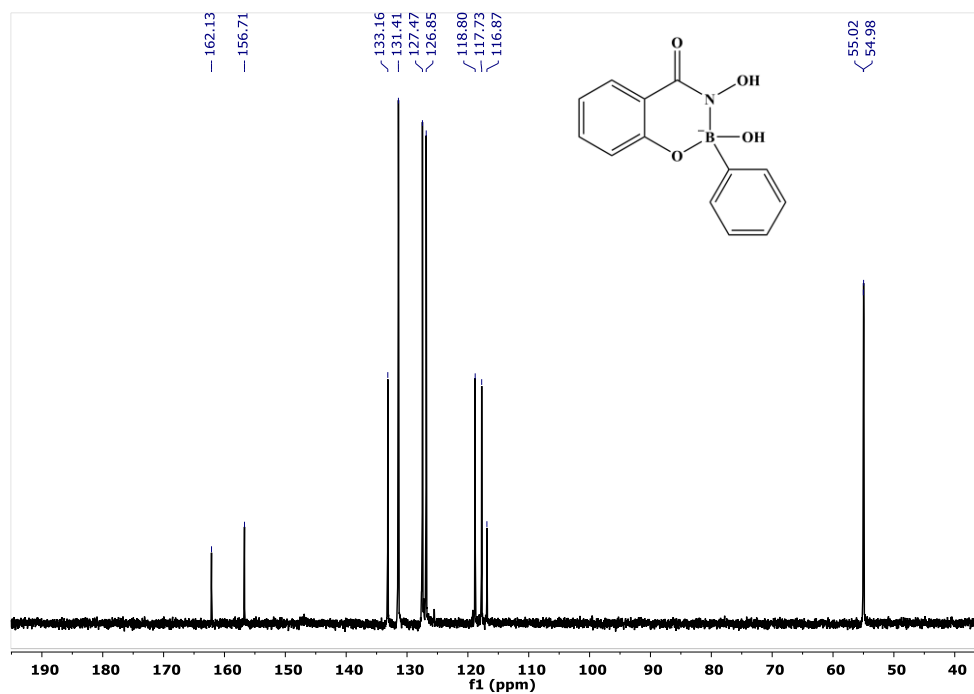


Figura 9.34: Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y AFB.

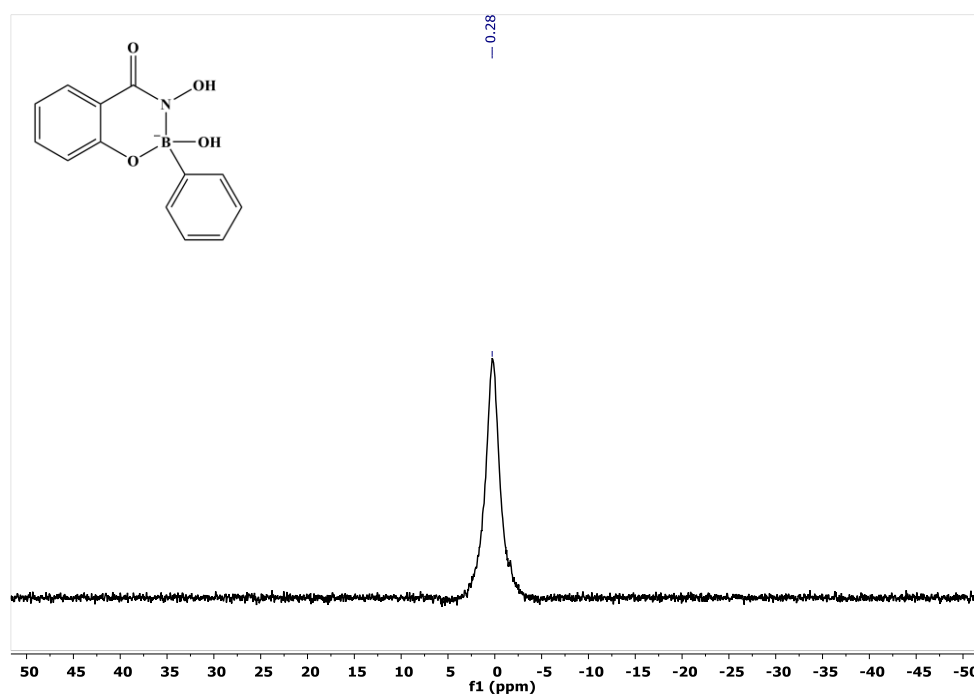


Figura 9.35: Espectro de RMN- ^{11}B (128 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y AFB.

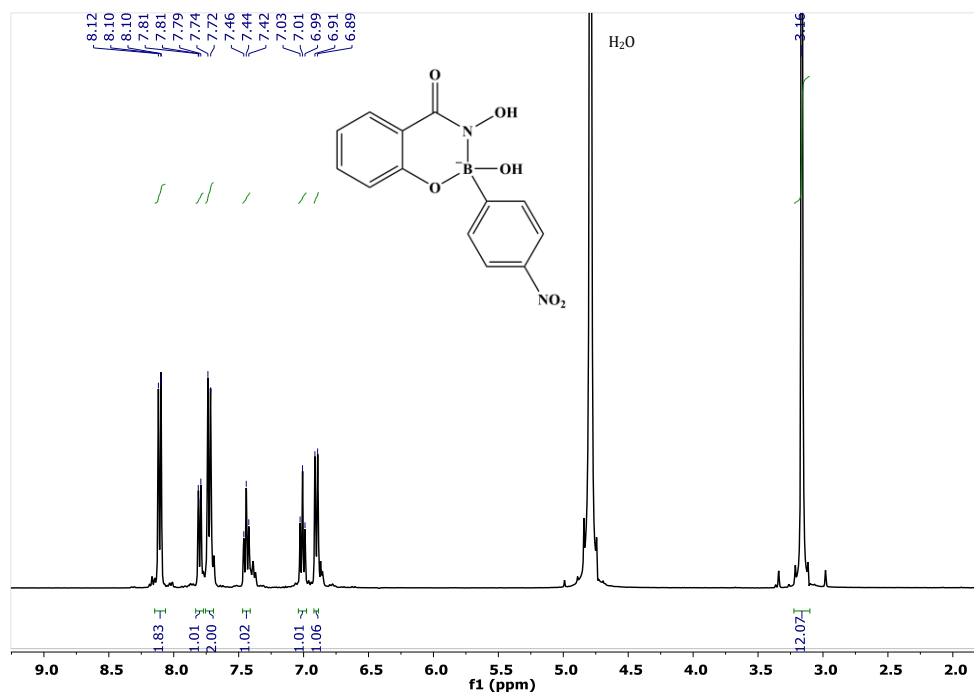


Figura 9.36: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y A4NFB.

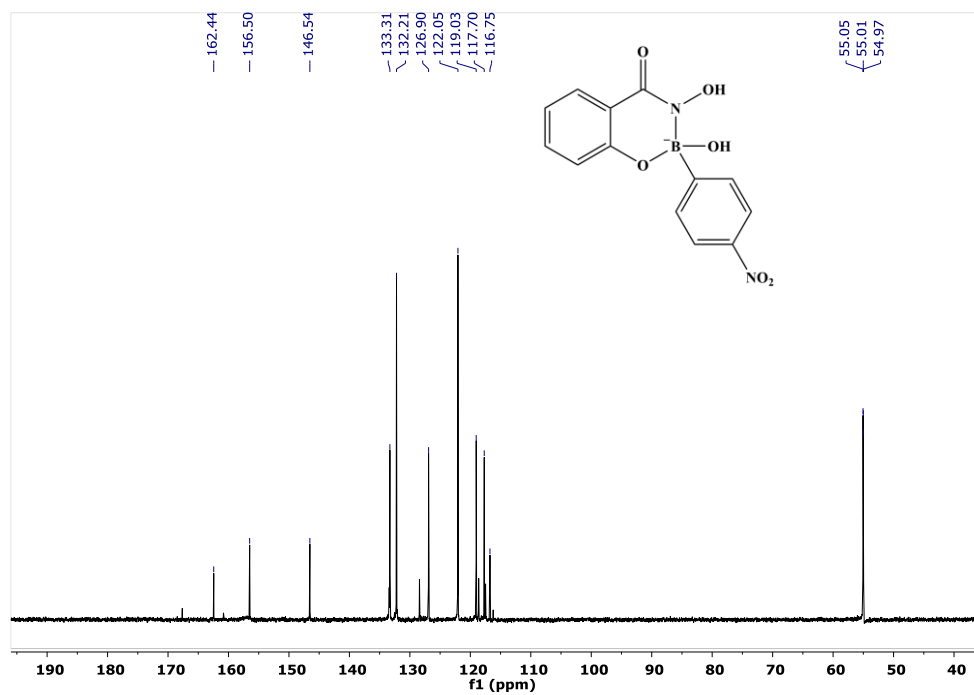


Figura 9.37: Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y A4NFB.

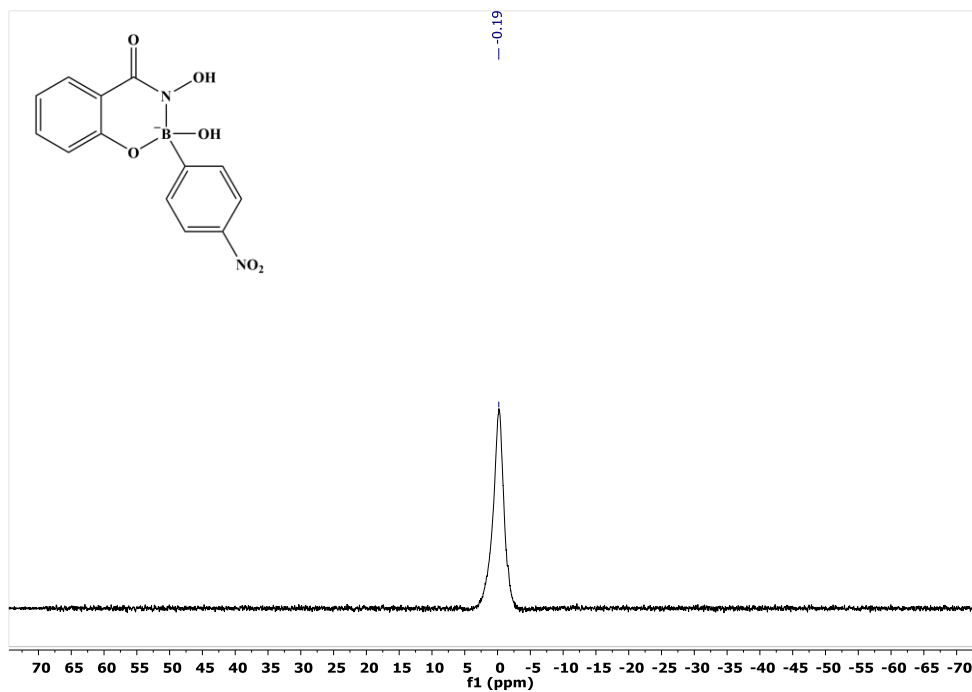


Figura 9.38: Espectro de RMN- ^{11}B (128 MHz, D_2O) del éster borónico derivado de SHA y A4NFB.

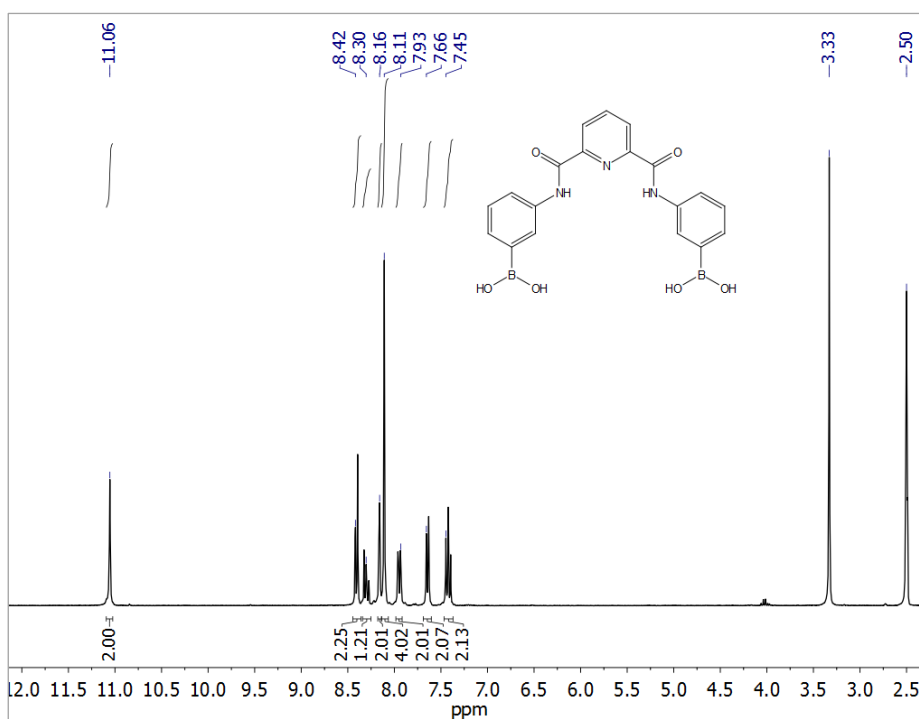


Figura 9.39: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) del receptor R1.

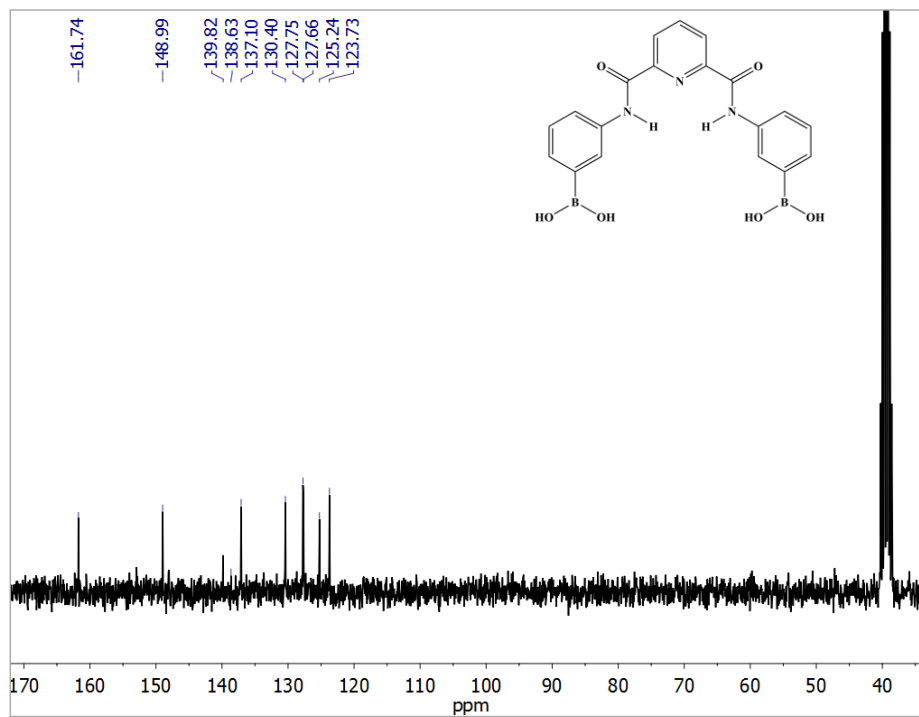


Figura 9.40: Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) del receptor R1.

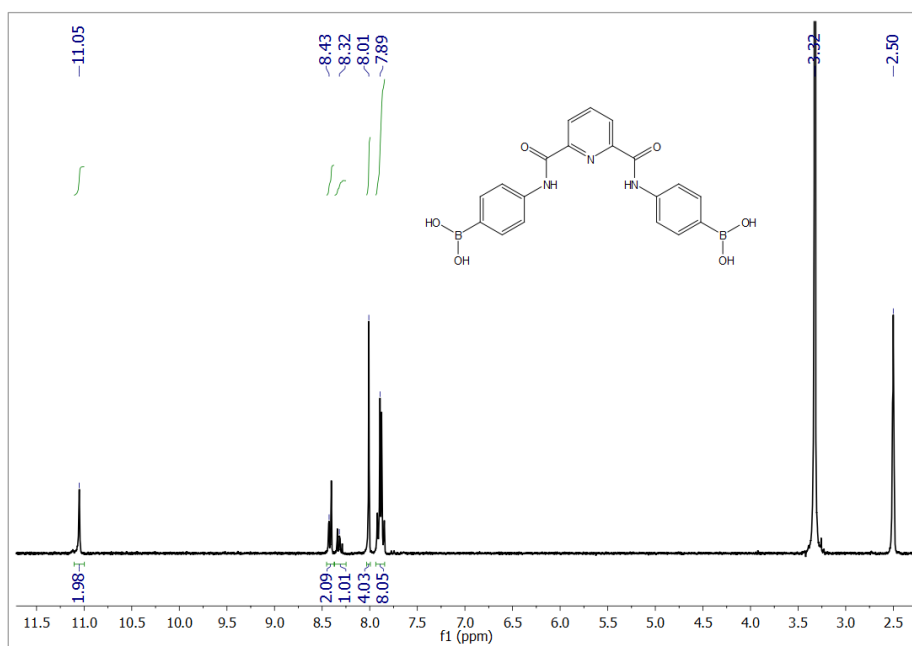


Figura 9.41: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) del receptor R2.

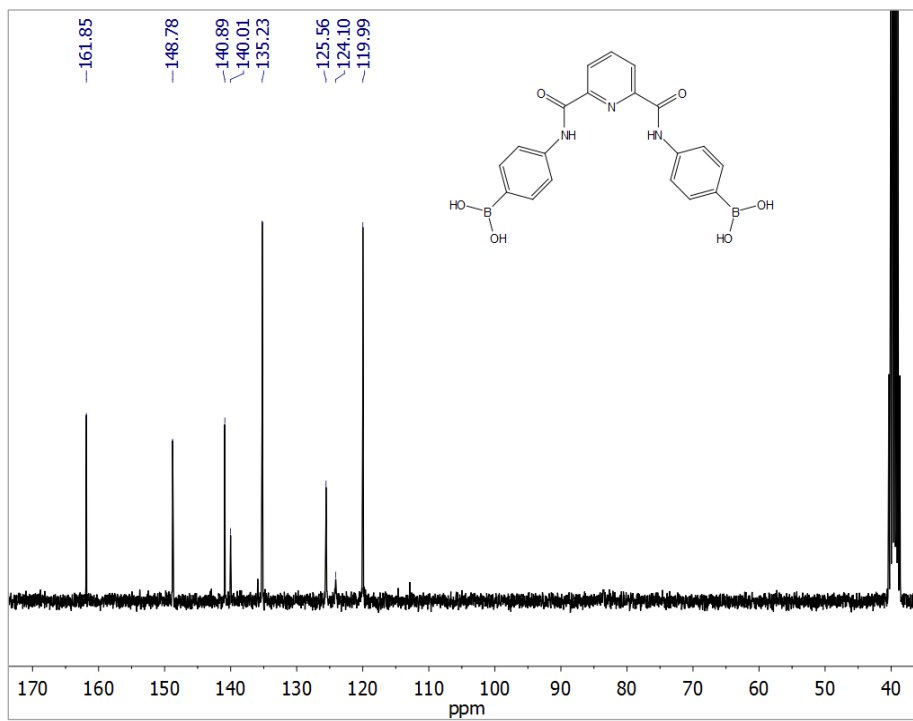


Figura 9.42: Espectro de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) del receptor R2.

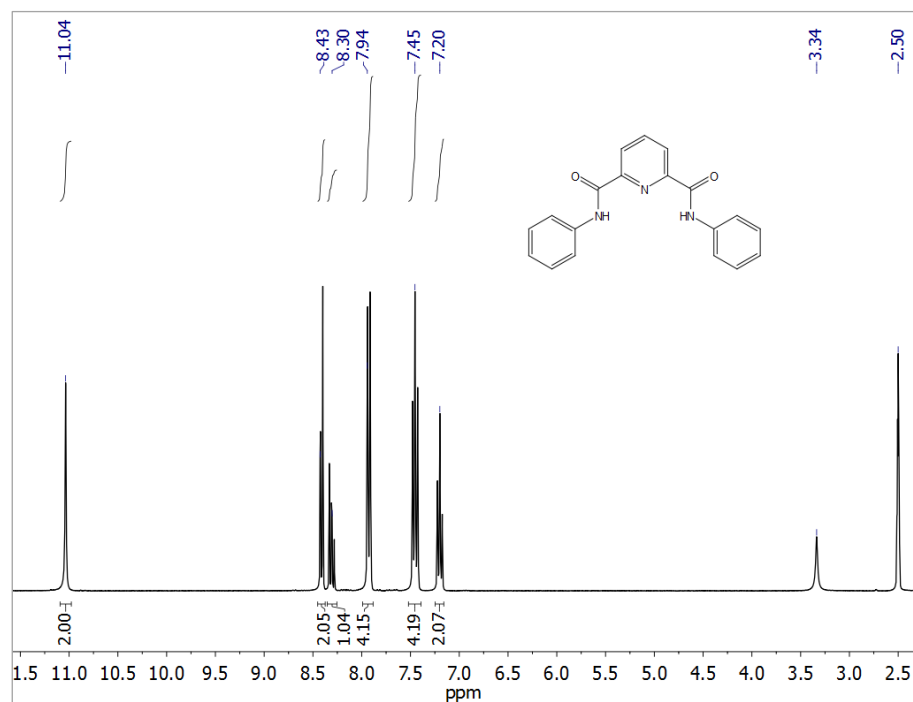


Figura 9.43: Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) del receptor R3.

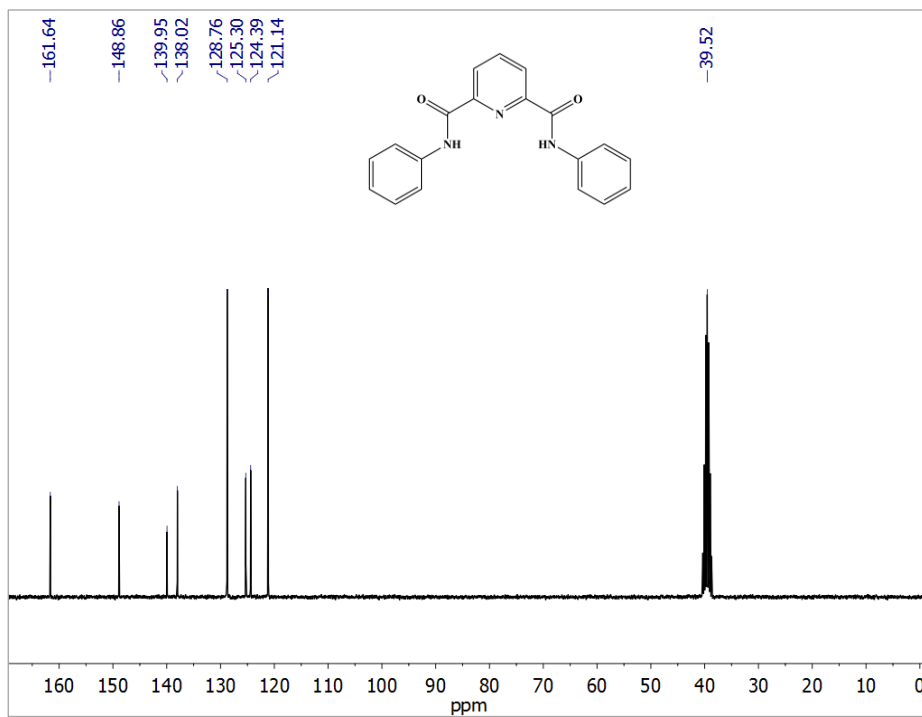


Figura 9.44: Espectro de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del receptor R3.

9.7 DATOS CRISTALOGRAFICOS

Tabla 9.2: Datos cristalográficos.

Identificador	AFB+SHA	A4NFB+SHA
Formula empírica	C ₃₄ H ₄₂ B ₂ N ₄ O ₆	C ₃₈ H ₅₂ B ₂ N ₆ O ₁₂ S ₂
Formula molecular	624.33	870.59
Temperatura	130 (2) K	130 (2) K
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	P 2 ₁ /n	P -1
Parámetros de celda	a = 10.0053(8) Å b = 10.8372(7) Å c = 15.4322(15) Å α = 90°. β = 105.974(9)°. γ = 90°.	a = 9.6317(11) Å b = 10.1328(8) Å c = 13.2655(11) Å α = 92.678(7)°. β = 105.802(9)°. γ = 116.745(10)°.
Volumen	1608.7(2) Å ³	1090.7(2) Å ³
Z	2	1
Densidad (calculada)	1.289 Mg/m ³	1.325 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0.088 mm ⁻¹	0.188 mm ⁻¹
F(000)	664	460
Tamaño del cristal (mm ³)	0.350 x 0.350 x 0.150	0.550 x 0.280 x 0.260
Límite de θ	3.516 a 30.089°.	3.596 a 29.593°.
Intervalos de hkl	-9<=h<=13, -14<=k<=10, -19<=l<=18	-12<=h<=13, -13<=k<=13, -17<=l<=18
Reflexiones colectadas	8564	19138
Reflexiones independientes	4059 [R(int) = 0.0392]	5378 [R(int) = 0.0275]
Datos/restricciones/ parámetros	4059 / 0 / 212	5378 / 0 / 277
Goodness-of-fit on F ₂	1.020	1.037
Índices R finales [I>2σ(I)]	R1 = 0.0568, wR2 = 0.1098	R1 = 0.0386, wR2 = 0.0938
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0959, wR2 = 0.1333	R1 = 0.0497, wR2 = 0.1029

Tabla 9.3: Datos cristalográficos.

Identificador	AFB+PyPh	AFB+HFB	AFB+DHIF
Formula empírica	C ₁₇ H ₁₄ BN ₂ O ₂	C ₂₁ H ₂₁ BN ₂ O ₃ S	C ₁₅ H ₁₅ BN ₂ O ₂
Formula molecular	275.10	392.27	266.10
Temperatura	130(2) K	130(2) K	130 (2) K
Sistema cristalino	Triclínico	Triclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P -1	P -1	P 2 ₁ /n
Parámetros de celda	a = 10.6315(9) Å b = 15.7173(11) Å c = 17.8414(14) Å α = 90.851(6)°. β = 106.185(7)°. γ = 107.203(7)°.	a = 7.1901(8) Å b = 10.0347(10) Å c = 14.3356(17) Å α = 97.769(9)°. β = 95.311(9)°. γ = 101.096(9)°.	a = 12.3145(10) Å b = 8.0745(8) Å c = 13.5514(12) Å α = 90°. β = 98.653(8)°. γ = 90°.
Volumen	2719.6(4) Å ³	998.16(19) Å ³	1332.1(2) Å ³
Z	8	2	4
Densidad (calculada)	1.344 Mg/m ³	1.305 Mg/m ³	1.327 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0.087 mm ⁻¹	0.186 mm ⁻¹	0.088 mm ⁻¹
F(000)	1152	412	560
Tamaño del cristal (mm ³)	0.470 x 0.350 x 0.340	0.540 x 0.460 x 0.270	0.530 x 0.430 x 0.060
Límite de θ	3.522 a 29.560°.	3.512 a 29.370°.	3.499 a 29.430°.
Intervalos de hkl	-14 ≤ h ≤ 13, - 21 ≤ k ≤ 21, -22 ≤ l ≤ 24	-9 ≤ h ≤ 9, - 13 ≤ k ≤ 13, -19 ≤ l ≤ 19	-17 ≤ h ≤ 16, - 11 ≤ k ≤ 10, -18 ≤ l ≤ 17
Reflexiones colectadas	25387	11003	17100
Reflexiones independientes	12662 [R(int) = 0.0573]	4664 [R(int) = 0.0267]	3404 [R(int) = 0.0746]
Datos/restricciones/parámetros	12662 / 4 / 769	4664 / 749 / 451	3404 / 1 / 184
Goodness-of-fit on F ²	1.073	1.052	1.031
Índices R finales [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0639 wR2 = 0.1039	R1 = 0.0529 wR2 = 0.1178	R1 = 0.0616 wR2 = 0.1178
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.1422 wR2 = 0.1423	R1 = 0.0729 wR2 = 0.1300	R1 = 0.1202 wR2 = 0.1500

Tabla 9.4: Datos cristalográficos.

Identificador	R1	éster pinacol de R2
Formula empírica	C ₂₆ H ₂₇ B ₂ N ₃ O ₇	C ₃₂ H ₄₁ B ₂ N ₃ O ₇
Formula molecular	512.12	601.30
Temperatura	100 (2) K	100 (2) K
Sistema cristalino	Monoclinico	Triclínico
Grupo espacial	P 2 ₁ /n	P -1
Parámetros de celda	a = 8.7689(4) Å b = 27.5764(11) Å c = 11.0941(4) Å α = 90°. β = 109.587(2)°. γ = 90°.	a = 10.9383(2) Å b = 11.5484(2) Å c = 14.3999(3) Å α = 89.7815(8)°. β = 82.1460(8)°. γ = 63.6922(7)°.
Volumen	2527.47(18) Å ³	1612.00(5) Å ³
Z	4	2
Densidad (calculada)	1.354 Mg/m ³	1.239 Mg/m ³
Coefficiente de absorción	0.805 mm ⁻¹	0.086 mm ⁻¹
F(000)	1080	640
Tamaño del cristal (mm ³)	0.245 x 0.213 x 0.208	0.395 x 0.325 x 0.250
Límite de θ	3.205 a 68.231°.	1.971 a 27.445°.
Intervalos de hkl	-10<=h<=8, -33<=k<=32, -12<=l<=13	-14<=h<=14, -14<=k<=14, -18<=l<=18
Reflexiones colectadas	20146	65674
Reflexiones independientes	4538 [R(int) = 0.0352]	7332 [R(int) = 0.0207]
Datos/restricciones/ parámetros	4538 / 664 / 496	7332 / 387 / 494
Goodness-of-fit on F ²	1.078	1.066
Índices R finales [I>2σ(I)]	R1 = 0.0879, wR2 = 0.2155	R1 = 0.0472, wR2 = 0.1247
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0927, wR2 = 0.2187	R1 = 0.0494, wR2 = 0.1264

9.8 ESTRUCTURAS DE RAYOS X.

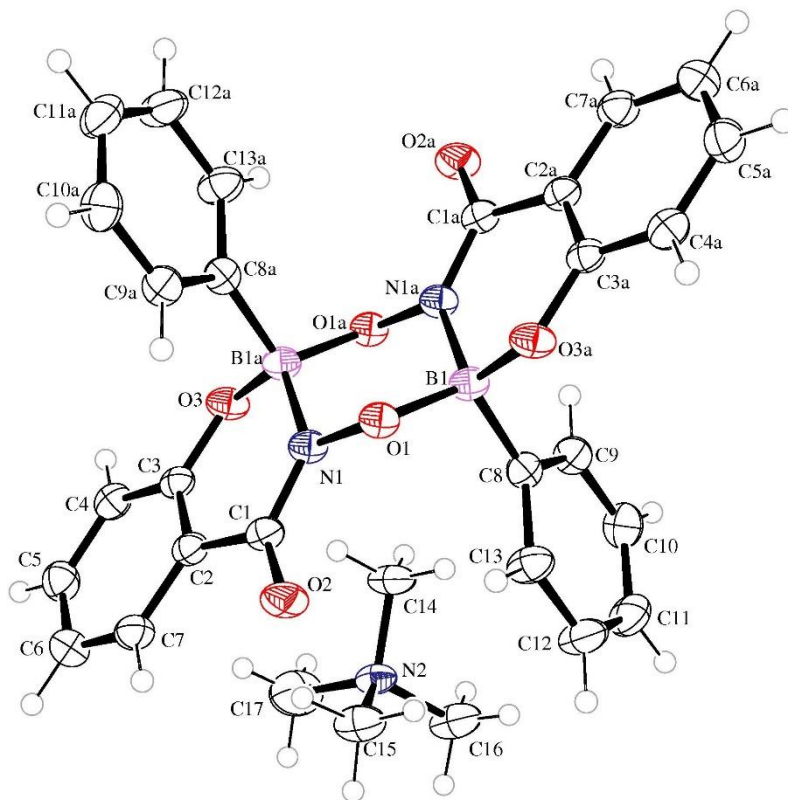


Figura 9.45: Estructura ORTEP del ester boronato derivado de SHA y AFB, elipsoides con 50% probabilidad.

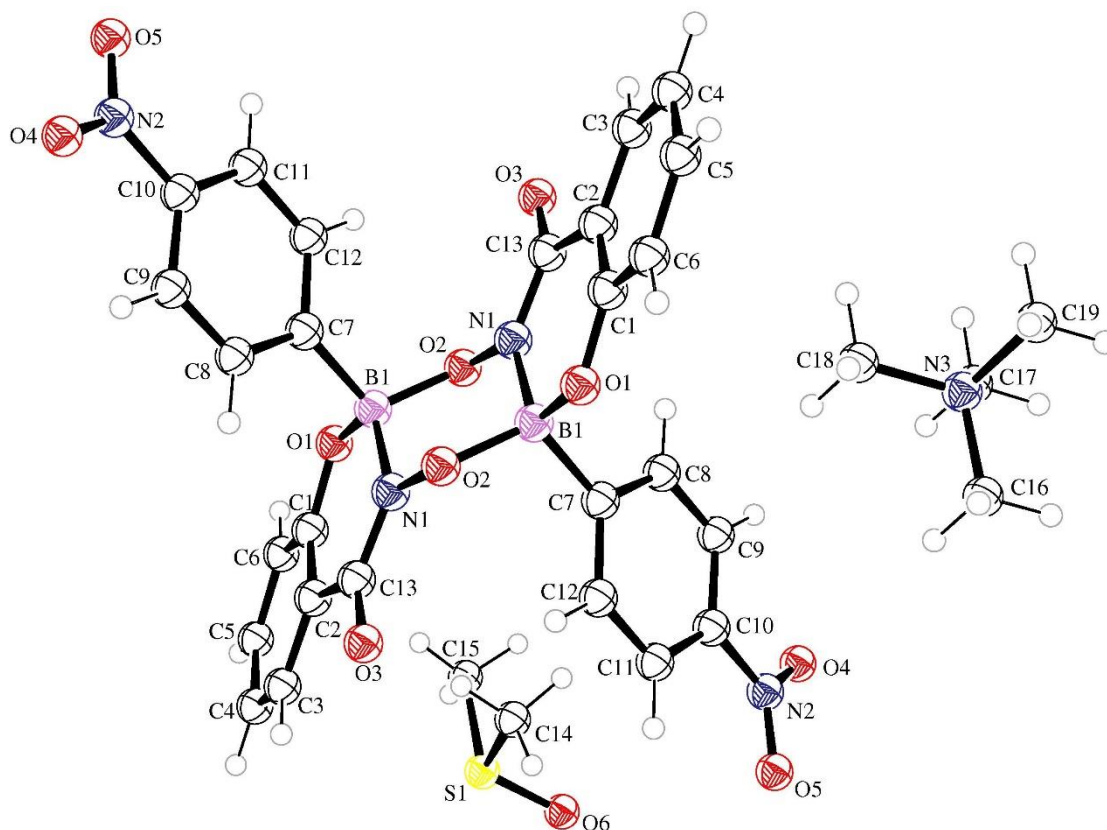


Figura 9.46: Estructura ORTEP del ester boronato derivado de SHA y A4NFB, elipsoides con 50% probabilidad.

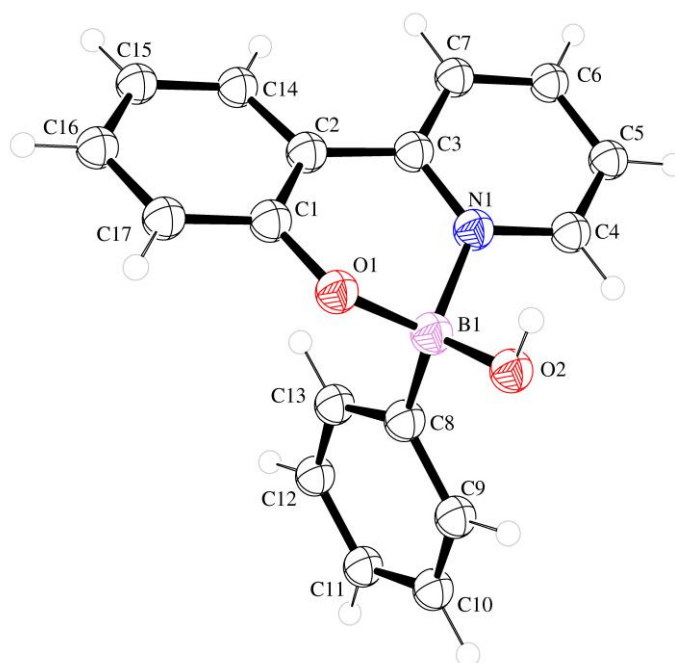


Figura 9.47: Estructura ORTEP del ester boronato derivado de PyPh y AFB, elipsoides con 50% probabilidad.

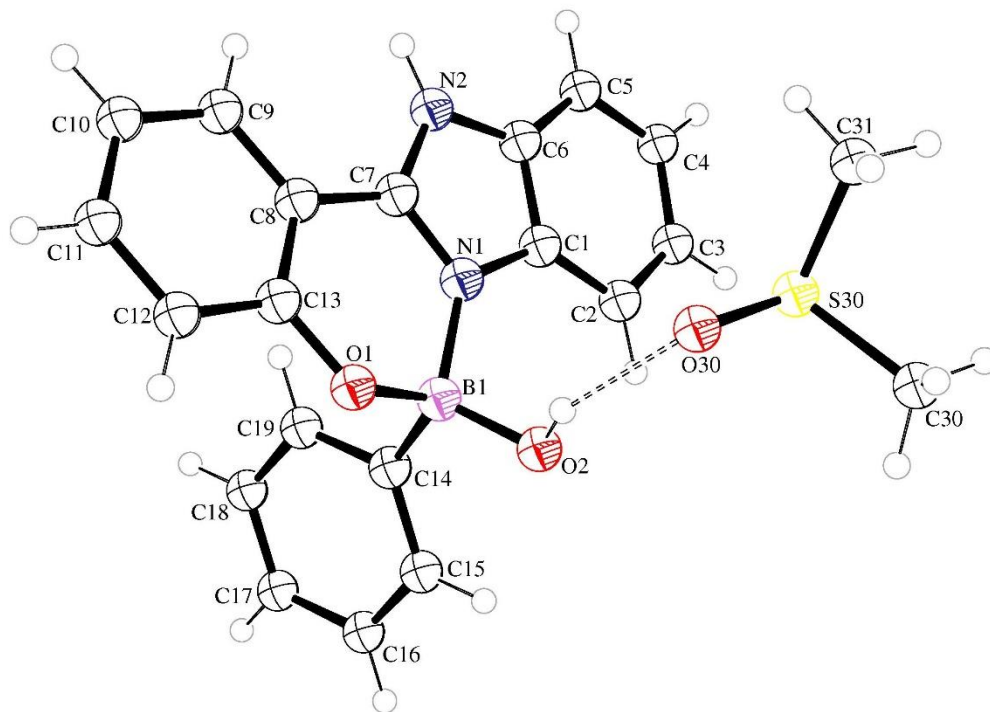


Figura 9.48: Estructura ORTEP del ester boronato derivado de HFB y AFB, elipsoides con 50% probabilidad.

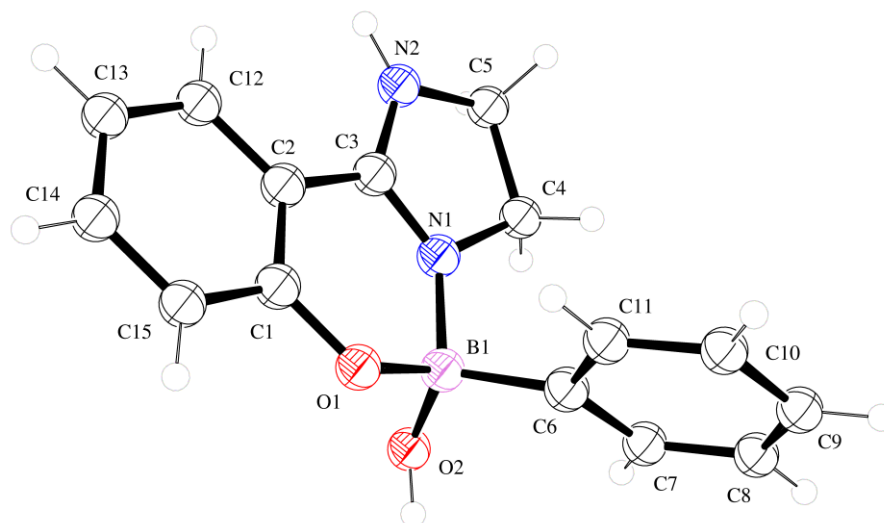


Figura 9.49: Estructura ORTEP del ester boronato derivado de DHIF y AFB, elipsoides con 50% probabilidad.

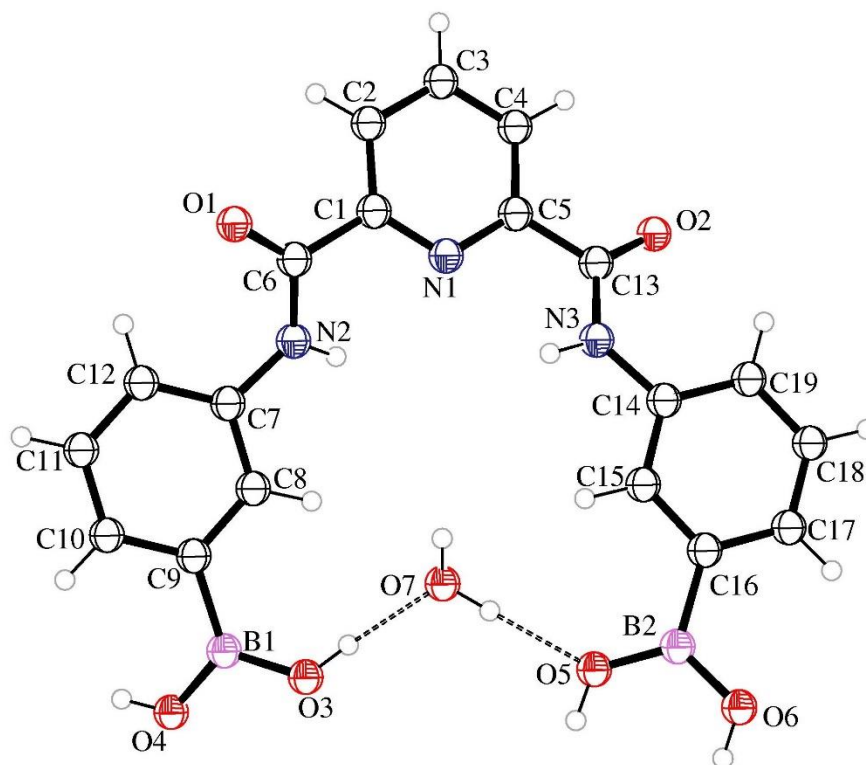


Figura 9.50: Estructura ORTEP del receptor **R1**, elipsoides con 50% probabilidad.

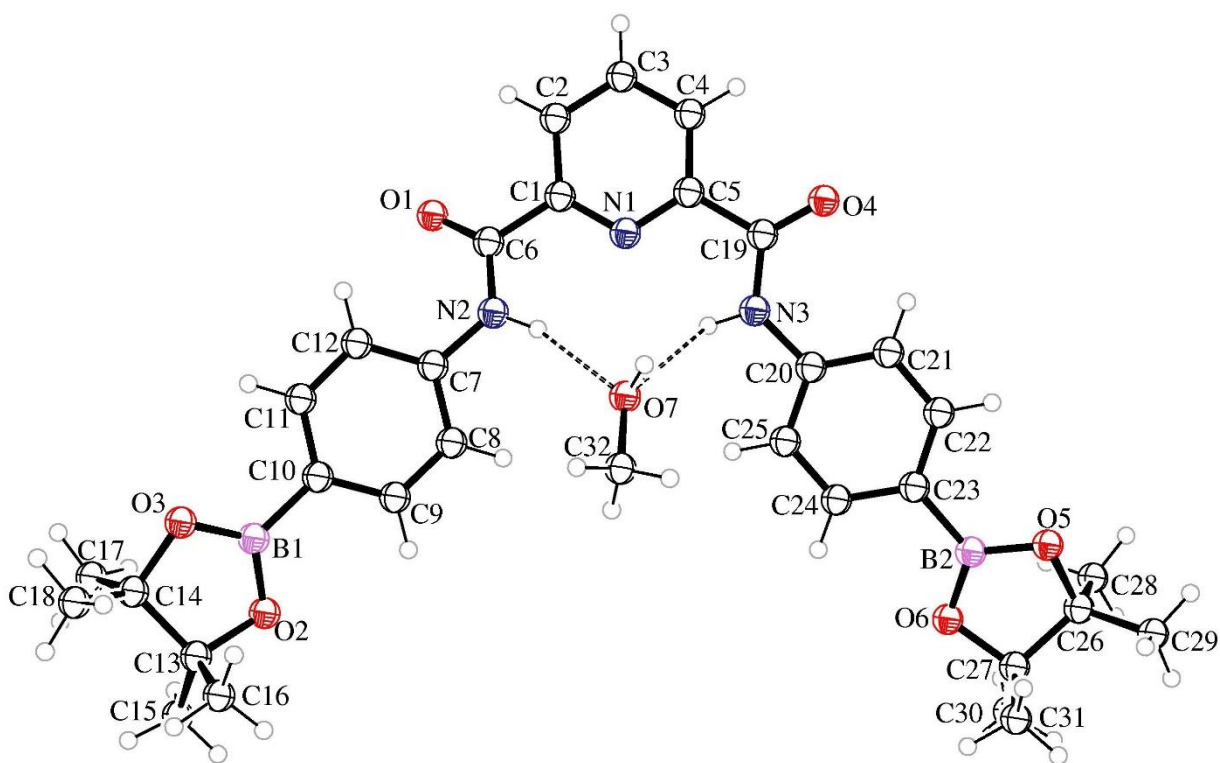


Figura 9.51: Estructura ORTEP del ester pinacol del receptor **R2**, elipsoides con 50% probabilidad.

9.9 TITULACIONES SEGUIDAS POR RMN-¹H DE ÁCIDO FENILBORÓNICO CON DIFERENTES ANIONES.

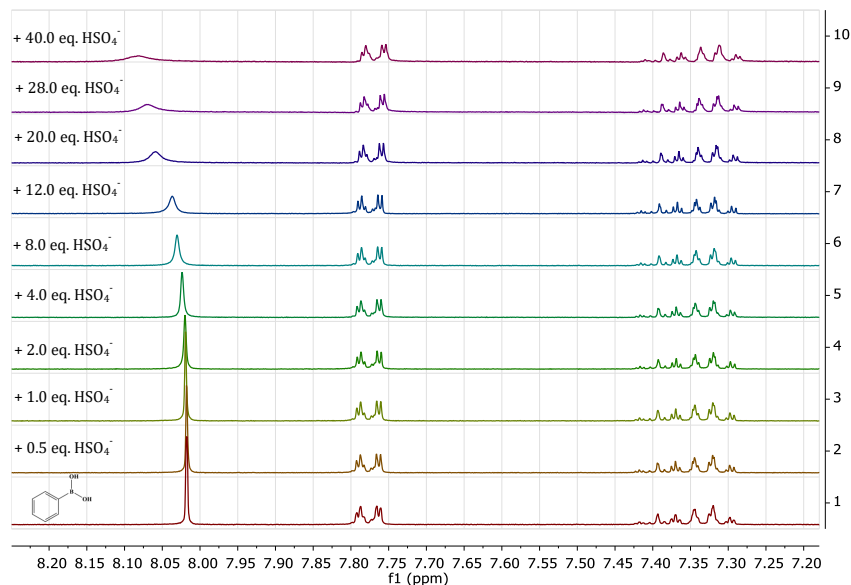


Figura 9.52: Titulación seguida por RMN-¹H (300 MHz), en DMSO-d₆ de 5 mM de ácido fenilborónico con (Bu₄N)HSO₄. Concentraciones de HSO₄⁻: (1)-0, (2)-2.5 mM, (3)-5 mM, (4)-10 mM, (5)-20 mM, (6)-40 mM, (7)-60 mM, (8)-100 mM, (9)-140 mM, (10)-200 mM.

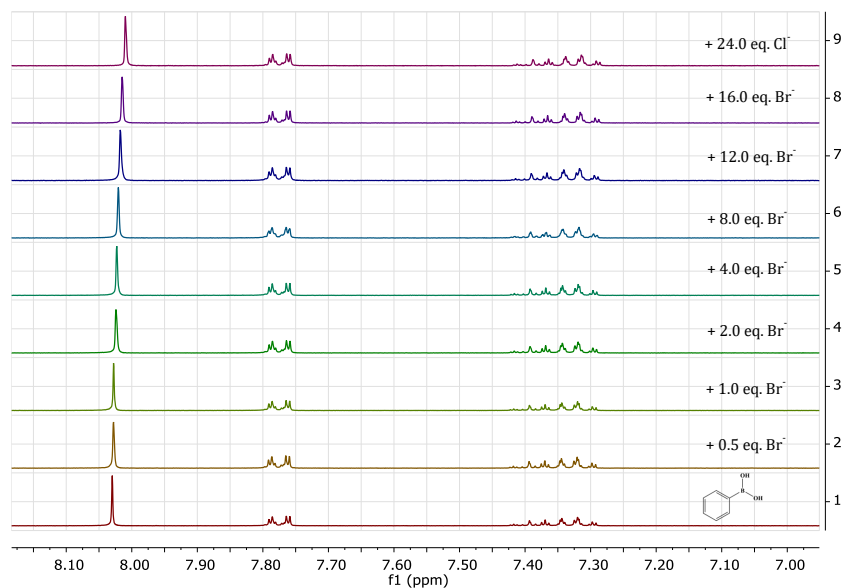


Figura 9.53: Titulación seguida por RMN-¹H (300 MHz), en DMSO-d₆ de 5 mM de ácido fenilborónico con Bu₄NBr. Concentraciones de Br⁻: (1)-0, (2)-2.5 mM, (3)-5 mM, (4)-10 mM, (5)-20 mM, (6)-40 mM, (7)-60 mM, (8)-80 mM, (9)-120 mM.

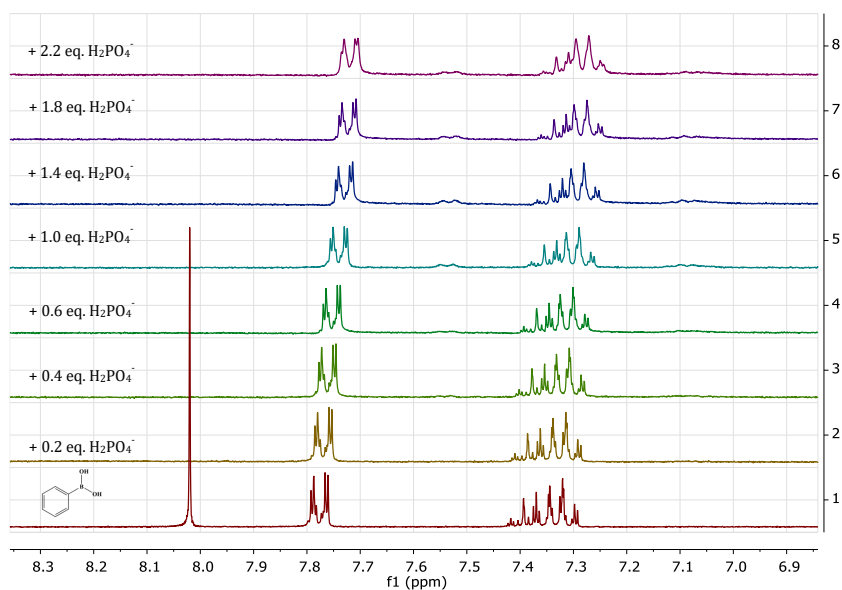


Figura 9.54: Titulación seguida por RMN- ^1H (300 MHz), en DMSO-d_6 de 5 mM de ácido fenilborónico con $(\text{Bu}_4\text{NH}_2)\text{PO}_4$. Concentraciones de H_2PO_4^- : (1)-0, (2)-1 mM, (3)-2 mM, (4)-3 mM, (5)-5 mM, (6)-7 mM, (7)-9 mM, (8)-11 mM.

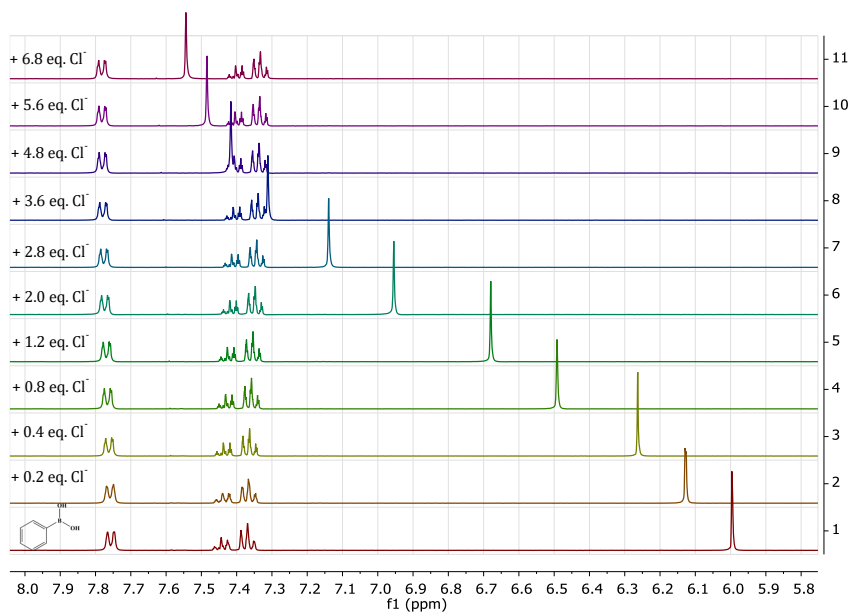


Figura 9.55: Titulación seguida por RMN- ^1H (400 MHz), en MeCN-d_3 de 2.5 mM de ácido fenilborónico con Bu_4NCl . Concentraciones de Cl^- : (1)-0, (2)-0.5 mM, (3)-1 mM, (4)-2 mM, (5)-3 mM, (6)-5 mM, (7)-7 mM, (8)-9 mM, (9)-12 mM, (10)-14 mM, (11)-17 mM.

9.10 ESPECTROS DE RMN-¹¹B DE ÁCIDO FENILBORÓNICO Y 3-FENILBORÓNICO EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE ANIONES.

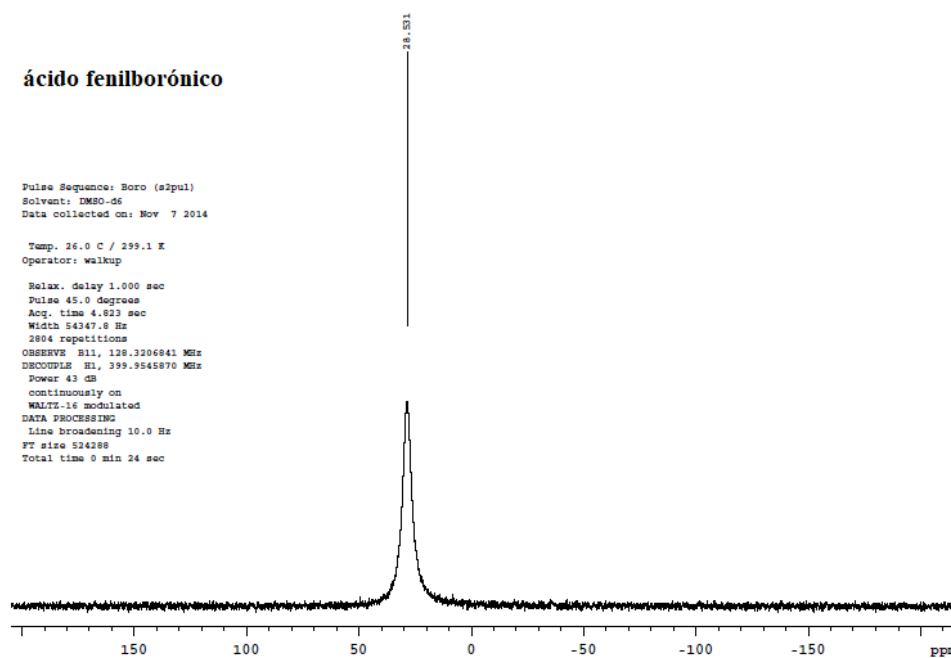


Figura 9.56: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido fenilborónico 10 mM.

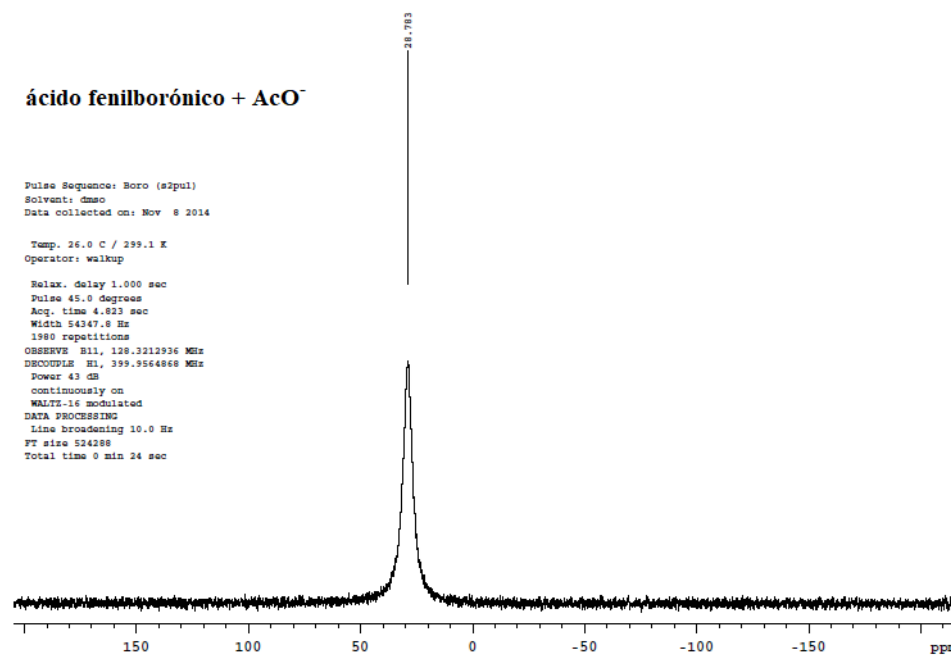


Figura 9.57: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido fenilborónico 10 mM en presencia de Bu₄NacO 20 mM.

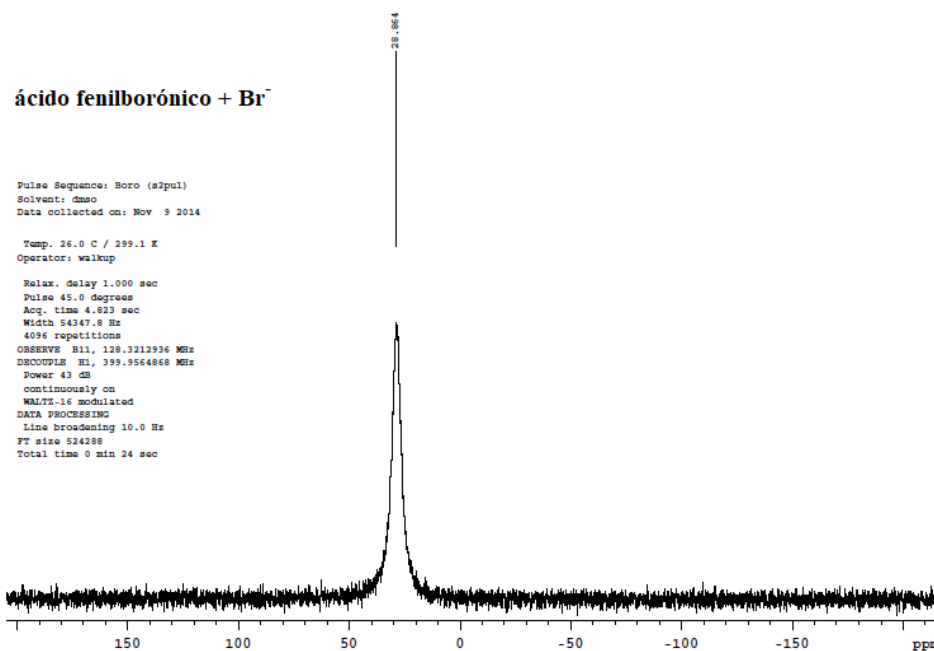


Figura 9.58: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido fenilborónico 10 mM en presencia de Bu₄NBr 200 mM.

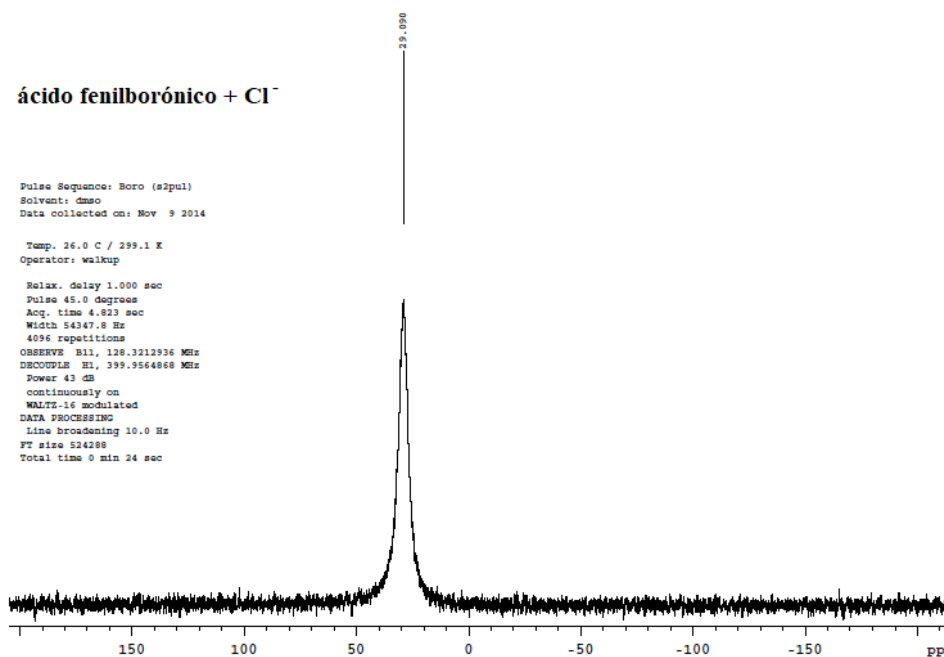


Figura 9.59: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido fenilborónico 10 mM en presencia de Bu₄NCl 200 mM.

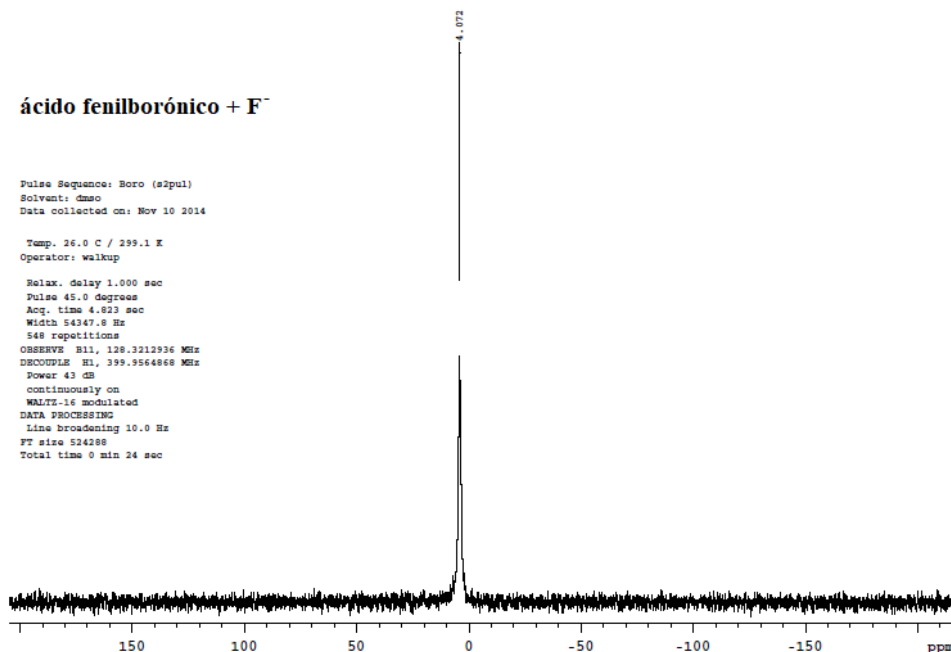


Figura 9.60: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido fenilborónico 10 mM en presencia de PhCH₂NMe₃F 20 mM.

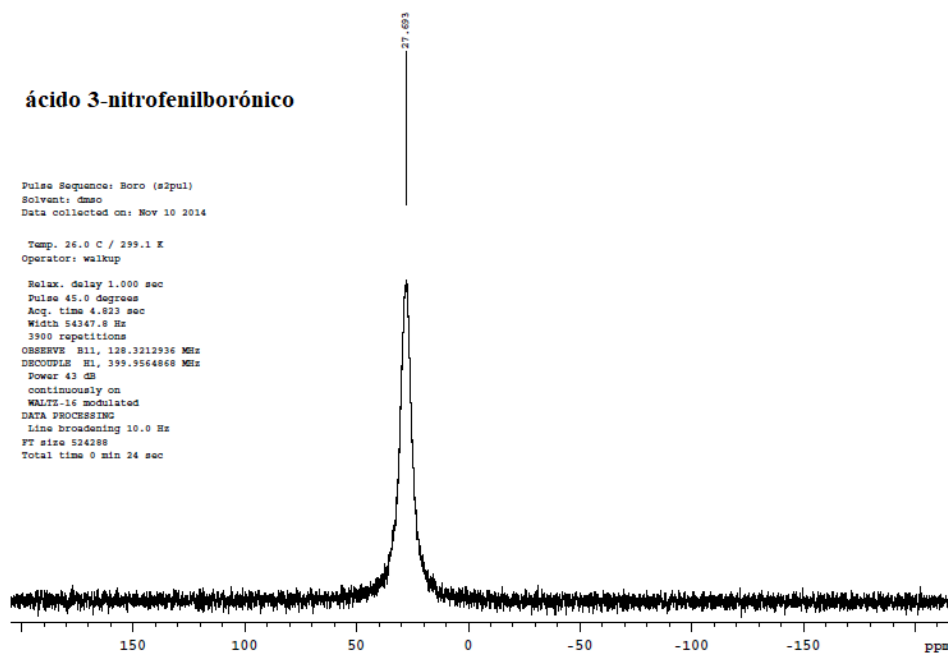


Figura 9.61: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-d₆) de ácido 3-nitrofenilborónico 10 mM.

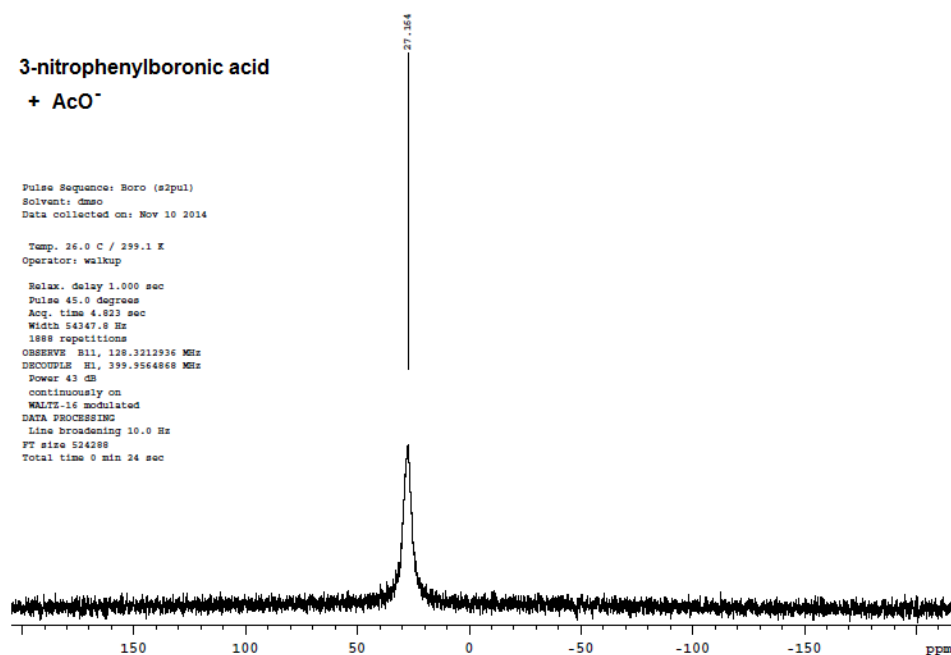


Figura 9.62: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-*d*₆) de ácido 3-nitrofenilborónico 10 Mm en presencia de Bu₄NACo 20 mM.

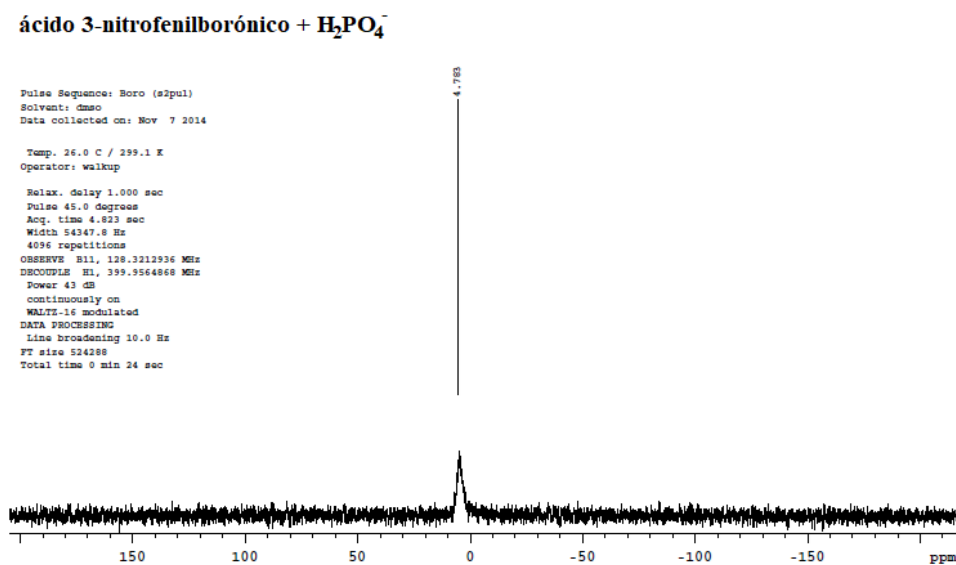


Figura 9.63: Espectro de RMN-¹¹B (128 MHz, DMSO-*d*₆) de ácido 3-nitrofenilborónico 10 Mm en presencia de Bu₄NH₂PO₄ 100 mM.

10. REFERENCIAS

- [1] (a) R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James, J. S. Fossey, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 1124–1150; (b) S. D. Bull, M. G. Davidson, J. M. H. Van Den Elsen, J. S. Fossey, A. T. A. Jenkins, Y. -B. Jiang, Y. Kubo, F. Marken, K. Sakurai, J. Zhao, T. D. James, *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 312–326.
- [2] (a) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *Chem. Commun.* **2004**, 1158–1159; (b) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2192–2200; (c) H. Danjo, N. Mitani, Y. Muraki, M. Kawahata, I. Azumaya, K. Yamaguchi, T. Miyazawa, *Chem.–Asian J.* **2012**, 7, 1529–1532; (c) M. K. Smith, N. E. Powers-Riggs, B. H. Northrop, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 6167–6169.
- [3] (a) M. Hutin, G. Bernardinelli, Jonathan R. Nitschke, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 4585–4593; (b) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 1848–1852.
- [4] (a) K. Kataoka, T. D. James, Y. Kubo, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 15126–15127; (b) N. Nishimura, K. Kobayashi, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 6255–6258; (c) K. Kataoka, S. Okuyama, T. Minami, T. D. James, Y. Kubo, *Chem. Commun.* **2009**, 1682–1684 (d) N. Nishimura, K. Yoza, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 777–790.
- [5] A. P. Cote, A. I. Benin, N. W. Ockwig, M. O’Keeffe, A. J. Matzger, O. M. Yaghi, *Science*, **2005**, 310, 1166–1170; (b) E. Sheepwash, V. Krampl, R. Scopelliti, O. Sereda, A. Neels, K. Severin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 3034–3037.
- [6] (a) M. Mikami, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1995**, 603–604; (b) B. M. Rambo and J. J. Lavigne, *Chem. Mater.* **2007**, 19, 3732–3739.
- [7] J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 769–774.
- [8] (a) G. Pasparakis, Vamvakaki, N. Krasnogorc, C. Alexander, *Soft Matter*, **2009**, 5, 3839–3841; (b) J. N. Cambre, B. S. Sumerlin, *Polymer*, **2011**, 52, 4631–4643; (c) Y. Li, W. Xiao, K. Xiao, L. Berti, J. Luo, H. P. Tseng, G. Fung, K. S. Lam, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 2864–2868; (d) A. Harada, *ACS Macro Lett.* **2014**, 3, 337–340.
- [9] D. G. Hall, en *Boronic Acids: Preparation and Application in Organic Synthesis and Medicine*, D. G. Hall (Ed.), Wiley-VCH: Weinheim, **2005**, pp 1–99.
- [10] (a) G. E. K. Branch, D. L. Yabroff, B. J. Bettman, *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, 56, 937–941; (b) S. Soundararajan, M. Badawi, et. al., *Anal. Biochem.* **1989**, 178, 125–134.
- [11] M. J. S. Dewar, en *Progress in Boron Chemistry*, H. Steinberg, A. L. McCloskey (Eds), Pergamon, New York, **1964**, Volume 1, pp 235–263.

-
- [12] (a) M. F. Lappert, *Chem. Rev.*, **1956**, *56*, 959–1064; (b) M. I. Wolfrom, J. Solms, *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 815–816.
- [13] H. G. Kuivila, A. H. Keough, E. J. Soboczenski, *J. Org. Chem.* **1954**, *8*, 780–783.
- [14] J. M. Sugihara, C. M. Bowman, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2443–2446.
- [15] (a) G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 5291–5300. (b) J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter, B. Wang, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11205–11209.
- [16] W. Chen, Y. Cheng, B. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5293–5295.
- [17] J. Ren, Y. Zhang, J. Zhang, H. Gao, G. Liu, R. Ma, Y. An, D. Kong, L. Shi, *Biomacromol.* **2013**, *14*, 3434–3443.
- [18] (a) Richard Robson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 806–810; (b) Richard Robson, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 9797–9803.
- [19] M. Hutin, G. Bernardinelli, Jonathan R. Nitschke, *Chem.–Eur. J.* **2008**, *14*, 4585–4593.
- [20] (a) N. Iwasawa, H. Takahagi, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7754–7755; (b) H. Takahagi, N. Iwasawa, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13680–13688; (c) S. Ito, K. Ono, N. Iwasawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13962–13965.
- [21] M. K. Smith, N. E. Powers-Riggs, B. H. Northrop, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 6167–6169.
- [22] (a) R. L. Letsinger, S. B. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 5411–5313; (b) M. J. S. Dewar, V. P. Kubba, R. Petit, *J. Chem. Soc.* **1958**, 3076–3079.
- [23] M. Pailer, W. Fenzl, *Monatsh. Chem.* **1961**, *92*, 1294–1299.
- [24] M. L. Stolowitz, C. Ahlem, K. A. Hughes, R. J. Kaiser, E. A. Kesicki, G. Li, K. P. Lund, S. M. Torkelson, J. P. Wiley, *Bioconj. Chem.* **2001**, *12*, 229–239.
- [25] E. J. Corey, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1650–1667.
- [26] (a) E. J. Corey, T.-P. Lonh, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8966–8967; (b) E. J. Corey, C. L. Cywin, T. D. Roper, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6907–6010. (c) K. Ishihara, S. Kondo, H. Yamamoto, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 9125–9128. (d) M. Kinugasa, T. Harada, A. Oku, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9067–9068.
- [27] S. Franzen, W. Ni, B. Wang, *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 12942–12948.
- [28] (a) H. Höpfl, N. Farfán, D. Castillo, R. Santillan, R. Contreras, F. J. Martínez, M. Galván, R. Álvarez, L. Fernández, S. Halut, J. C. Daran, *J. Organomet. Chem.* **1997**, *544*, 175–188; (b) H. Höpfl, M. Galván, N. Farfán, R. Santillan, *J. Mol. Struct-Theochem*, **1998**, *427*, 1–13; (c) H. Höpfl, N. Farfán, D. Castillo, R. Santillan, A. Gutiérrez, J. C. Daran, *J. Organomet. Chem.* **1998**, *553*, 221–239.

-
- [29] L. Zhu, S. H. Shabbir, M. Gray, V. M. Lynch, S. Sorey, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1222–1232
- [30] (a) S. Franzen, W. Ni, B. Wang, *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 12942–12948; (b) W. J. Ni, G. Kaur, G. Springsteen, B. H. Wang, S. Franzen, *Bioorg. Chem.* **2004**, *32*, 571–581; (c) L. I. Bosch, T. M. Fyles and T. D. James, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11175–11190; (d) J. D. Larkin, J. S. Fossey, T. D. James, B. R. Brooks, C. W. Bock, *J. Phys. Chem. A*, **2010**, *114*, 12531–12539.
- [31] B. K. Shull, D. E. Spielvogel, R. Gopaldaswamy, S. Sankar, P. D. Boyle, G. Head, K. Devito, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 557–567.
- [32] (a) P. Rodríguez-Cuamatzi, O. I. Arillo-Flores, M. I. Bernal-Uruchurtu, H. Höpfl, *Cryst. Growth Des.* **2005**, *5*, 167–175; (b) C. B. Aakeröy, J. Desper, B. Levin, *Cryst. Eng. Comm.*, **2005**, *7*, 102–107; (c) P. Rogowska, M. K. Cyrański, A. Sporyński, A. Ciesielski, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1389–1393; (d) A. Lemmerer, *J Chem Crystallogr.* **2012**, *42*, 498–503; (e) S. Seetha Lekshmi, S. Varughese, L. Giri, V. R. Pedireddi, *Cryst. Growth Des.* **2014**, *14*, 4143–4154.
- [33] (a) R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Anal. Biochem.* **2004**, *327*, 82–90. (b) R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Anal. Chim. Acta.* **2004**, *522*, 9–17; (c) R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Dyes and Pigments*, **2005**, *64*, 49–55.
- [34] (a) N. DiCesare, J. R. Lakowicz, *Anal. Biochem.* **2002**, *301*, 111–116; (b) R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Sensor Actuat. B Chem.* **2005**, *104*, 103–110; (c) K. M. K. Swamy, Y. J. Lee, H. N. Lee, J. Chun, Y. Kim, S. J. Kim, J. Yoon, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8626–8628; (d) A. Oehlke, A. A. Auer, I. Jahre, B. Walfort, T. Ruffer, P. Zoufala, H. Lang, S. Spange, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4328–4339.
- [35] A. R. Cooper, N. Spencer, T. D. James, *Chem. Commun.* **1998**, 1365–1366.
- [36] C. J. Ward, P. Patel, T. D. James, *Chem. Lett.* **2001**, *30*, 406–407.
- [37] Z. Xu, S. K. Kim, S. J. Han, C. Lee, G. Kociok-Kohn, T. D. James, J. Yoon, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3058–3065.
- [38] M. Martínez, *Efecto de sustituyentes y de la acidez del medio sobre la estabilidad de ésteres de ácidos arilborónicos en medio acuoso*, Tesis (Maestría en Ciencias), UNAM, México, 2014.
- [39] H.-J. Schneider, A. K. Yatsimirsky, *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; John Wiley and Sons: Chichester, UK, **2000**; p 144.
- [40] (a) A. D. St-Jacques, I. W. Wyman, D. H. Macartney, *Chem. Commun.* **2008**, 4936–4938; (b) I. W. Wyman, D. H. Macartney, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 253–260.

-
- [41] (a) C. Bonal, Y. Israëli, J.-P. Morel, N. Morel-Desrosiers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, 1075–1078; (b) D.-S. Guo, K. Wang, Y. Liu, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2008**, *62*, 1–2; (c) G. Arena, S. Gentile, F. G. Gulino, D. Sciotto, C. Sgarlata, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7091–7094.
- [42] (a) F. Hof, L. Trembleau, E. C. Ullrich, J. Rebek Jr, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3150–3153; (b) P. Ballester, M. A. Sarmentero, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3477–3480; (c) H. -J. Schneider, D. Güttes, U. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6449–6454.
- [43] I. S. Ufimtsev, T. J. Martinez, *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 2619–2628.
- [44] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865–3868.
- [45] R. Krishnan, J. S. Binkley, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **1980**, *72*, 650–654.
- [46] K. A. Connors, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1325–1357.
- [47] E. Masson, X. Ling, R. Joseph, L. Kyeremeh-Mensah, X. Lu, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 1213–1247.
- [48] N. H. Martin, R. M. Floyd, H. L. Woodcock, S. Huffman, C.-K. Lee, *J. Mol. Graphics Modell.* **2008**, *26*, 1125–1135.
- [49] (a) C. Hansch, A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, Wiley, New York, 1979; (b) A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525–616.
- [50] A. Hassan, T. C. Dinadayalane, S. J. Grabowski, J. Leszczynski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 20839–20856.
- [51] Md M. Islam, A. Basu, M. Hossain, G. Sureshkumar, S. Hotha, G. S. Kumar, *DNA Cell Biol.* **2011**, *30*, 123–133.
- [52] M. Megyesi, L. Biczók, I. Jablonkai, *J. Phys. Chem. C*, **2008**, *112*, 3410–3416.
- [53] J.-S. Yu, F.-D. Wei, W. Gao, C.-C. Zhao, *Spectrochim. Acta, Part A*, **2002**, *58*, 249–256.
- [54] M. Megyesi, L. Biczok, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *424*, 71–76.
- [55] (a) H.-J. Schneider, P. Agrawal, A. K. Yatsimirsky, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6777–6800; (b) A. K. Yatsimirsky, *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 369–380.
- [56] S. B. Y. Shin, R. D. Almeida, G. Gerona-Navarro, C. Bracken, S. R. Jaffrey, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 1171–1176.
- [57] (a) J. I. Jay, K. Langheinrich, M. C. Hanson, A. Mahalingama, P. F. Kiser, *Soft Matter*, **2011**, *7*, 5826–5835; (b) M. C. Roberts, A. Mahalingam, M. C. Hanson, P. F. Kiser, *Macromolecules*, **2008**, *41*, 8832–8840; (c) C. Seidler, D. Y. W. Ng, Y. Wu, T. Weil, *Supramol. Chem.* **2016**, *28*, 742–746; (d) C. Seidler, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Tetrahedron*, **2017**, *73*, 4979–4987.

-
- [58] E. C. O'Brien, E. Farkas, M. J. Gil, D. Fitzgerald, A. Castineras, K. B. Nolan, J. *Inorg. Biochem.* **2000**, *79*, 47–51.
- [59] M. A. Martínez-Aguirre, R. Villamil-Ramos, J. A. Guerrero-Alvarez, A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4674–4684.
- [60] E.D. Bergmann, Z. Tashma, J. Katzhendler, *Israel J. Chem.* **1975**, *13*(3), 229.
- [61] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165–195.
- [62](a) A. Bagno, C. Comuzzi, G. Scorrano, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 916–924; (b) B. García, F. Secco, S. Ibeas, A. Muñoz, F. J. Hoyuelos, J. M. Leal, M. L. Senent, M. Venturini, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7832–7840.
- [63] A. E. Fazary, *J. Chem. Eng. Data*, **2005**, *50*, 888–895.
- [64] (a) S. Rettig, J. Rotter, W. Kliegel, D. Nanninga, *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 1676–1680; (b) W. Kliegel, U. Schumacher, M. Tajerbashi, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1991**, *69*, 545–549.
- [65] A. R. Fields, B. M. Daye, R. Christian Jr., *Talanta*, **1966**, *13*, 929–937.
- [66] A. T. de Figueiredo, V. M. Deflon, K. E. Bessler, C. Maichle-Mossmer, U. Abram, *Polyhedron*, **2002**, *21*, 2351–2356.
- [67] (a) W. Kliegel, U. Lauterbach, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1457–1462. (b) W. Kliegel, M. Tajerbashi, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 2621–2630.
- [68] S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 206–210.
- [69] H. Höpfl, *J. Organometal. Chem.* **1999**, *581*, 129–149.
- [70] P. Metola, B. M. Chapin, E. V. Anslyn, in *Boron: Sensing, Synthesis and Supramolecular Self-Assembly*, (Eds: M. Li, J. S. Fossey, T. D. James), Royal Society of Chemistry, Cambridge **2016**, 44.
- [71](a) P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta*, **1996**, *43*, 1739–1753; (b) L. Alderlghi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 311–318.
- [72] (a) M. R. Aronoff, B. VanVeller, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5382–5385. (b) Y. Hattori, M. Ishimura, Y. Ohta, H. Takenaka, T. Watanabe, H. Tanaka, K. Ono, M. Kirihata, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 6927–6930.
- [73] (a) Z. Zhang, H. Bi, Y. Zhang, D. Yao, H. Gao, Y. Fan, H. Zhang, Y. Yang, Y. Wang, Z. Chen, D. Ma, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 7230–7236; (b) F. A. S. Chipem, G. Krishnamoorthy, *J. Phys. Chem. B*, **2013**, *117*, 14079–14088; (c) Z. Zhang, H. Zhang, C. Jiao, K. Ye, H. Zhang, J. Zhang, Y. Wang, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 2652–2659.

-
- [74] W. D. Johnson, H. Freiser, *Analyt. Chim. Acta*, **1954**, *11*, 301–308.
- [75] (a) K. Benelhadj, J. Massue,; P. Retailleau, G. Ulrich, R. Ziessel, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2918–2921. (b) A. Esparza-Ruiz, A. Peña-Hueso, H. Nöth, A. Flores-Parra, R. Contreras, *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*, 3814–3822. (c) Z. Zhang, H. Bi, Y. Zhang, D. Yao, H. Gao, Y. Fan, H. Zhang, Y. Wang, Y. Wang, Z. Chen, D. Ma, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 7230–7236. (d) N. G. Kim, C. H. Shin, M. H. Lee, Y. Do, *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*, 1922–1928.
- [76] (a) E. Galbraith, T. D. James, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3831–; (b) Z. Guo, I. Shin, J. Yoon, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5956–5967; (c) C. R. Wade, A. E. J. Broomsgrove, S. Aldridge, F. P. Gabbaï, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3958–3984. (d) J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- [77] (a) J. L. Sessler, P. A. Gale, W. S. Cho, *Anion Receptor Chemistry*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2006. (b) V. Amendola, M. Bonizzoni, D. Esteban-Gómez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, F. Sancenón, A. Taglietti, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 1451–1470.
- [78] E. Galbraith, T. M. Fyles, F. Marken, M. G. Davidson, T. D. James, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 6236–6244.
- [79] M. P. Hughes, B. D. Smith, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4492–4499; (b) P. Bühlmann, S. Amemiya, S. Nishizawa, K. P. Xiao, Y. Umezawa, *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1998**, *32*, 151–163.
- [80] R.G. Bryant, *J. Chem. Educ.* **1983**, *60*, 933–935.
- [81] H. Nöth, B. Wrackmeyer, *NMR Basic Principles and Progress: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Boron Compounds*, Vol. 14, Springer Verlag: Berlin, 1978.
- [82](a) M. Van Duin, J. A. Peters, A. P. G. Kieboom, H. Van Bekkum, *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 2901–2911; (b) R. D. Pizer, P. J. Ricatto, C. A. Tihal, *Polyhedron*, **1993**, *12*, 2137–2142;(c) R. Pizer, P. J. Ricatto, *J. Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 2402–2406; (d) R. Pizer, C. Tihal, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3243–3247.
- [83] (a) A. Yuchi, J. Sakurai, A. Tatebe, H. Hattori, H. Wada, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, *387*, 189–195; (b) R. Ting, C. W. Harwig, J. Lo, Y. Li, M. J. Adam, T. J. Ruth, D. M. Perrin, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662–4670.
- [84] R. A. Oliveira, R. O. Silva, G. A. Molander, P. H. Menezes, *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 873–878.
- [85] V. Amendola, D. Esteban-Gómez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 343–353.
- [86] C. Perez-Casas, H. Höpfl, A. K. Yatsimirsky, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, *68*, 387–398.

-
- [87] (a) M. T. Reetz, J. Huff, J. Rudolph, K. Toellner, A. Deege, R. Goddard, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11588–11589.
- [88] A. D. Headley, S. D. Starnes, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9309–9317.
- [89] (a) K. Kavallieratos, C. M. Bertao, R. H. Crabtree, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1675–1683; (b) P. Kumar, R. Gupta, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 18769–18783; (c) C. Caltagirone, C. Bazzicalupi, A. Bencini, F. Isaia, A. Garau, V. Lippolis, *Supramol. Chem.* **2012**, *24*, 95–100; (d) M. J. Chmielewski, J. Jurczak, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6080–6094; (e) S. O. Kang, R. A. Begum, K. Bowman-James, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7882–7894. (f) M. J. Chmielewski, T. Zielinski, J. Jurczak, *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79*, 1087–1096.
- [90] (a) T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai, *Boronic Acids in Saccharide Recognition*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2006**; (b) X. Yang, Y. Cheng, S. Jin, B. Wang, in *Artificial Receptors for Chemical Sensors*, (Eds: V. M. Mirsky, A. K. Yatsimirsky), Wiley-VCH, Weinheim, **2011**, 169; (c) H. S. Mader, O. S. Wolfbeis, *Microchim. Acta*, **2008**, *162*, 1–34; (d) J. Yan, H. Fang, B. Wang, *Med. Res. Rev.* **2005**, *25*, 490–520; (e) R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James, J. S. Fossey, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1106–1123; (f) J. S. Hansen, J. B. Christensen, J. F. Petersen, T. Hoeg-Jensen, J. C. Norrild, *Sens. Actuators B*, **2012**, *161*, 45–79; (g) W. Wang, X. Gao, B. Wang, *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 1285–1317.
- [91] A. Dorazco-Gonzalez, H. Hopfl, F. Medrano, A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2259–2273.
- [92] E. Bosch, G. Fonrodona, C. Rafols, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, *349*, 367–376.
- [93] G. Springsteen, B. Wang, *Chem. Commun.* **2001**, 1608–1609.
- [94] Agilent CrysAlis PRO y CrysAlis RED. Agilent Technologies, Yarnton, England, **2013**.
- [95] R. C. Clark, J. S. Reid, *Acta Cryst.* **1995**, *A51*, 887–897.
- [96] (a) G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, *A71*, 3–8; (b) G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, *C71*, 3–8.

PAPER

Cite this: *RSC Adv.*, 2015, 5, 30075

Self-assembly and recognition properties of a tetraanionic macrocyclic boronate ester in aqueous medium†

Mayte A. Martínez-Aguirre, Jorge M. del Campo, Sigfrido Escalante-Tovar and Anatoly K. Yatsimirsky*

A tetraanionic [2 + 2] boronate ester macrocycle is self-assembled from a dicatchol 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindane-5,5',6,6'-tetraol and 1,4-benzenediboronic acid in the presence of 2 equivalents of NaOH in water containing 0–5% vol DMSO. No templating by potential guest molecules is required for the self-assembly with close to quantitative yield of the macrocycle. The macrocycle is stable and binds efficiently various cationic guests at pH 9. For alkali and R_4N^+ cations the association constants K_A are growing in the order $Cs^+ < Me \ll Et \ll n\text{-Pr}$ with $K_A = 180\text{ M}^{-1}$ for Cs^+ and $>10^5\text{ M}^{-1}$ for Pr_4N^+ . The inclusion of R_4N^+ cations is confirmed by 1D and 2D 1H NMR and is further characterized by quantum mechanical calculations. The macrocycle binds efficiently some biologically important cationic guests (choline, acetylcholine, 1-methylnicotinamide) and discriminates Arg-OMe over Lys-OMe. It forms a highly fluorescent complex with an isoquinoline alkaloid berberine, which can be used for optical sensing of tetraalkylammonium guests by a displacement or ternary complex formation mechanism. These results extend previously limited to solid state or non-aqueous media applications of self-assembled boronate ester hosts for molecular recognition to practically more important aqueous solutions.

Received 22nd February 2015

Accepted 24th March 2015

DOI: 10.1039/c5ra03291a

www.rsc.org/advances

Introduction

The reversible formation of boronate esters is widely employed in the preparation of self-assembled supramolecular structures¹ such as covalent organic frameworks,² or discrete macrocycles,^{3–5} cages and capsules.^{6–8} Due to the low stability of esters towards hydrolysis this area is limited to solid state or non-aqueous media, although on some occasions a macrocyclization, *e.g.* *via* intramolecular boronic acid ester formation between fragments of phenylboronic acid and galactose attached to the opposite ends of a peptoid⁹ or by crosslinking of bis(polyhydroxyalkyl)amines with boric acid,¹⁰ was proposed on the basis of some indirect evidence (see also ref. 11*e*). Formation of more stable tetrahedral hydroxocomplexes of boronate esters in basic aqueous solutions¹¹ allows preparation of pH and/or sugar responsive polymers,¹² gels¹³ and micelles,¹⁴ which rely on multiple weak covalent interactions, but no discrete supramolecular structures requiring stronger and more preorganized interactions, have been reported yet in water.

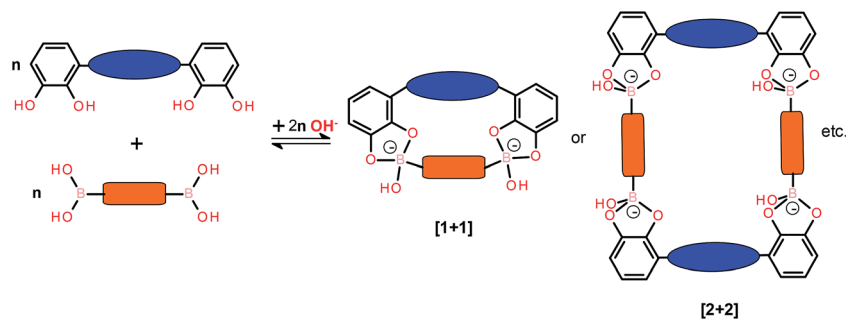
Formation of anionic tetrahedral boronate esters stabilized by acetate or methoxide anions bound to boron atom, which are structurally related to hydroxocomplexes, was employed in self-assembly of molecular capsules from tripodal boronic acid and catecholate units in mixed methanol–acetonitrile solvent.⁷ The important feature of these systems is that the self-assembly is driven by a guest (ammonium cation) encapsulation in the host cavity. Although the existence of empty capsules in solution was demonstrated spectroscopically, the equilibria of host–guest interactions were studied either by ability of guests to promote capsule formation from free components^{7b} or by competition with a tetramethylammonium guest already bound to the capsule.^{7a} No true association host–guest constants were determined and a limited set of tested simple guests demonstrated the order of affinities as $Et_4N^+ > Me_4N^+ > \text{alkali cation}$.

Several spiroborate macrocyclic structures involving a dicatchol 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindane-5,5',6,6'-tetraol¹⁵ or 2,2',3,3'-tetrahydroxy-1,1'-binaphthyls¹⁶ based on tetrahedral anionic borate ester links were assembled in the solid state. In all cases the anionic macrocycles were obtained with substituted ammonium counter-ions some of which were included in macrocycles as the guests, but no host–guest equilibria were reported.

An extension of boronate ester based self-assembling processes to aqueous solutions may have many useful applications in design of receptor molecules for recognition and sensing of practically important analytes. Taking into

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., Mexico. E-mail: anatoli@unam.mx

† Electronic supplementary information (ESI) available: ^{11}B , ^{13}C , 1H ROESY and NOESY NMR spectra of **3** and its complex with Pr_4N^+ , NMR titration data, potentiometric titrations of mixtures of **1** and **2** in 50% DMSO, energies and Cartesian coordinates for calculated structures. See DOI: 10.1039/c5ra03291a



Scheme 1 Possible self-assembling process between dicatechols and diboronic acids in water.

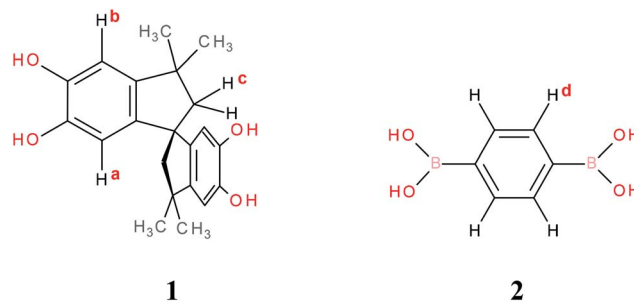
consideration known factors favoring formation of more stable boronate diol esters in aqueous solutions¹¹ one may consider as potentially efficient self-assembling components 1,2-aryldiols and arylboronic acids in sufficiently basic medium to allow formation of tetrahedral hydroxocomplexes of boronate esters. In particular with dicatechols and diboronic acids the expected self-assembling process can produce in a favorable case a set of $[n + n]$ macrocycles in accordance with Scheme 1.

The self-assembling of the type shown in Scheme 1 in aqueous medium is significantly more difficult process than macrocyclization *via* formation of neutral boronic acid esters in the absence of water. Esters of the latter type are too unstable toward hydrolysis and addition of hydroxide anions is the only way to increase their stability to acceptable level. However, creation of negative charges on boronate links should destabilize the macrocycle due to mutual repulsion of similar charges. Moreover, formation of a hydroxoboronate ester group on one end of a diboronic acid will transform a weakly electron acceptor $B(OH)_2$ group into a strongly electron donor $B(OR)_2(OH)^-$ group, which by inductive effect will increase pK_a of the second boronic acid group and thus reduce its affinity to a diol.^{11d} It is not surprising therefore that mentioned above molecular capsules assembled *via* anionic tetrahedral boronate esters need for their stability encapsulation of a cationic guest, which may compensate these unfavorable effects by neutralizing the negative charge of the macrocycle. In this paper we report a first example of self-assembling of a cyclophane-type tetraanionic macrocycle from a diboronic acid and a dicatechol in water sufficiently stable to measure the host-guest equilibrium constants by direct inclusion of a guest into an empty host macrocycle and explore its recognition properties with a wide range of guests including some important biological compounds like acetylcholine, derivatives of nicotinamide and amino acids.

Results and discussion

In preliminary experiments reactions of a series of commercially available dicatechols and diboronic acids were tested for their feasibility to the self-assembly in water by potentiometric and spectroscopic titrations. Initially the observed stability constants of complexes of some dicatechols with phenylboronic acid at optimum pH for each dicatechol were measured. For

such dicatechols as gallein, pyrogallol red and ellagic acid the optimum stability constants were less than $10^3 M^{-1}$ which means that the yield of the complex in a millimolar range of concentrations of both components was less than 50%. On the other hand stability constants for two natural dicatechols nordihydroguaiaretic acid and 3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindane-5,5',6,6'-tetraol (**1**) were above $10^4 M^{-1}$ for phenylboronic acid and these compounds were tested for possible macrocyclization with 1,4-benzenediboronic, 1,3-benzenediboronic and 4,4'-biphenyldiboronic acids. Analysis of 1H NMR spectra of equimolar mixtures of dicatechols and diacids in basic media revealed formation of individual compounds in reactions of nordihydroguaiaretic acid with 1,3-benzenediboronic acid and of **1** with 1,4-benzenediboronic and 4,4'-biphenyldiboronic acids while in other cases apparently polymeric materials were formed. Among these more successful cases only the system **1** – 1,4-benzenediboronic acid (**2**) was sufficiently stable towards oxidative degradation and was chosen for further study.



The following procedure was employed for the self-assembly. To a mixture of **2** and NaOH in molar ratio 1 : 2 (typically 5 and 10 mM respectively) in water one equivalent of **1** in DMSO (typically as 0.1 M solution) was added with stirring to the final content of DMSO less or equal to 5% vol All added **1** was dissolved completely and the 1H NMR spectrum of the mixture (Fig. 1) indicated nearly quantitative formation of a single product with all signals of aromatic protons of **1** and **2** shifted up-field and signals of aliphatic protons of **1** practically unchanged. A single chemical shift of protons of phenylene group of the diboronic acid indicates the equivalence of boronate groups and therefore a symmetrical structure of the product.

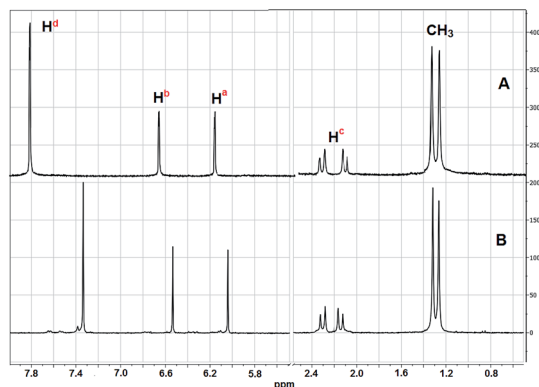


Fig. 1 ^1H MMR spectra of the equimolar mixture of **1** and **2** without added base (A) and in the presence of 2 equivalents of NaOH (B) in 5% vol DMSO- d_6 / D_2O .

To further characterize the self-assembled product its ^{11}B , ^{13}C and ^1H ROESY NMR spectra were recorded (Fig. 1S–3S, ESI†). The ^{11}B spectrum shows a single peak at 9.17 ppm indicating the presence of equivalent tetrahedral boronate atoms and ^{13}C spectrum confirms the symmetrical structure of the product. All these results agree with formation of a $[n + n]$ symmetrical product in line with Scheme 1. The ESI-MS spectrum obtained in the positive mode (Fig. 2) shows the presence of two intense peaks at m/z 1051.1 and 1033.1 with characteristic isotope distribution patterns for a species containing

4 boron atoms of the composition $\text{C}_{54}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{B}_4\text{Na}_5^+$ and $\text{C}_{54}\text{H}_{50}\text{O}_{11}\text{B}_4\text{Na}_5^+$ respectively. They correspond to cationized by Na^+ neutral $[2 + 2]$ boronate ester macrocycle (tetraanion plus four sodium counterions) and its dehydrated form respectively. Interestingly the ESI-MS spectrum obtained in the negative mode does not show the presence of corresponding boronate anionic species presumably because of their instability in the gas phase due to mutual repulsion of anionic boronate groups which must be compensated by the counter ion binding.

Additional confirmation of the stoichiometry of the reaction between **1** and **2** in the presence of NaOH was obtained by potentiometric titration in 50% vol aqueous DMSO (higher proportion of the organic co-solvent was used because of insufficient solubility for this technique of **1** in water containing lower amount of DMSO). The results shown in Fig. 4S (ESI†) demonstrate formation of the final product of stoichiometry $2 : 2 : 4$ ($1 : 2 : \text{OH}^-$) with intermediate formation of the products of stoichiometry $1 : 1 : 1$ and $2 : 2 : 3$ corresponding to acyclic boronate esters (see ESI† for details). On basis of all these observations we conclude that the reaction between **1** and **2** proceeds with nearly quantitative formation of a tetraanionic $[2 + 2]$ boronate ester macrocycle (**3**) in accordance with reaction (1).

The resulting solution has pH 9.0 and the compound is stable for at least one week when kept in solution at 6°C . A slow oxidation manifested in progressive coloring occurs during the storage. Decreasing in pH below *ca.* 8.5 and dilution of the compound below 1 mM induced the dissociation of the

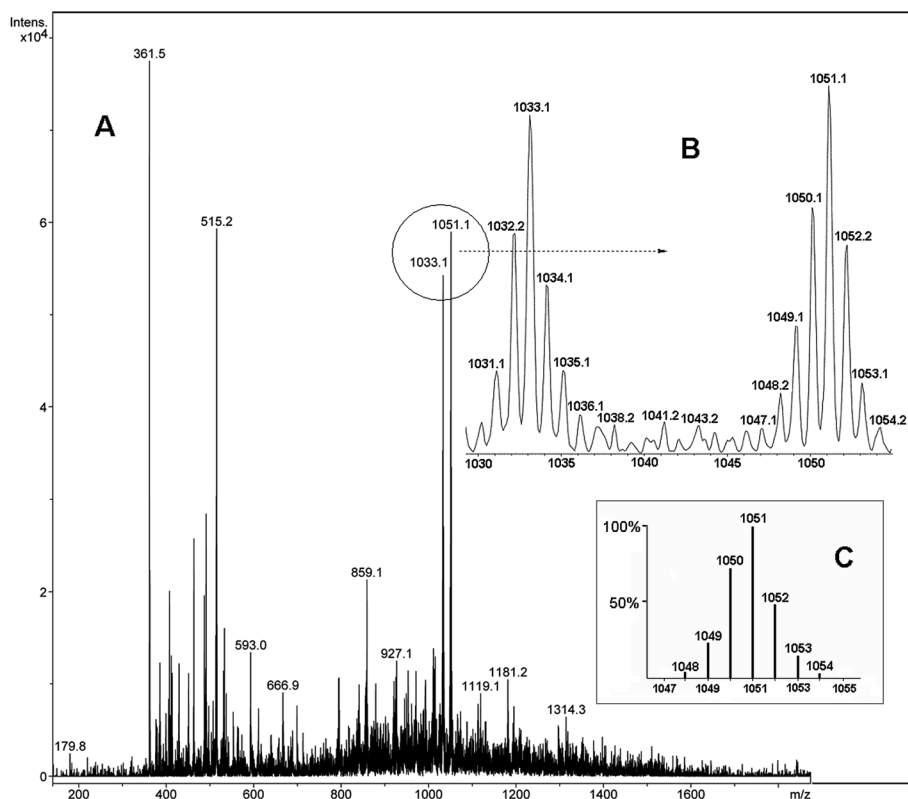
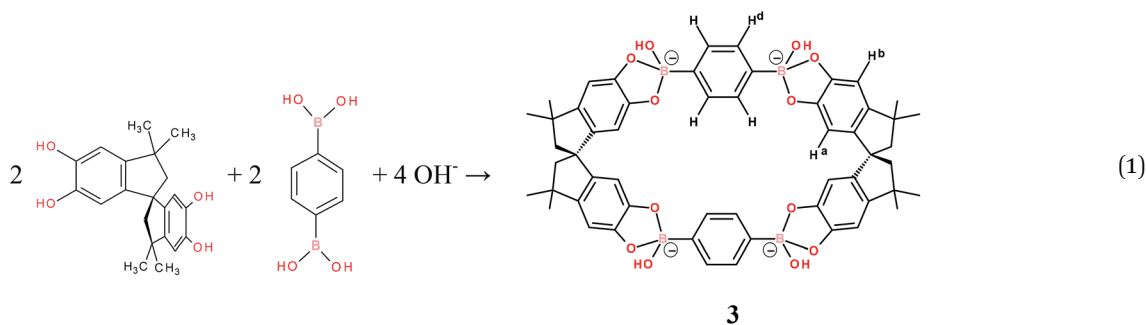


Fig. 2 (A) ESI-MS spectrum in the positive mode of the equimolar mixture of **1** and **2** in the presence of 2 equivalents of NaOH; (B) expanded area between 1030 and 1050 m/z ; (C) simulated isotope distribution pattern for $\text{C}_{54}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{B}_4\text{Na}_5^+$.



macrocyclic host, however. The macrocycle **3** can be prepared also in pure water by the following procedure. One equivalent of solid **1** is added to a mixture of one equivalent of **2** and two equivalents of NaOH in pure water and briefly heated at 60–70 °C with stirring under nitrogen until all **1** dissolves. A product with the same NMR spectrum as in Fig. 1B is obtained, however, it is difficult to avoid significant degree of oxidation during the heating and for this reason all further studies were performed with samples containing 5% DMSO prepared by the first procedure.

The recognition properties of **3** were tested towards several types of cationic species by NMR titrations. Fig. 3 illustrates typically observed spectral changes with Pr₄N⁺ as a guest. Mixing of the guest with an excess of host induces strong up-field shifts in all signals of Pr₄N⁺ as a result of its inclusion into the aromatic host (Fig. 3B). The aromatic signals of the host also move up-field while signals of methyl groups remain practically unchanged and signals of methylene protons appear as a singlet. Interestingly, the relative intensity of signals around 7.6 ppm corresponding to traces of the intermediate acyclic complex (see ESI†) decreases in the presence of the guest evidently due to the shift in the equilibrium towards **3** induced by complexation. NOESY and ROESY spectra of the Pr₄N⁺/**3**

mixtures (Fig. 6S and 7S, ESI†) contain the cross-peaks corresponding to contacts of the guest with both components of the macrocycle confirming the guest inclusion.

The titration experiments were performed by adding aliquots of concentrated solutions of chloride salts of the guests in D₂O to **3** prepared *in situ* in 5% vol DMSO/D₂O. Guests did not shift initial pH 9.0 of typically 2.5 mM solutions of **3**. As an example of titration experiment Fig. 4 shows a complete set of NMR spectra for titration with acetylcholine. Titration plots for a series of [R₄N]Cl salts are shown in Fig. 5. Plots for other guests and complete sets of NMR spectra for titrations with several other representative guests are given in ESI, Fig. 8S–10S.†

The profile for most tightly bound Pr₄N⁺ clearly shows the saturation break at the molar ratio 1 : 1. The Job plot (Fig. 5B) with Et₄N⁺ indicates the same stoichiometry. Titration plots were fitted to the eqn (2) where [H] and [G] are total concentrations of host and guest, K_A is the association constant and Δδ = (δ_{HG} – δ_H) is the complexation induced shift in the signal.¹⁷

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{H}} + 0.5(\Delta\delta/[\text{H}])([\text{H}] + [\text{G}] + K_{\text{A}}^{-1}) - \frac{([\text{H}] + [\text{G}] + K_{\text{A}}^{-1})^2}{4[\text{H}][\text{G}]^{0.5}} \quad (2)$$

The calculated K_A and Δδ are summarized in Table 1 and Scheme 2 shows the complexation induced shifts in selected guests.

The macrocycle **3** binds R₄N⁺ guests with high affinity close to that reported for best receptors for these cations operating in water,¹⁸ such as cucurbiturils,¹⁹ sulfonatocalixarenes²⁰ and resorcinarene cavitands,²¹ but the selectivity is different. While the reported macrocyclic receptors either do not discriminate R₄N⁺ guests with different length of the radical R^{19a,20} or prefer smaller guests,^{21b,c} **3** shows a strong preference to larger cations. With R = *n*-Bu the precipitation occurs already after addition of *ca.* 0.2 equivalent of the guest indicating possibly even stronger interaction.

In order to get a deeper insight into the nature of host–guest complexation with the series of tetraalkylammonium cations high level quantum mechanical calculations were performed for **3** and its complexes. Fig. 6 shows the calculated structures of

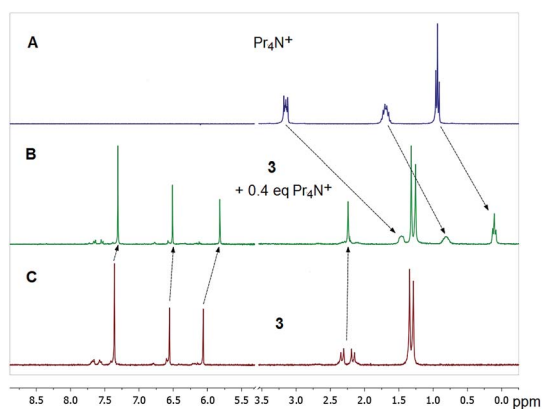


Fig. 3 ¹H NMR spectra (5% vol DMSO-*d*₆/D₂O) of 2.5 mM macrocycle **3** alone (C) and in the presence of 1 mM Pr₄NCl (B).

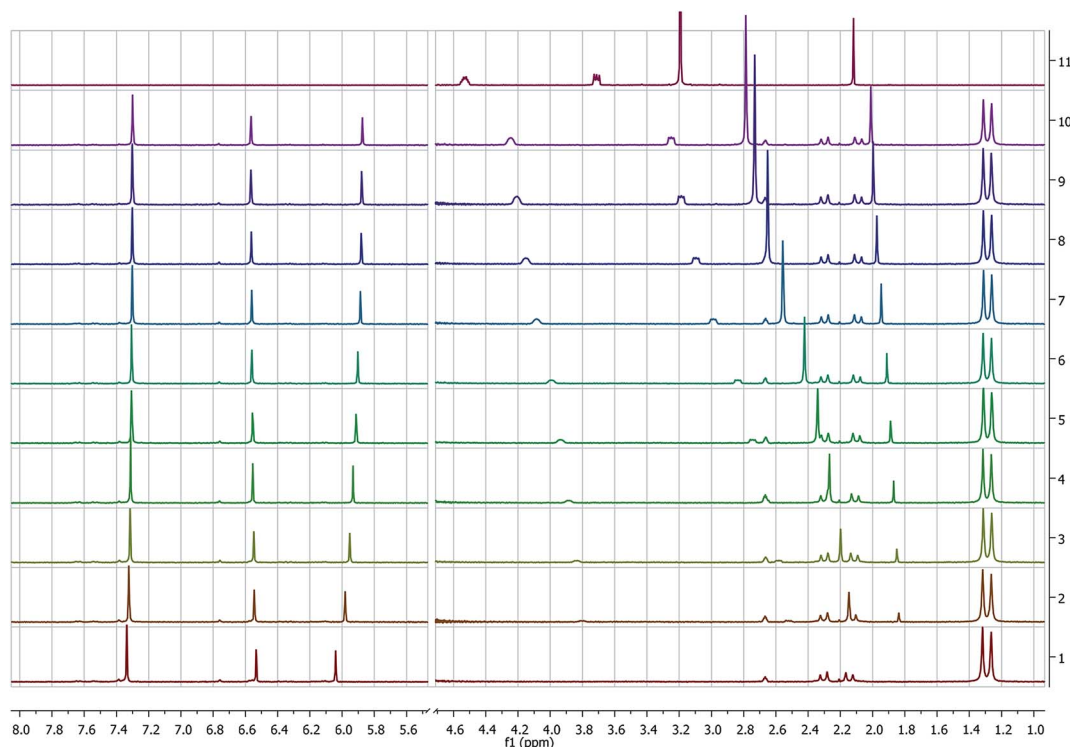


Fig. 4 ^1H NMR titration of 2.5 mM **3** by acetylcholine. Concentrations of acetylcholine: (1) 0; (2) 1.0 mM; (3) 1.5 mM; (4) 2.0 mM; (5) 2.5 mM; (6) 3.0 mM; (7) 4.0 mM; (8) 5.0 mM; (9) 6.0 mM; (10) 7.0 mM; (11) free acetylcholine.

the macrocycle and its complexes with Me_4N^+ and Pr_4N^+ cations. In agreement with NMR results the macrocycle has a symmetrical structure with ellipse shape cavity with a minor axis of approximately 6 Å estimated as the distance between nearly coplanar phenylene rings of 1,4-benzenediboronic acid fragments (Fig. 6A) taking into account the van der Waals radius of carbon. This approximately corresponds to the cavity size of β -cyclodextrin²² or curcubit[6]uril.²³ The R_4N^+ cations fit the cavity with N atom of the guest occupying the center of the cavity (see top and side views of the Pr_4N^+ complex in Fig. 6C and D). The center of the guest cation is positioned closer to the H^a than to H^b atom of the spirobiindane

fragment (e.g. 5.695 and 7.248 Å respectively for Me_4N^+ , Fig. 6B), which explains stronger complexation induced shift in the position of H^a signal (see Fig. 3 and 4). The distance is shorter in the Pr_4N^+ complex than in the Me_4N^+ complex (cf. Fig. 6B and C), which explains larger shift in the former complex (Table 1). Also the first methylene group of Pr_4N^+ forms a shorter contact with the aromatic ring of the spirobiindane fragment than the methyl group of Me_4N^+ guest (cf. Fig. 6B and C) in accordance with larger shift induced in the former case (Scheme 2).

The calculated gas phase complex formation energies (Table 2S ESI[†]) are negative, but predict the opposite to the

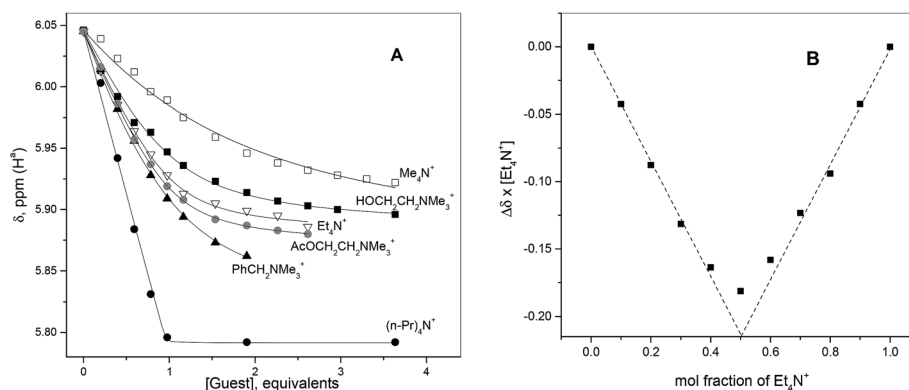
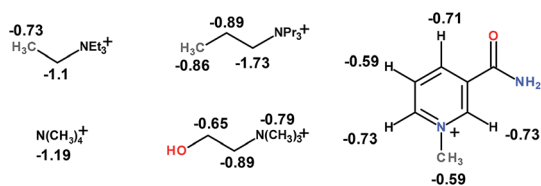


Fig. 5 (A) Titration plots of 2.5 mM **3** prepared by mixing of 5 mM **1** with 5 mM **2** and 10 mM NaOH in D_2O containing 5% vol DMSO-d_6 by tetraalkylammonium guests. The guest concentration is given as number of equivalents to total **3**. (B) The Job plot for Et_4N^+ as a guest (signals of guest methyl groups).

Table 1 Association constants (K_A with standard errors) and complexation induced shifts ($\Delta\delta$) for macrocycle **3** at pH 9.0

Guest	K_A , M^{-1}	$\Delta\delta$ (ppm)	
		H ^a	H ^d
Cs ⁺	180 ± 10	-0.014	0.026
Me ₄ N ⁺	300 ± 60	-0.19	-0.033
Et ₄ N ⁺	(3.8 ± 0.7) × 10 ³	-0.16	-0.027
Pr ₄ N ⁺	>10 ⁵	-0.25	-0.027
Bu ₄ N ⁺	Precipitate		
Me ₄ GuanH ⁺	(1.1 ± 0.2) × 10 ³	-0.059	-0.035
Choline	(1.9 ± 0.2) × 10 ³	-0.16	-0.027
Acetylcholine	(4.1 ± 0.3) × 10 ³	-0.17	-0.036
PhCH ₂ NMe ₃ ⁺	(1.5 ± 0.3) × 10 ³	-0.21	-0.15
1-Methylnicotinamide	(2.0 ± 0.2) × 10 ³	-0.003	-0.16
Nicotinamide	No interaction		
<i>n</i> -BuNH ₃ ⁺	220 ± 30	-0.032	0.006
1,4-Diaminobutane	(5.5 ± 0.9) × 10 ³	-0.055	0.014
Lys-OMe	No interaction		
Arg-OMe	240 ± 20	-0.050	-0.017



Scheme 2 Complexation induced shifts (ppm) in selected guests.

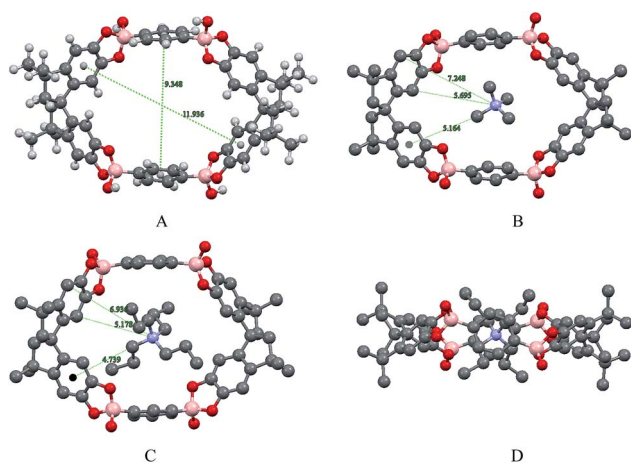


Fig. 6 (A) Minimized structure of Na₄**3** (sodium cations omitted); (B) top view of the structure of the inclusion complex of **3** with Me₄N⁺; (C) top view of the structure of the inclusion complex of **3** with Pr₄N⁺; (D) side view of the structure of the inclusion complex of **3** with Pr₄N⁺.

experimentally observed trend Me₄N⁺ > Et₄N⁺ > Pr₄N⁺ reflecting only electrostatic contribution to the binding. The observed selectivity Cs⁺ < Me₄N⁺ < Et₄N⁺ < Pr₄N⁺ can be rationalized in terms of significant contribution of hydrophobic interactions into the binding free energy. In agreement with this K_A for *n*-BuNH₃⁺ is close to that for Me₄N⁺ possessing similar charge

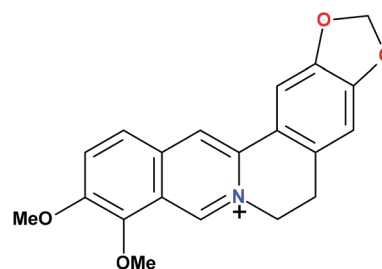
and number of aliphatic carbon atoms. Also PhCH₂NMe₃⁺ and Et₄N⁺ possessing similar hydrophobicity (one phenyl group is equivalent to four methylenes in terms of π hydrophobicity scale²⁴) have close to each other values of K_A . On the other hand choline and acetylcholine obviously possess higher affinities than expected on basis of only hydrophobic effect possibly because of better fit of these guests to the macrocycle cavity. Also tetramethylguanidinium cation (Me₄GuanH⁺ in Table 1) forms significantly more stable complex than tetramethylammonium cation indicating a better fit of a planar guanidinium group.

Besides hydrophobic interactions, the principal driving forces for inclusion in **3** are charge–charge and possibly cation– π interactions. This is evident from the absence of interaction with neutral nicotinamide in comparison with strong binding of cationic 1-methylnicotinamide and strongly increased K_A value for dication of 1,4-diaminobutane as compared to monocationic *n*-BuNH₃⁺ (Table 1). Additions of polyamines (spermidine, spermine) to **3** induced precipitation even at low guest concentrations. A contribution from cation– π interactions is highly probable, however these interactions are expected to induce down-field shifts in NMR signals of aromatic protons²⁵ and we observe mostly the up-field shifts (Table 1), which may be attributed to changes in hydration due to contacts with hydrophobic guests.

The inclusion of cationic guests into the macrocycle cavity is evidenced by observation of complexation induced shifts of all protons of guest cations (Scheme 2). The observed negative shifts agree with well-known through-space shielding effect of aromatic rings on C–H protons.²⁶

Due to observed increased affinity of **3** to guanidinium as compared to ammonium cations (see above) we attempted using the boronate macrocycle for discrimination of lysine and arginine derivatives. Table 1 shows the results for binding of methyl esters of both amino acids, which demonstrate the expected higher affinity to the arginine derivative.

Important group of cationic biological compounds constitute isoquinoline alkaloids among which perhaps the most extensively studied is berberine.²⁷ Recently inclusion of berberine in different macrocyclic hosts, such as cucurbiturils,²⁸ cyclodextrins²⁹ and calixarenes³⁰ was studied with a purpose of improvement of fluorescent properties of the alkaloid for analytical applications.³¹



Berberine

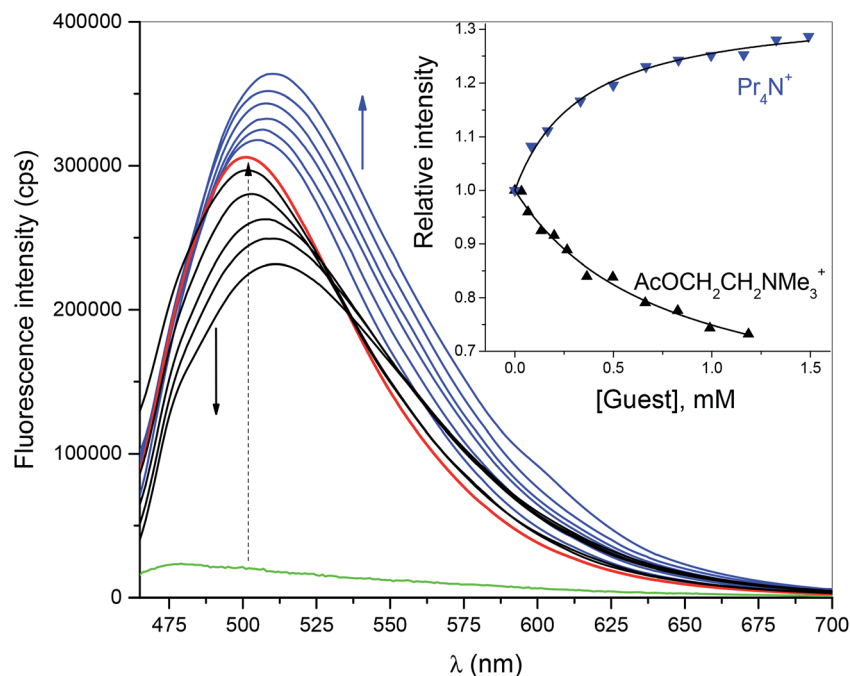


Fig. 7 Fluorescence spectra (excitation wavelength 400 nm) of 3 μ M berberine in water (green line), after addition of 1 mM **3** (red line) and after subsequent additions of acetylcholine (black lines) or Pr_4N^+ (blue lines). Arrows show the trends on additions of increased amounts of cationic guests. Inset: relative fluorescence intensity as a function of concentrations of added guests to berberine in the presence of 1 mM **3**.

In aqueous solution berberine has very low fluorescence, but inclusion in the hydrophobic cavity of a macrocyclic host induces a 10 to 100 fold increase in the fluorescence intensity. Similar effect was observed with **3**: addition of 1 mM **3** to the berberine aqueous solution induced a 10 fold increase in fluorescence (Fig. 7, green and red lines correspond to the fluorescence of free and bound berberine respectively). The calculated structure of the berberine complex with **3** (Fig. 8) demonstrates that indeed a significant portion of the guest can fit to the macrocycle cavity.

We attempted to use this effect for possible optical sensing of other cationic guests like tetraalkylammonium cations by the indicator displacement assay. Additions of acetylcholine (Fig. 7, black lines) induced the expected decrease in fluorescence and the titration plot shown in the inset of the figure demonstrates a possibility to detect *ca.* 0.1 mM of the added guest. The displacement of berberine was confirmed also by ^1H NMR results which showed that after addition of 4 mM acetylcholine to a 1 : 1 mixture of berberine and **3** the aromatic signals of macrocycle coincided with those for the acetylcholine-**3** complex. Surprisingly, additions of Pr_4N^+ cation to the berberine-**3** complex instead of the expected fluorescence quenching due to displacement of berberine from the host cavity, induced an increase in fluorescence intensity accompanied by a red shift of the emission maximum (Fig. 7, blue lines). A possible reason for such behavior is that more hydrophobic Pr_4N^+ cation can form a ternary complex with **3** and berberine providing less polar environment around the alkaloid favorable for its fluorescence.²⁸ These results demonstrate possibility of using **3** in a complex with a

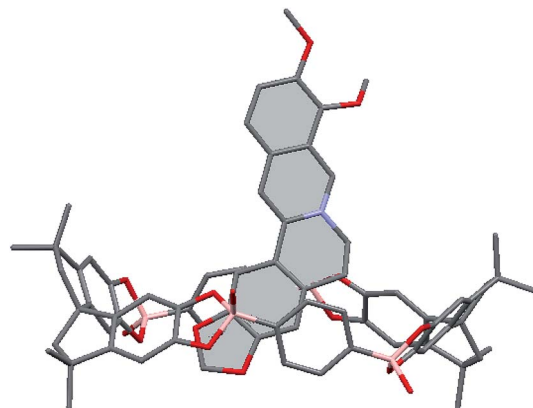


Fig. 8 Minimized structure of the inclusion complex of **3** with berberine.

fluorescent indicator molecule for optical sensing of cationic guests.

Experimental section

General experimental methods

Commercially available solvents and reagents were used without further purification. ^1H NMR spectra were recorded at 300 MHz or 400 MHz on Varian Unity Inova or Varian VNMR5 NMR spectrometers respectively, ^{13}C NMR proton decoupled spectra were recorded at 75.4 MHz on Varian Unity Inova NMR spectrometer and ^{11}B NMR spectra were recorded at 128.3 MHz with $\text{Et}_2\text{O} \cdot \text{BF}_3$ in CDCl_3 as the external standard on a Varian

VNMRS NMR spectrometer, data was processed with MestReNova version 6.0.2-5475.

NMR titrations

The NMR titration experiments were performed by adding aliquots of concentrated solutions of chloride salts of the guests in D₂O to 3 prepared *in situ* in 5% vol DMSO/D₂O. Analysis of ¹H NMR titration data by using eqn (2) was performed by non-linear least-squares fitting with Microcal Origin 8.5 program for signals of all protons underwent significant changes and the calculated association constants given in Table 1 are the mean values.

Potentiometry

Potentiometric titrations in 50% vol DMSO–water containing 0.05 M NaCl as background electrolyte were performed in a 25 mL thermostatted cell kept under nitrogen at 25 °C. Measurements of pH were carried out using an Orion model 710-A research digital pH meter while the titrant (NaOH) solution was added to the system in small increments. The electrode was calibrated in terms of p[H⁺] by titrations of 1–3 mM HCl. From these data, the autoprotolysis constant $pK_w = 15.9 \pm 0.1$ was determined in good agreement with published values in this medium. The program HYPERQUAD 2003, version 3.0.51 was used to calculate all equilibrium constants.

Mass spectra

ESI-MS experiments were performed on a Bruker Esquire 6000 mass spectrometer operated in the positive mode with electrospray ionization source. Samples were run by direct infusion from a syringe pump. Data were collected and analyzed on Bruker Daltonics 3.2 software.

Calculation method

Structural optimization was performed using the restricted PBE³² exchange–correlation functional in combination with the 6-311++G** basis set for all atoms using the TeraChem (1.5 version) software package³³ employing Cartesian coordinate optimization. For the empty macrocycle 3 and its inclusion complexes the negative formal charges were compensated by adding Sodium cations, thus a net (+1) charge was requested for the inclusion system and a zero net charge for the empty macrocycle.

In order to assess the fact that the interaction between the two fragments is not an artifact, a single point potential energy evaluation was performed by putting the tetraalkylammonium cation far away from the macrocycle center with the nitrogen atom of the guest at 10 Å with respect to the top position. The calculated interaction energy resulted in a favorable inclusion process for this level of theory. For the case of the berberine complex a 6-311G** basis set and PBE0 (ref. 34) hybrid exchange–correlation functional was employed; for this case we have tested just the inclusion model and during the optimization process it remained inside

the macrocycle. Calculated absolute energies for all complexes are given in Table S2 (ESI).†

Conclusions

In conclusion, the results of this study demonstrate that formation of anionic tetrahedral hydroxocomplexes of boronate esters can provide sufficient driving force for the self-assembly of discrete macrocyclic structures in aqueous medium. In contrast to previously reported self-assembled macrocyclic systems based on anionic complexes of boronate esters, which need a stabilizing (templating) effect of a cationic guest for their formation⁷ (see Introduction), a nearly quantitative formation of tetraanionic 3 occurs in the absence of any guest cation. A possible reason for this is that the self-assembly of 3 takes place in aqueous medium which strongly reduces destabilizing effect of mutual repulsion of negative charges of the macrocycle. The macrocycle 3 shows promising recognition properties towards biologically important guests. It binds alkylammonium, alkylpyridinium and tetraalkylammonium cations including choline and acetylcholine with high affinity and selectivity governed by charge and hydrophobicity of the guest, discriminates ammonium and guanidinium cations and strongly enhances the fluorescence of an isoquinoline alkaloid berberine. The berberine–3 complex can be used for optical sensing of cationic guests. The macrocycle 3 suffers however from rather narrow range of stability: dilution below 1 mM and decrease in pH below 9 induced dissociation of the macrocycle. Further progress in this area can be achieved by using both catechol and boronic acid components with lower pK_a values, which will provide an increased thermodynamic stability of the self-assembled compound and a shift in optimum pH of its formation to lower values ideally to a “physiological” range around 7.

Acknowledgements

Financial support by CONACyT (project 101699) is gratefully acknowledged. JMC also thanks DGTIC–UNAM for the use of their facilities and support provided by DGAPA–UNAM Grant no. IA102114.

References

- 1 For recent reviews on the use of boronic acids in self-assembly, see: (a) N. Fujita, S. Shinkai and T. D. James, *Chem.–Asian J.*, 2008, **3**, 1076; (b) K. Severin, *Dalton Trans.*, 2009, 5254; (c) R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James and J. S. Fossey, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 1124; (d) E. Sheepwash, B. Icli and K. Severin, *Chimia*, 2012, **66**, 212; (e) S. D. Bull, M. G. Davidson, J. M. H. Van Den Elsen, J. S. Fossey, A. T. A. Jenkins, Y.-B. Jiang, Y. Kubo, F. Marken, K. Sakurai, J. Zhao and T. D. James, *Acc. Chem. Res.*, 2013, **46**, 312.
- 2 (a) A. P. Côté, A. I. Benin, N. W. Ockwig, M. O’Keeffe, A. J. Matzger and O. M. Yaghi, *Science*, 2005, **310**, 1166; (b)

- E. Sheepwash, V. Krampl, R. Scopelliti, O. Sereda, A. Neels and K. Severin, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 3034.
- 3 (a) Y. Kikuchi, H. Takahagi, K. Ono and N. Iwasawa, *Chem.–Asian J.*, 2014, **9**, 1001; (b) N. Iwasawa and H. Takahagi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 7754; (c) H. Takahagi and N. Iwasawa, *Chem.–Eur. J.*, 2010, **16**, 13680; (d) S. Ito, K. Ono and N. Iwasawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 13962.
- 4 M. K. Smith, N. E. Powers-Riggs and B. H. Northrop, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 6167.
- 5 H. Danjo, N. Mitani, Y. Muraki, M. Kawahata, I. Azumaya, K. Yamaguchi and T. Miyazawa, *Chem.–Asian J.*, 2012, **7**, 1529.
- 6 (a) N. Nishimura and K. Kobayashi, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 6079; (b) N. Nishimura, K. Yoza and K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 777; (c) N. Nishimura and K. Kobayashi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 6255; (d) H. Takahagi, S. Fujibe and N. Iwasawa, *Chem.–Eur. J.*, 2009, **15**, 13327.
- 7 (a) K. Kataoka, S. Okuyama, T. Minami, T. D. James and Y. Kubo, *Chem. Commun.*, 2009, 1682; (b) K. Kataoka, T. D. James and Y. Kubo, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 15126.
- 8 (a) B. Icli, E. Sheepwash, T. Riis-Johannessen, K. Schenk, Y. Filinchuk, R. Scopelliti and K. Severin, *Chem. Sci.*, 2011, **2**, 1719; (b) J. Tçnnemann, R. Scopelliti, K. O. Zhurov, L. Menin, S. Dehnen and K. Severin, *Chem.–Eur. J.*, 2012, **18**, 9939.
- 9 S. Chirayil and K. J. Luebke, *Tetrahedron Lett.*, 2012, **53**, 726.
- 10 J. van Haveren, H. Lammers, J. A. Peters, J. G. Batelaan and H. van Bekkum, *Carbohydr. Res.*, 1993, **243**, 259.
- 11 (a) J. P. Lorand and J. O. Edwards, *J. Org. Chem.*, 1959, **24**, 769; (b) J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter and B. Wang, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 11205; (c) G. Springsteen, S. Deeter and B. Wang, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 5291; (d) M. A. Martínez-Aguirre, R. Villamil-Ramos, J. A. Guerrero-Alvarez and A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.*, 2013, **78**, 4674; (e) J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.*, 2014, **268**, 1.
- 12 J. N. Cambre and B. S. Sumerlin, *Polymer*, 2011, **52**, 4631.
- 13 (a) M. Nakahata, S. Mori, Y. Takashima, A. Hashidzume, H. Yamaguchi and A. Harada, *ACS Macro Lett.*, 2014, **3**, 337; (b) T. Yang, R. Ji, X.-X. Deng, F.-S. Du and Z.-C. Li, *Soft Matter*, 2014, **10**, 2671.
- 14 Y. Li, W. Xiao, K. Xiao, L. Berti, J. Luo, H. P. Tseng, G. Fung and K. S. Lam, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 2864.
- 15 (a) B. F. Abrahams, B. A. Boughton, H. Choy, O. Clarke, M. J. Grannas, D. J. Price and R. Robson, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 9797; (b) B. F. Abrahams, D. J. Price and R. Robson, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2006, **45**, 806.
- 16 H. Danjo, K. Hirata, S. Yoshigai, I. Azumaya and K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 1638.
- 17 H.-J. Schneider and A. K. Yatsimirsky, *Principles and methods in supramolecular chemistry*, John Wiley and Sons, Chichester, 2000, p. 144.
- 18 A. Späth and B. König, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2010, **6**, 1.
- 19 (a) A. D. St-Jacques, I. W. Wyman and D. H. Macartney, *Chem. Commun.*, 2008, 4936; (b) I. W. Wyman and D. H. Macartney, *Org. Biomol. Chem.*, 2010, **8**, 253.
- 20 (a) C. Bonal, Y. Israël, J.-P. Morel and N. Morel-Desrosiers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2001, 1075; (b) D.-S. Guo, K. Wang and Y. Liu, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, 2008, **62**, 1; (c) G. Arena, S. Gentile, F. G. Gulino, D. Sciotto and C. Sgarlata, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 7091.
- 21 (a) F. Hof, L. Trembleau, E. C. Ullrich and J. Rebek Jr, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 3150; (b) P. Ballester and M. A. Sarmentero, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 3477; (c) H. J. Schneider, D. Güttres and U. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 6449.
- 22 K. A. Connors, *Chem. Rev.*, 1997, **97**, 1325.
- 23 E. Masson, X. Ling, R. Joseph, L. Kyeremeh-Mensah and X. Lu, *RSC Adv.*, 2012, **2**, 1213.
- 24 (a) C. Hansch and A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, Wiley, New York, 1979; (b) A. Leo, C. Hansch and D. Elkins, *Chem. Rev.*, 1971, **71**, 575.
- 25 A. Hassan, T. C. Dinadayalane, S. J. Grabowski and J. Leszczynski, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 20839.
- 26 N. H. Martin, R. M. Floyd, H. L. Woodcock, S. Huffman and C.-K. Lee, *J. Mol. Graphics Modell.*, 2008, **26**, 1125.
- 27 Md M. Islam, A. Basu, M. Hossain, G. Sureshkumar, S. Hotha and G. S. Kumar, *DNA Cell Biol.*, 2011, **30**, 123.
- 28 M. Megyesi, L. Biczok and I. Jablonkai, *J. Phys. Chem. C*, 2008, **112**, 3410.
- 29 J.-S. Yu, F.-D. Wei, W. Gao and C.-C. Zhao, *Spectrochim. Acta, Part A*, 2002, **58**, 249.
- 30 M. Megyesi and L. Biczok, *Chem. Phys. Lett.*, 2006, **424**, 71.
- 31 (a) H.-J. Schneider, P. Agrawal and A. K. Yatsimirsky, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 6777; (b) A. K. Yatsimirsky, *Nat. Prod. Commun.*, 2012, **7**, 369.
- 32 J. P. Perdew, K. Burke and M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.*, 1996, **77**, 3865.
- 33 I. S. Ufimtsev and T. J. Martinez, *J. Chem. Theory Comput.*, 2009, **5**, 2619.
- 34 (a) M. Ernzerhof and G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 5029; (b) C. Adamo and V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 6158.

FULL PAPER

Thermodynamic and structural study of complexation of phenylboronic acid with salicylhydroxamic acid and related ligands

Mayte A. Martínez-Aguirre | Marcos Flores-Alamo  | Anatoly K. Yatsimirsky 

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., Mexico

Correspondence

Anatoly K. Yatsimirsky, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., Mexico.
Email: anatoli@unam.mx

Funding information

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Grant/Award Number: RTQS No. 281251; Facultad de Química de la UNAM; Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado, Grant/Award Number: PAIP 5000-9042; CONACyT, Grant/Award Number: 271108

Stability constants of boronate complexes with a highly efficient bioconjugation ligand salicylhydroxamic acid, its derivatives and some structurally related compounds were determined by potentiometric and spectroscopic titrations at variable pH allowing one to obtain detailed stability – pH profiles and to identify the optimum pH for complexation with each ligand. The N,O-binding of salicylhydroxamic acid via condensation of boronic acid with phenolic OH and hydroxamic NH groups was established by crystal structure determination of isolated complexes with phenylboronic and 4-nitrophenylboronic acids. Although this type of binding is impossible for N-methylated salicylhydroxamic acid it still forms stable boronate complexes supposedly involving unusual 7-membered –O-B-O– cycle supported by ¹H NMR studies. Hydroxamic acids lacking *ortho*-OH group and salicyloyl hydrazide form less stable boronate complexes, which nevertheless possess stabilities similar to those of catecholate complexes and may be useful for conjugation applications. In contrast to other ligands, which form tetrahedral anionic complexes, salicylamidoxime forms tetrahedral, but neutral boronate complex with high stability in weakly acid solutions. The highest affinity in neutral and acid solutions surpassing that of salicylhydroxamic acid is observed with 2,6-dihydroxybenzhydroxamic acid ($K_{\text{obs}} = 5.2 \times 10^4$ at pH 7.4). Fairly stable mono- and bisboronate complexes are formed with 2,5-dihydroxy-1,4-benzdihydroxamic acid, which also possesses intense fluorescence and may serve as a boronic acid sensor with detection limit 4 μM . Results presented in this study provide quantitative basis for rational applications of hydroxamic acid derivatives in bioconjugation and sensing.

KEYWORDS

boronic acid, complexation, crystal structure, hydroxamic acid, stability constant

1 | INTRODUCTION

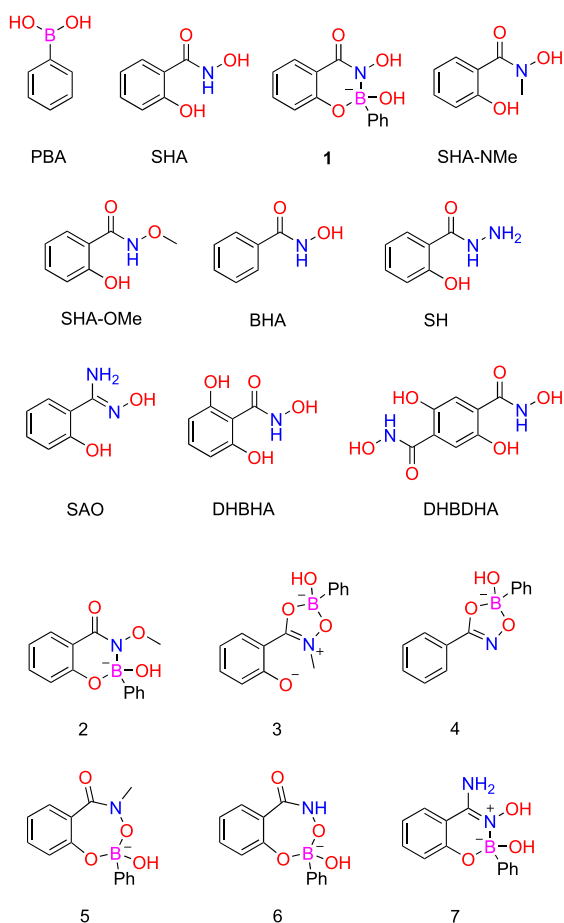
Complex formation with boronic acids represents one of important types of bioorthogonal chemical reactions often employed in bioconjugation chemistry.^[1] The most

common type of complexation of boronic acids in water is formation of diol esters which finds applications in molecular recognition of sugars and other polyols^[2] as well as in self-assembly of pH and/or sugar responsive supramolecular structures.^[3–6] When fragments of

aliphatic polyols such as sugars are employed for complexation the major problem is the necessity of using high pH values to generate relatively stable tetrahedral ester hydroxocomplexes, which still possess rather modest stability. Higher stability already in less basic solutions is observed with catechols^[7,8] often employed for self-assembly in water,^[5b, 6b, d, 9] but they suffer from rather fast autoxidation in solution^[5b, 9a] and still have insufficient affinity in neutral solutions for applications such as bioconjugation.^[10] An important step in the development of suitable high affinity ligands was the discovery of strong binding of phenylboronic acid (PBA) to salicylhydroxamic acid (SHA),^[11] for which the observed stability constant $K_{\text{obs}} = 1.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ at pH 7.4 was reported^[12] (for comparison $K_{\text{obs}} = 830 \text{ M}^{-1}$ for pyrocatechol and 160 M^{-1} for fructose at the same pH).^[7] The N, O-chelated structure **1** for the SHA-PBA complex (Scheme 1) was suggested on basis of mass spectrometric and ¹¹B NMR data, although contradictory to this N-methylated SHA derivative (SHA-NMe) also was found to bind PBA.^[11] In fact, several isomeric structures of SHA-PBA complex are possible, which agree with reported data. Importantly SHA is considered as a tightly

bound ligand for PBA in a wide range of pH in particular well below 'physiological' pH 7.4,^[11-13] however the pH-profile of the complex stability constant was never reported and actual complex stability as a function of pH is unknown.

In view of importance of SHA in bioconjugation^[1b, 12, 13] and only fragmentary information reported so far on the strength and type of its interaction with boronic acids, we provide here a detailed study of complex formation of phenylboronic acid with SHA and its methylated derivatives SHA-NMe and SHA-OMe as well as the crystal structures of SHA complexes with two phenylboronic acids which confirm the postulated binding mode. In addition, we include here results for complexation of PBA with several related ligands (see Scheme 1) such as benzhydroxamic acid (BHA), salicyloyl hydrazide (SH), salicylamidoxime (SAO), 2,6-dihydroxybenzhydroxamic acid (DHBHA) and 2,5-dihydroxy-1,4-benzdihydroxamic acid (DHBDA) to get a more comprehensive picture of boronic acid binding to salicylate and hydroxamate derivatives, which generally possess appropriate structural features to serve as anchor ligands for conjugation. Testing of these compounds allowed us to discover even more powerful ligand DHBHA which binds PBA with stability constant $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ at pH 7.4.



SCHEME 1 Chemical structures of ligands and boronate complexes considered in this study

2 | RESULTS AND DISCUSSION

At the first step the pK_a values of ligands and stability constants of complexes with PBA were determined by standard potentiometric titrations in water analyzed in terms of general reaction (1) where M is the neutral PBA molecule, L is the neutral form of the ligand, H is proton and stability constants are defined as $\beta_{pqr} = [M^pL^qH^r]/\{[M]^p[L]^q[H]^r\}$. The respective dissociation and stability constants are given in Table 1.



Acid dissociation constants for SHA and BHA given in Table 1 agree well with reported values (7.40; 9.81 and 8.71 at 25 °C and ionic strength 0.2 M).^[14] In all cases it was found that $p = q = 1$ and for majority of the ligands $r = -1$ indicating formation of anionic boronate hydroxocomplexes with stability constants $\beta_{1,1,-1}$, which in case of SHA agrees with formation of complex **1** (Scheme 1). In case of SAO a neutral complex with stability constant $\beta_{1,1,0}$ is detected additionally and in fact this complex is the predominant one in neutral solution (see below). The stability constant $\beta_{1,1,-1}$ is not a simple association constant because it refers specifically to the reaction between neutral forms of PBA and a hydroxamic acid with simultaneous deprotonation. The respective

TABLE 1 Equilibrium constants for complexation of PBA with hydroxamic acids determined by potentiometric titrations (25 °C, 0.05 M NaCl)^a

	Ligand	pK _{a1}	pK _{a2}	logβ _{1,1,-1}	K _{obs} , M ⁻¹		
					optimum pH ^b	pH 7.4	UV-Vis titration (pH)
1	SHA	7.55	10.03	-2.95	2.6 × 10 ⁴ (8.2)	1.6 × 10 ⁴	1.1 × 10 ⁴ (7.4)
2	SHA-OMe	7.35		-3.17	1.1 × 10 ⁴ (8.1)	7.8 × 10 ³	6.5 × 10 ³ (7.4)
3	SHA-NMe	6.55	11.05	-2.58	8.1 × 10 ³ (7.7)	7.9 × 10 ³	6.6 × 10 ³ (7.4)
4	BHA	8.85		-4.63	4.1 × 10 ³ (8.85)	5.5 × 10 ²	3.7 × 10 ³ (8.9)
5	3-NO ₂ -BHA	8.21		-4.17		1.4 × 10 ³	
6	3-NMe ₃ -BHA	8.06		-4.14		1.4 × 10 ³	
7	BHA ^c	8.85		-4.95		270	
8	BHA ^d	8.85		-4.17		1.4 × 10 ³	
9	SH	7.82	11.44	-4.22	2.4 × 10 ³ (8.3)	1.0 × 10 ³	2.2 × 10 ³ (8.3)
10	SAO	4.30	8.85	-5.35 3.12 ^e	1.3 × 10 ³ (6.6)	1.3 × 10 ³	1.4 × 10 ³ (6.5)
11	DHBHA	7.00 6.86 ^f	9.73 9.94 ^f	-2.29	4.0 × 10 ⁴ (7.9)	3.6 × 10 ⁴	5.2 × 10 ⁴ (7.4)

^aStandard errors in logK are less than ±0.05; pK_a of PBA was determined to be 8.84.

^bOptimum pH is given in parentheses.

^cwith 4-MeO-PBA.

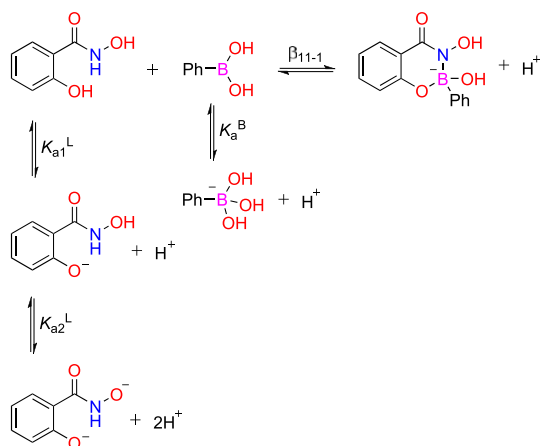
^dwith 4-Cl-PBA.

^elogβ₁₁₀.

^fSpectrophotometric titration.

observed association constant defined in terms of total concentrations of components (K_{obs}), which is the stability constant experimentally measured e.g. by spectroscopic titration at a given pH, depends on pH in accordance with theoretical equation (2),^[8] where K_{a1}^{L} and K_{a2}^{L} are the acid dissociation constants of the ligand and K_{a}^{B} is the dissociation constant of PBA (Scheme 2).

$$K_{\text{obs}} = (\beta_{1,1,-1}/[\text{H}^+]) / \{ (1 + [\text{H}^+]/K_{\text{a1}}^{\text{L}} + K_{\text{a2}}^{\text{L}}/[\text{H}^+]) (1 + K_{\text{a}}^{\text{B}}/[\text{H}^+]) \} \quad (2)$$



SCHEME 2 Acid–base and complexation equilibria involved in the interaction between SHA and PBA. The first dissociation constant of SHA is attributed to deprotonation of phenolic OH group in accordance with Ref^[15]

Usually $K_{\text{a2}}^{\text{L}} \ll K_{\text{a1}}^{\text{L}}$ and pK_{a2} is above 10, which makes it possible to exclude the $K_{\text{a2}}^{\text{L}}/[\text{H}^+]$ term from the equation (2) for analysis in practically important pH range around 7. With these assumptions the equation (2) can be substituted with more familiar simplified equation (3).

$$K_{\text{obs}} = (\beta_{1,1,-1}/[\text{H}^+]) / \{ (1 + [\text{H}^+]/K_{\text{a1}}^{\text{L}}) (1 + K_{\text{a}}^{\text{B}}/[\text{H}^+]) \} \quad (3)$$

The equation (3) predicts a bell-shaped form of the pH profile of K_{obs} with a maximum K_{obs} value at optimum pH = (pK_{a1}^L + pK_a^B)/2. The profiles of logK_{obs} vs. pH calculated with equation (2) are shown in Figure 1 and Table 1 contains K_{obs} values at optimum pH and at “physiological” pH 7.4 for each ligand. Also for comparison Table 1 contains K_{obs} determined spectrophotometrically (Supplementary Material) either at pH 7.4 or at optimum pH.

Inspection of Table 1 shows that the value of $K_{\text{obs}} = 1.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ calculated for SHA at pH 7.4 from potentiometric data practically coincides with reported value at this pH determined by ¹¹B NMR (see Introduction),^[12] but the spectrophotometrically determined K_{obs} is somewhat smaller. The discrepancy can be attributed to a difference in reaction conditions most probably to previously noticed buffer inhibitory effect^[15] (potentiometric titrations were performed in

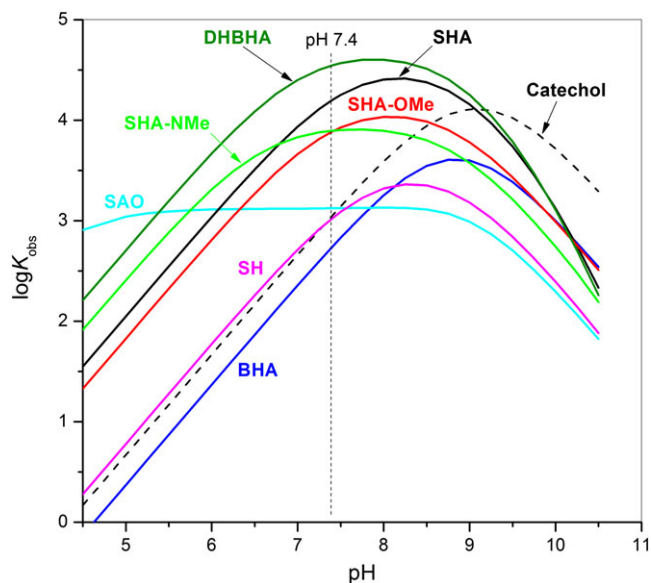


FIGURE 1 Profiles of $\log K_{\text{obs}}$ vs. pH calculated for complexation of hydroxamic acids with PBA in accordance with equilibrium constants given in Table 1 and equation (2). The black dashed line is the profile for catechol as a ligand shown for comparison

unbuffered solutions). Indeed, lower spectrophotometrically determined K_{obs} values as compared to those calculated from potentiometric data are observed for majority of ligands in Table 1.

Figure 1 shows a complete pH-profile of K_{obs} for SHA from which one can see that this ligand retains a significant affinity to PBA even in weakly acid solutions, e.g. at pH 5.8 K_{obs} for SHA equals 800 M^{-1} similar to K_{obs} for catechol at pH 7.4. In comparison with catechol SHA is more than one order of magnitude stronger ligand at pH 7.4 and lower pH values, although K_{obs} values for these ligands differ only by a factor of 2 when compared at optimum pH for each ligand, 8.2 for SHA and 9.1 for catechol (Figure 1). Thus, an important advantage of SHA is its relatively low $\text{p}K_{\text{a}}$ value, which shifts the pH-profile to lower pH in accordance with equation (3).

To get a deeper insight into the nature of boronic acid – SHA interaction the binding constants K_{obs} were determined spectrophotometrically at pH 7.4 with substituted phenylboronic acids. The results are shown in Figure 2 in coordinates of the Hammett equation. The plot is non-linear, but the respective $\beta_{1,1,-1}$ values calculated from these results show good linear correlation (solid circles in Figure 2) with the slope $\rho = 1.35 \pm 0.09$. The positive slope agrees with formation of the anionic complex and its value is close to $\rho = 1.5 \pm 0.1$ reported for complexation of substituted phenylboronic acids with tiron, a diol with $\text{p}K_{\text{a}}$ 8.16 close to that for SHA.⁸ It is worth to note that K_{obs} for 4-nitrophenylboronic acid reaches a very large value of $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ at pH 7.4.

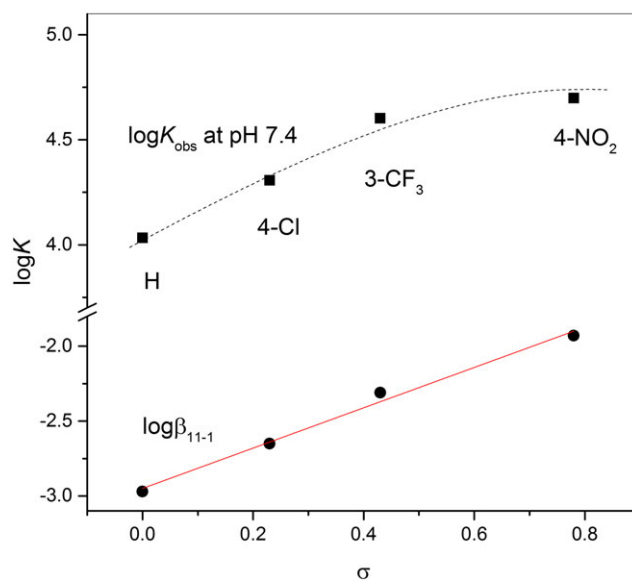


FIGURE 2 Hammett plots for K_{obs} determined by spectrophotometric titrations for substituted phenylboronic acids with SHA at pH 7.4 (squares) and for respective $\beta_{1,1,-1}$ values (circles)

Proposed structure of SHA complex **1** seems reasonable because of known lability of NH bond in BHA, which dissociates simultaneously with OH bond,^[16] however alternative structures involving binding to oxygen atoms of phenolic and hydroxamic acid groups cannot be excluded on basis of given results, in particular taking into account the observation of PBA binding to N-methylated SHA^[11] for which structure **1** is obviously impossible. Previously the methylated derivatives SHA-OMe and SHA-NMe were tested as ligands for PBA by ¹¹B NMR and mass spectrometry and were found to form boronate complexes, but their stabilities even relative were not determined.^[11] Also unknown are $\text{p}K_{\text{a}}$ values for these ligands which are needed to characterize the complex stability at variable pH. As one can see from Table 1 $\text{p}K_{\text{a}}$ of SHA-OMe is very close to $\text{p}K_{\text{a}1}$ of SHA in agreement with assignment of first deprotonation of SHA to phenolic OH^[15] and $\text{p}K_{\text{a}1}$ of SHA-NMe is significantly lower than that of SHA as is typical for N-substituted hydroxamic acids.^[17] Both methylated derivatives form anionic deprotonated complexes with PBA with $\beta_{1,1,-1}$ values slightly smaller in case of SHA-OMe and even larger in case of SHA-NMe than that for SHA. The K_{obs} values for both derivatives in pH range 7–9 are smaller than K_{obs} for SHA only by a factor of 2 (Figure 1). Thus, methylation does not affect significantly the affinity of SHA to PBA. This is an expected result for O-methylated derivative because complex **1** involves undissociated hydroxamic OH group and therefore the structure **2** (Scheme 1) for a complex of similar stability can be logically proposed for SHA-OMe. However if the

structure **1** is valid the N-methylation of SHA should block completely the binding to PBA. An alternative structure **3** for SHA-NMe complex (Scheme 1) involving O,O-chelation of doubly deprotonated SHA without direct involvement of phenolic OH group was suggested.^[11] Although structures of this type were reported for some isolated diphenylborinic acid complexes of N-substituted hydroxamic acids,^[18] less electrophilic boric acid does not interact with N-substituted hydroxamic acids.^[19] One may speculate however, that intramolecular ion pairing with deprotonated *ortho*-hydroxyl group can stabilize electrostatically the ammonium ion making structure **3** in principle possible. The question in this case is how stable are PBA complexes with hydroxamic acids without involvement of *ortho*-hydroxyl group in boronic acid binding.

Previously only interaction of BHA with boric acid was reported with $\log\beta_{1,1,-1} = -5.70$,^[20] significantly smaller than that for PBA (Table 1), as was observed for SHA (vide supra) and is typical also for diol boronate complexes.^[20] Structure **4** (Scheme 1) agrees with the reaction stoichiometry as well as with reported structure of bis(benzohydroximato)borate complexes.^[21] In comparison with SHA the affinity of BHA to PBA is one to two orders of magnitude lower both in terms of $\beta_{1,1,-1}$ and K_{obs} values; see Table 1 and Figure 1. Titrations of BHA by substituted phenylboronic acids allowed us to calculate $\rho = 1.6 \pm 0.2$ for $\log\beta_{1,1,-1}$ values in agreement with formation of anionic complex **4**. Using benzohydroxamic acids with electron acceptor groups

including a cationic Me_3N^- group improve very little the affinity to PBA (Table 1). Thus on basis of these results the structure **3** is inconsistent with high affinity of SHA-NMe to PBA.

Useful information on the type of complexes was obtained by comparison of ^1H NMR spectra of free and bound to PBA ligands, Figure 3. As follows from these results, the character of changes in the pattern of signals of aromatic protons upon complexation is essentially the same for all three ligands, which means that phenolic oxygen is always involved thus excluding the structure **3** for the complex with SHA-NMe. Complexation with SHA-OMe induces strong up-field shift of the signal of OMe group in agreement with binding of boronic acid to hydroxamic acid nitrogen (see spectra 'c' and 'd') in the structure **2**, but the signal of NMe group remains practically not shifted (see spectra 'e' and 'f') that again contradicts the structure **3** needing formation of a positive charge on nitrogen atom. A plausible structure of the complex with SHA-NMe consistent with observed stoichiometry and the small shift of the signal of NMe group is **5** (Scheme 1). It is worth to note that formation of similar 7-membered cycle is preferred over possible formation of 5- and 6-membered cycles in the structures of diphenylborinic acid complexes of N-methylated salicylaldoxime and some related ligands.^[22] Since stability of SHA-NMe complex is close to that of SHA complex (see Table 1), formation of **5** points to a possibility that in fact the structure **1** may be wrong and the real structure of the SHA complex is **6**. However, as will be

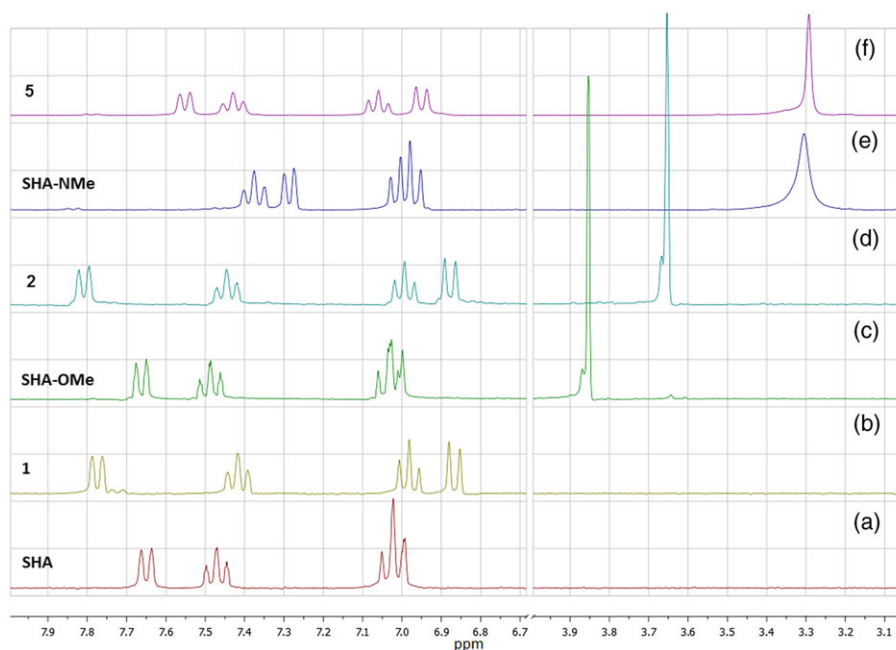


FIGURE 3 ^1H NMR spectra for free SHA, SHA-OMe and SHA-NMe (spectra “a”, “c” and “e”) and their PBA complexes **1**, **2** and **5** (spectra “b”, “d” and “f”) obtained in situ by adding 1 equivalent of phenyl- d_5 -boronic acid and NaOH to respective ligands in D_2O

shown below the crystal structure of SHA complex with phenylboronic acids confirms the validity of the structure **1**.

Crystals of SHA complexes with PBA and 4-nitrophenylboronic acid suitable for single crystal X-Ray analysis were grown from DMSO solutions. The structures shown in Figure 4a,b confirm the postulated O,N-binding of boronic acid to SHA with NH rather than OH deprotonation of the hydroxamic acid group. Dimeric structures apparently result from condensation of two respective monomeric complexes with elimination of two water molecules in the solid state. Similar dimeric structure was reported for PBA complex with

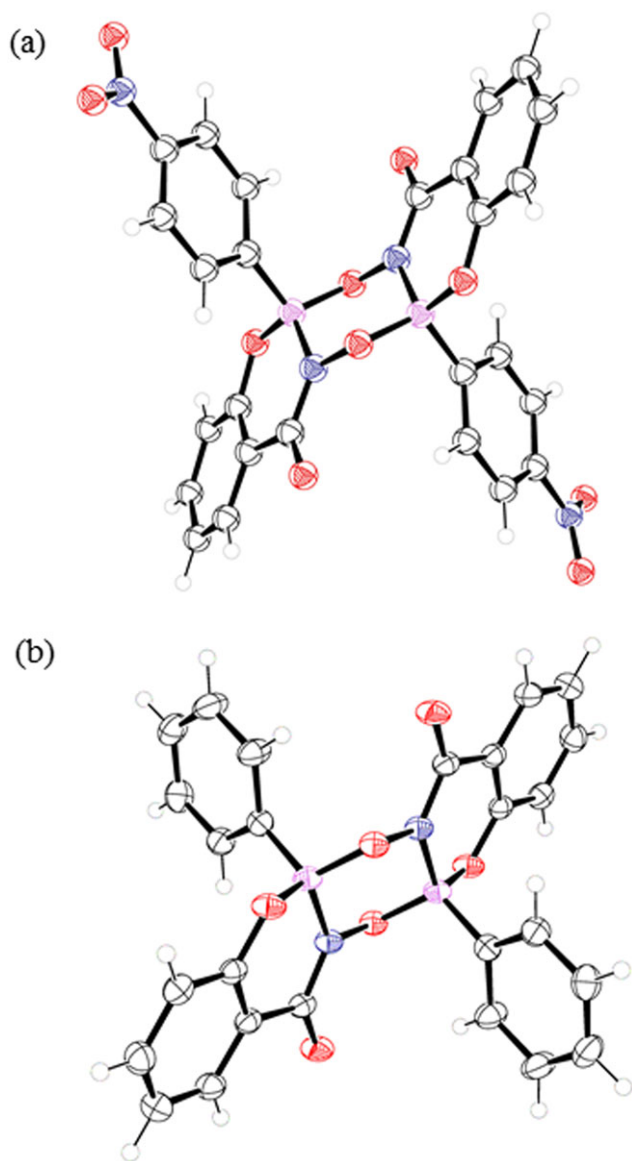


FIGURE 4 Perspective views of the molecular structures of SHA dianionic complexes with 4 nitrophenylboronic acid (a) and PBA (b) (counterions and DMSO molecules are omitted for clarity). Ellipsoids are shown at the 50% probability. Color scheme: C, black; O, red; N, blue; B, pink; H, white

salicylaldoxime.^[23] Bond distances and bond angles around B atom are collected in Table 2. The tetrahedral character (THC) of boron atom calculated from these results in accordance with Höpfl's formula^[24] is 89.1 for 4-nitrophenylboronic acid and 84.1% for PBA. Such high THC values are indicative of covalent B-N bonds found in e.g. amine boranes while boronate adducts typically have THC about 70%.^[25] In accordance with this B-N distances are about 1.55 Å (the average B-N distance in boronate complexes is 1.69 Å).^[25]

Salicyloyl hydrazide (SH), which differs from SHA just by the presence of NH₂ group instead of OH in Ph-C(O)NH- fragment could be equally good ligand for PBA, but in fact it binds with 10 times smaller association constant (Table 1). Still the affinity of SH to PBA is similar to that of catechol at pH 7.4 and below (Figure 1). The first pK_a values of SH and SHA are very close to each other so binding to phenolic oxygen should be similar, but the second pK_a is 1.4 units higher for SH making more difficult substitution at NH group.

We tested also salicylamidoxime (SAO) as possible ligand and found that in this case the predominant boronate complex is neutral with fairly high stability constant $1.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ at optimum pH 6.6 (Table 1), which remains unchanged in a wide pH interval from 5.5 to 8.5 providing tighter binding than SHA at pH below 6 and slightly tighter binding than catechol at pH 7.4 (Figure 1). This ligand can be useful therefore for boronic acid assembly at weakly acidic media. Figure 5 shows the ¹¹B NMR spectrum of a 1:1 mixture of SAO and PBA in D₂O at pD 7. The peak at 28.91 ppm belongs to free PBA and the peak at 3.18 ppm can be attributed to the complex. The position of the signal indicates tetrahedral coordination of boron in the complex^[25] to which

TABLE 2 Bond distances and bond angles around B atom in structures of complexes

	Bond distances (Å)		Bond angles (°)	
NPBA+SHA	B—N	1.544	C—B—N	109.9
	B—O	1.467	C—B—O	111.5
	B—O	1.487	C—B—O	111.6
	B—C	1.624	O—B—O	104.6
			N—B—O	109.3
			N—B—O	109.8
PBA + SHA	B—N	1.553	C—B—N	111.84
	B—O	1.472	C—B—O	111.54
	B—O	1.48	C—B—O	111.95
	B—C	1.619	O—B—O	103.41
			N—B—O	108.65
			N—B—O	109.07

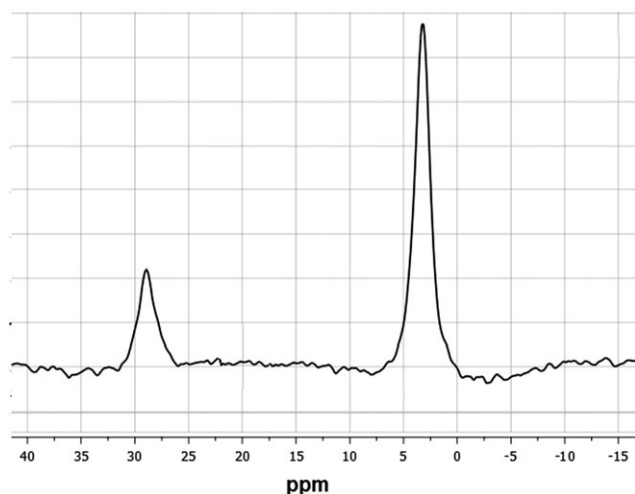


FIGURE 5 ^{11}B NMR spectrum of a mixture of 0.01 M SAO and 0.01 M PBA in D_2O at pD 7

therefore the zwitterionic structure **7** (Scheme 1) can be assigned.

In a hope to achieve even stronger boronate binding than with SHA we have prepared two dihydroxy derivatives DHBHA and DHBDHA (Scheme 1). The presence of the second hydroxyl group in DHBHA should at least duplicate the binding constant due to statistical factor. Results of potentiometric and spectrophotometric titrations (Table 1) show that β_{11-1} increases even larger by a factor of 4.6 and similar effect is observed in K_{obs} measured spectrophotometrically at pH 7.4. Smaller effect in K_{obs} by a factor of 2.3 at pH 7.4 is predicted from potentiometric results, but in any case we have a very powerful ligand with K_{obs} about $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ at pH 7.4 and with the pH-profile of stability constant shifted to lower pH (see Figure 1).

Interaction with DHBDHA was studied only spectrophotometrically by fitting results to the HypSpec program (Supplementary Material). The pH profile of the absorption spectrum allowed us to calculate expected four pK_a values 7.06, 8.64, 10.09 and 10.09 (the last pK_a with large uncertainty) and titration by PBA at pH 7.4 gives two consecutive binding constants $(1.6 \pm 0.1) \times 10^4$ and $(5.6 \pm 0.1) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ for interaction with first and second PBA molecules respectively. This ligand is fluorescent with emission maximum at 490 nm. Complexation with PBA strongly increases the fluorescence intensity and shifts the maximum to 450 nm, Figure 6. The effect is reminiscent of previously reported strong fluorescence enhancement of alizarin red S on PBA binding attributed to ligand deprotonation.⁷ The fitting of fluorescence titration data confirms formation of both 1:1 and 1:2 complexes with slightly larger constants $(2.5 \pm 0.3) \times 10^4$ and $(1.0 \pm 0.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectively.

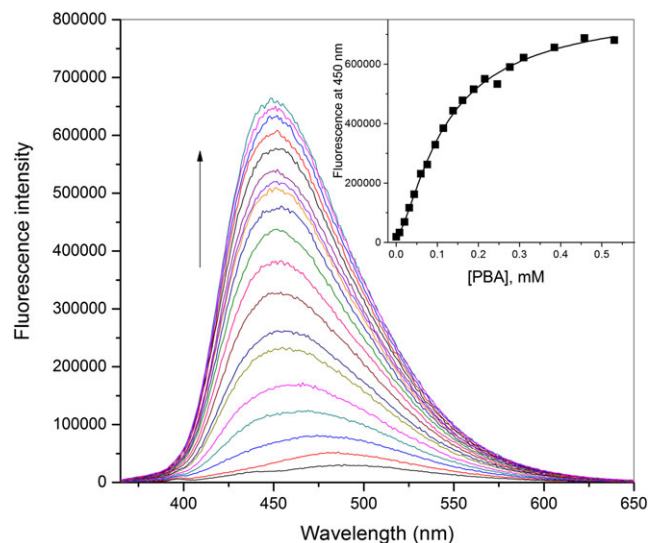


FIGURE 6 Fluorescence titration of 0.02 mM DHBDHA with PBA at pH 7.4 (excitation wavelength 355 nm). Inset shows the titration profile at 450 nm; the solid line is the theoretical fitting curve generated by HypSpec program

The ability to bind two boronic acid molecules makes DHBDHA a potentially useful ligand for cross-linking of boronic acid polymeric materials.^[26] Strong fluorescence response to a boronic acid makes it also suitable for application as a boronic acid sensor. There are a growing number of boronic acid drugs both in development stage and recently approved creating a demand in sensitive sensors for their monitoring.^[27] The green luminescence of DHBDHA at 475 nm linearly depends on concentration of PBA up to $80 \mu\text{M}$ with detection limit $4 \mu\text{M}$ (Supplementary Material) significantly lower than for sensors reported so far.^[28]

3 | CONCLUSIONS

The observed stability constant for binding of SHA to phenylboronic acid reaches its maximum value of $2.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ at optimum pH 8.2 and remains larger than 10^3 M^{-1} in a pH range from 6 to 10. Both O- and N-methylation of hydroxamic moiety of SHA induces only a two-fold decrease in K_{obs} at pH 7.4 and a small variation in optimum pH value. Small effect of O-methylation agrees with proposed structure **1** of SHA – phenylboronic acid complex, but high affinity of N-methylated derivative points to either different mode of complexation with SHA or an unusual type of bonding of SHA-NMe. Single crystal X-Ray structures of SHA complexes confirm N,O-coordination of this ligand and also indicate unusually strong for boronate adducts covalent B-N bonding, which agrees with high stability of solution complexes. Analysis of ^1H NMR results for SHA-NMe binding suggests

formation of 7-membered cycle as the most probable structure of the complex. Hydroxamic acids lacking *ortho*-OH group form less stable complexes with boronic acids, but they still possess stability similar to that of catechol complexes and therefore may be employed for conjugation processes. Incorporation of additional hydroxyl groups in SHA leads to increased affinity to PBA and in a case when OH groups are in *para*-position to each other makes the ligand fluorescent. The fluorescence is strongly enhanced by complexation with PBA allowing highly sensitive detection of boronic acids.

4 | EXPERIMENTAL

4.1 | General Experimental Methods

Commercially available PBA and substituted phenylboronic acids, SHA, BHA, SH, SAO and components of buffer solutions (CHES, MOPS, MES) were used as supplied. All titration experiments were performed at 25 °C and ionic strength 0.05 M created either by buffer or NaCl.

SHA-OMe was synthesized according to literature method.^[11] A solution of methoxylamine hydrochloride (626.1 mg, 7.5 mmol) in 10 ml of methanol was cooled in an ice-water bath and then potassium hydroxide (634 mg, 11.3 mmol) was added. After stirring for 20 min, 2-(chlorocarbonyl)phenyl acetate (500 mg, 2.5 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 30 h. The solution was acidified with acetic acid (0.22 ml) and the solvent was evaporated in vacuo. The residue was taken into water (10 ml) and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. The product was purified by silica gel chromatography with 1:1 ethyl acetate:hexane. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11.80 (s, 1H), 11.74 (s, 1H), 7.67 (d, 1H), 7.42 (t, 1H), 6.93 (dd, 2H), 3.75 (s, 3H). MS (EI, m/z) 167 [M]⁺ for C₈H₉NO₃ (167.058).

SHA-NMe was synthesized according to literature method.^[11] A solution of *N*-methylhydroxylamine hydrochloride (626.1 mg, 7.5 mmol) in 10 ml of methanol was cooled in an ice-water bath and then potassium hydroxide (634 mg, 11.3 mmol) was added. After stirring for 20 min, 2-(chlorocarbonyl)phenyl acetate (500 mg, 2.5 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 30 h. The solution was acidified with acetic acid (0.22 ml) and the solvent was evaporated in vacuo. The residue was taken into water (10 ml) and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. The product was recrystallized with 1:1 ethyl acetate:hexane. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 10.13

(s, 1H), 9.86 (s, 1H), 7.38–7.16 (m, 2H), 6.82 (dd, 2H), 3.18 (s, 3H). MS (EI, m/z) 167 [M]⁺ for C₈H₉NO₃ (167.058).

2,6-Dihydroxybenzhydroxamic acid (DHBHA) was synthesized following similar procedure. A solution of hydroxylamine hydrochloride (214.1 mg, 3.1 mmol) in 5 ml of methanol was cooled in an ice-water bath and then potassium hydroxide (347.9 mg, 6.2 mmol) was added. After stirring for 20 min, 2-(methoxycarbonyl)-1,3-phenylene diacetate (388 mg, 1.54 mmol, prepared by reaction of methyl 2,6-dihydroxybenzoate with acetic anhydride) was added and the mixture was stirred at room temperature for 3 days. The solution was acidified with acetic acid (0.3 ml) and the solvent was evaporated in vacuo. The residue was taken into water (10 ml) and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. The product was washed with chloroform. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.27 (s, 2H), 10.86 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 7.13 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.34 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H). HRMS (ESI, m/z) 170.0452 [M + H]⁺ for [C₇H₈NO₄]⁺ (calculated 170.0453).

2,5-Dihydroxy-1,4-benzdihydroxamic acid (DHBDHA) was synthesized following similar procedure. A solution of hydroxylamine hydrochloride (333.6 mg, 4.8 mmol) in 10 ml of methanol was cooled in an ice-water bath and then potassium hydroxide (505 mg, 9 mmol) was added. After stirring for 20 min, diethyl 2,5-dihydroxyterephthalate (300 mg, 1.2 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 1 day. The solution was acidified with acetic acid (0.15 ml) and the solvent was evaporated in vacuo. The residue was taken into water (5 ml) and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11.30 (s, 2H), 9.44 (s, 1H), 7.24 (s, 1H). HRMS (ESI, m/z) 229.0461 [M + H]⁺ for [C₈H₉N₂O₆]⁺ (calculated 229.0461).

4.2 | Potentiometry

Potentiometric titrations were performed in a 25 ml thermostated cell kept under nitrogen at 25 ± 0.1 °C with 0.05 M NaCl as background electrolyte. Depending on solubility 2–5 mM solutions of ligands in the presence of equimolar amount of PBA were employed. The pK_a values of all components were determined independently by titrations in the same conditions and were used as fixed parameters in the fitting of results for the PBA – ligand mixtures. Experimental details and procedure for the electrode calibration were the same as in

ref.^[28] The program Hyperquad 2008^[29] was used to calculate all equilibrium constants.

4.3 | Spectrophotometric and Fluorometric Titrations

To a 30–100 μM solution of a ligand (4–10 μM for fluorometric titrations) in an appropriate 0.05 M buffer (MES, MOPS, or CHES in order of increasing pH from 5.5 to 9.5) portions of concentrated solution of phenylboronic acid in the same buffer were added, and the mixture was incubated for 3 min after each addition before recording the spectrum. In an independent experiment, it was established that the system equilibrates completely during this incubation period. The observed equilibrium constants of the ester formation (K_{obs}) for simple 1:1 equilibria were calculated from the absorbance or fluorescence intensity (A) vs concentration of boronic acid (B) profiles at several wavelengths by nonlinear least squares fitting to the equation (4), and the results were averaged. In equation (5), subscript T stands for total concentration, A_0 is the initial absorbance or fluorescence intensity of the ligand measured in the absence of B, and $\Delta\epsilon$ is the difference in molar absorptivities or respective proportionality coefficients for fluorescence between the ester and free ligand.

$$A = A_0 + 0.5 \Delta \epsilon \left\{ [L]_{\text{T}} + [B]_{\text{T}} + 1/K_{\text{obs}} - \left(([L]_{\text{T}} + [B]_{\text{T}} + 1/K_{\text{obs}})^2 - 4[L]_{\text{T}}[B]_{\text{T}} \right)^{0.5} \right\} \quad (4)$$

Titration results at variable pH and for more complex stoichiometry were fitted to HypSpec program.^[28]

4.4 | X-ray Crystallography

Crystals of the boronate esters suitable for X-ray diffraction were grown by slow evaporation from DMSO. Crystals of SHA complexes with PBA and 4-nitrophenylboronic acid mounted on a glass fiber were studied with Oxford Diffraction Gemini 'A' diffractometer with a CCD area detector ($\lambda_{\text{MoK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$, monochromator: graphite) source equipped with a sealed tube X-ray source at 130 K. Unit cell constants were determined with a set of 15/3 narrow frame/runs (1° in ω) scans. A data sets consisted of 208 and 669 frames of intensity data collected for **PBA-SHA**, and **NPBA-SHA** respectively with a frame width of 1° in ω , and a crystal-to-detector distance of 55.00 mm. The double pass method of scanning was used to exclude any noise. The collected frames were integrated by using an orientation matrix determined from the narrow frame scans.

CrysAlisPro and CrysAlis RED software packages^[30] were used for data collection and data integration. Analysis of the integrated data did not reveal any decay. Final cell constants were determined by a global refinement of 8564 and 6510 reflections ($\theta < 30.089^\circ$) for **PBA-SHA** and **NPBA-SHA** respectively. Collected data were corrected for absorbance by using Analytical numeric absorption correction^[31] using a multifaceted crystal model based on expressions upon the Laue symmetry using equivalent reflections.

Structure solution and refinement were carried out with the SHELXS-2014^[32] and SHELXL-2014^[33] packages; WinGX v2014.1 software was used to prepare material for publication.^[34]

Full-matrix least-squares refinement was carried out by minimising $(F_o^2 - F_c^2)^2$. All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. H atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions and refined as riding on their parent atoms, with C–H = 0.98–1.00 \AA and with $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2U_{\text{eq}}(\text{C})$ for methyne and methylene groups, and $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.5U_{\text{eq}}(\text{C})$ for methyl groups. Details of the X-ray studies for the compounds are summarized in Table S1.

The crystallographic data for **PBA-SHA** and **NPBA-SHA** compounds reported in this paper has been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC 1819799 and 1505470. Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge, CB2 1EZ, UK, e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

ACKNOWLEDGEMENTS

Mayte A. Martínez-Aguirre thanks CONACyT for the Doctoral fellowship (271108). The support from Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9042), Facultad de Química de la UNAM and RTQS CONACYT Proyecto No. 281251 is gratefully acknowledged.

ORCID

Marcos Flores-Alamo  <http://orcid.org/0000-0002-2996-7616>

Anatoly K. Yatsimirsky  <http://orcid.org/0000-0002-4616-4831>

REFERENCES

- [1] a) E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6974. b) M. Arzt, C. Seidler, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Chem. – Asian J.* **2014**, *9*, 1994.
- [2] a) T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai, *Boronic Acids in Saccharide Recognition*, Royal Society of Chemistry, Cambridge

2006. b) X. Yang, Y. Cheng, S. Jin, B. Wang, in *Artificial Receptors for Chemical Sensors*, (Eds: V. M. Mirsky, A. K. Yatsimirsky), Wiley-VCH, Weinheim **2011** 169. c) H. S. Mader, O. S. Wolfbeis, *Microchim. Acta* **2008**, 162, 1. d) J. Yan, H. Fan, B. Wang, *Med. Res. Rev.* **2005**, 25, 490. e) R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James, J. S. Fossey, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 1106. f) J. S. Hansen, J. B. Christensen, J. F. Petersen, T. Hoeg-Jensen, J. C. Norrild, *Sens. Actuators B* **2012**, 161, 45. g) W. Wang, X. Gao, B. Wang, *Curr. Org. Chem.* **2002**, 6, 1285. h) J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, 268, 1.
- [3] N. Fujita, S. Shinkai, T. D. James, *Chem. – Asian J.* **2008**, 3, 1076.
- [4] a) J. N. Cambre, B. S. Sumerlin, *Polymer* **2011**, 52, 4631. b) J. Su, F. Chen, V. L. Cryns, P. B. Messersmith, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 11850. c) G. Pasparakis, M. Vamvakaki, N. Krasnogor, C. Alexander, *Soft Matter* **2009**, 5, 3839.
- [5] a) Y. Guan, Y. Zhang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 8106. b) M. Nakahata, S. Mori, Y. Takashima, A. Hashidzume, H. Yamaguchi, A. Harada, *ACS Macro Lett.* **2014**, 3, 337. c) T. Yang, R. Ji, X.-X. Deng, F.-S. Du, Z.-C. Li, *Soft Matter* **2014**, 10, 2671. d) M. C. Roberts, M. C. Hanson, A. P. Massey, E. A. Karren, P. F. Kiser, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 2503.
- [6] a) J. Ren, Y. Zhang, J. Zhang, H. Gao, G. Liu, R. Ma, Y. An, D. Kong, L. Shi, *Biomacromolecules* **2013**, 14, 3434. b) Y. Li, W. Xiao, K. Xiao, L. Berti, J. Luo, H. P. Tseng, G. Fung, K. S. Lam, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 2864. c) X. J. Loh, M.-H. Tsai, J. D. Barrio, E. A. Appel, T.-C. Lee, O. A. Scherman, *Polym. Chem.* **2012**, 3, 3180. d) W. Chen, Y. Cheng, B. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, 51, 5293.
- [7] G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron* **2002**, 58, 5291.
- [8] M. A. Martínez-Aguirre, R. Villamil-Ramos, J. A. Guerrero-Alvarez, A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 4674.
- [9] a) M. A. Martínez-Aguirre, J. M. Del Campo, S. Escalante-Tovar, A. K. Yatsimirsky, *RSC Adv.* **2015**, 5, 30075. b) J. Guo, H. Sun, K. Alt, B. L. Tardy, J. J. Richardson, T. Suma, H. Ejima, J. Cui, C. E. Hagemeyer, F. Caruso, *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, 4, 1796.
- [10] B. Akgun, D. G. Hall, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 3909.
- [11] M. L. Stolowitz, C. Ahlem, K. A. Hughes, R. J. Kaiser, E. A. Kesicki, G. Li, K. P. Lund, S. M. Torkelson, J. P. Wiley, *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 229.
- [12] S. B. Y. Shin, R. D. Almeida, G. Gerona-Navarro, C. Bracken, S. R. Jaffrey, *Chem. Biol.* **2010**, 17, 1171.
- [13] a) J. I. Jay, K. Langheinrich, M. C. Hanson, A. Mahalingam, P. F. Kiser, *Soft Matter* **2011**, 7, 5826. b) M. C. Roberts, A. Mahalingam, M. C. Hanson, P. F. Kiser, *Macromolecules* **2008**, 41, 8832. c) C. Seidler, D. Y. W. Ng, Y. Wu, T. Weil, *Supramol. Chem.* **2016**, 28, 742. d) C. Seidler, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Tetrahedron* **2017**, 73, 4979.
- [14] E. C. O'Brien, E. Farkas, M. J. Gil, D. Fitzgerald, A. Castineras, K. B. Nolan, *J. Inorg. Biochem.* **2000**, 79, 47.
- [15] L. I. Bosch, T. M. Fyles, T. D. James, *Tetrahedron* **2004**, 60, 11175.
- [16] a) A. Bagno, C. Comuzzi, G. Scorrano, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 916. b) B. García, F. Secco, S. Ibeas, A. Muñoz, F. J. Hoyuelos, J. M. Leal, M. L. Senent, M. Venturini, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 7832.
- [17] A. E. Fazary, *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 50, 888.
- [18] a) S. Rettig, J. Rotter, W. Kliegel, D. Nanninga, *Can. J. Chem.* **1978**, 56, 1676. b) W. Kliegel, U. Schumacher, M. Tajerbashi, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1991**, 69, 545.
- [19] A. R. Fields, B. M. Daye, R. Christian Jr., *Talanta* **1966**, 13, 929.
- [20] J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.* **1959**, 24, 769.
- [21] A. T. de Figueiredo, V. M. Deflon, K. E. Bessler, C. Maichle-Mossmer, U. Abram, *Polyhedron* **2002**, 21, 2351.
- [22] a) W. Kliegel, U. Lauterbach, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1987**, 65, 1457. b) W. Kliegel, M. Tajerbashi, S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1988**, 66, 2621.
- [23] S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1983**, 61, 206.
- [24] H. Höpfl, *J. Organometal. Chem.* **1999**, 581, 129.
- [25] a) P. Metola, B. M. Chapin, E. V. Anslyn, in *Boron: Sensing, Synthesis and Supramolecular Self-Assembly*, (Eds: M. Li, J. S. Fossey, T. D. James), Royal Society of Chemistry, Cambridge **2016** 44. b) L. Zhu, S. H. Shabbir, M. Gray, V. M. Lynch, S. Sorey, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1222.
- [26] V. Heleg-Shabtai, R. Aizen, R. Orbach, M. A. Aleman-Garcia, I. Willner, *Langmuir* **2015**, 31, 2237. and references therein
- [27] a) M. R. Aronoff, B. VanVeller, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2013**, 15, 5382. b) Y. Hattori, M. Ishimura, Y. Ohta, H. Takenaka, T. Watanabe, H. Tanaka, K. Ono, M. Kirihata, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 6927.
- [28] P. Gomez-Tagle, A. K. Yatsimirsky, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 3786.
- [29] a) P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, 43, 1739. b) L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 184, 311.
- [30] Agilent, *CrysAlis PRO and CrysAlis RED*, Agilent Technologies, Yarnton, UK **2013**.
- [31] R. C. Clark, J. S. Reid, *Acta Cryst.* **1995**, A51, 887.
- [32] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, A71, 3.
- [33] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, C71, 3.
- [34] L. J. Farrugia, *Appl. Cryst.* **1999**, 32, 837.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

How to cite this article: Martínez-Aguirre MA, Flores-Alamo M, Yatsimirsky AK. Thermodynamic and structural study of complexation of phenylboronic acid with salicylhydroxamic acid and related ligands. *Appl Organometal Chem.* 2018; e4405. <https://doi.org/10.1002/aoc.4405>

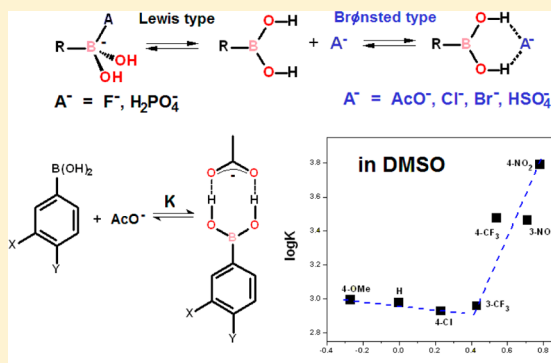
Brønsted versus Lewis Acid Type Anion Recognition by Arylboronic Acids

Mayte A. Martínez-Aguirre and Anatoly K. Yatsimirsky*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D.F., México

Supporting Information

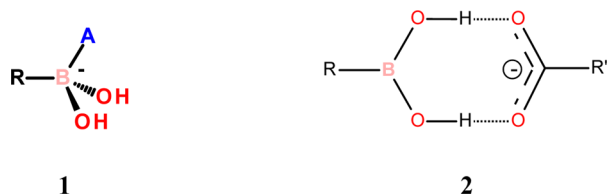
ABSTRACT: Interactions between arylboronic acids and a series of anions as tetrabutylammonium salts in DMSO and MeCN were studied by ^1H and ^{11}B NMR as well as spectrophotometrically. Boronic acids act as Brønsted acid type receptors through hydrogen bonding with $\text{B}(\text{OH})_2$ hydroxyl groups toward Cl^- , Br^- , HSO_4^- , and AcO^- , but they act as Lewis acid type receptors toward F^- and H_2PO_4^- , which form tetrahedral adducts with the B(III) center of boronic acids, although there is also evidence for some contribution of hydrogen bonding with these anions. The Hammett plot for the binding constants of AcO^- with 3- and 4-substituted phenylboronic acids in DMSO is nonlinear, with a small negative slope for electron-donating and weakly electron-accepting substituents and a large positive slope for strongly electron-accepting substituents. 3-Nitrophenylboronic acid recognizes zwitterions of amino acids in DMSO, and its UV absorption maximum undergoes a significant red shift in the presence of acetate anions, providing a means for sensing anions optically. Arylboronic acids as Brønsted acid type receptors show relatively low sensitivity to solvent polarity and are equally or even more efficient than widely employed proton donors such as ureas or dicarboxamides.



INTRODUCTION

Acid–base properties of boronic acids are unique. In spite of the presence of proton-donor hydroxyl groups, they are known to behave as Lewis rather than Brønsted acids.¹ In line with this, anion recognition by boronic acids as well as by other organoboron compounds occurs through donation of the anion electron lone pair to the B(III) center, affording the respective tetrahedral adduct **1** (Scheme 1).² A large number of anion

Scheme 1. Possible Types of Anion Binding by Boronic Acids



receptors based on this type of interaction, typically selective for F^- , have been reported over the past decade.^{2,3} On the other hand, the proton-donor character of hydroxyl groups is clearly manifested in the hydrogen bonding of boronic acids to anionic carboxylate groups that has been observed in the crystal structures of several boronic acid complexes with carboxylate salts.^{4–10} Here, the boronic acid acts as a proton-donor receptor, i.e., as a Brønsted rather than Lewis acid. The bidentate binding observed in these complexes illustrated in

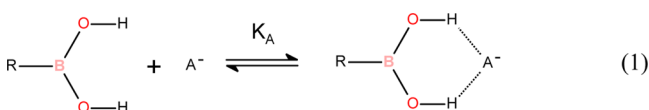
Scheme 1 (2) is reminiscent of the carboxylate complexation by ureas that is widely employed in the design of anion receptors.¹¹ It was noticed that ^1H NMR spectra of carboxylate complexes of boronic acids dissolved in DMSO contain signals in the range 8.5–10.4 ppm, which can be attributed to hydrogen-bonded protons of B–OH groups.⁴ The hydrogen-bonding interaction between B–OH groups and chloride anions was also proposed as an explanation for the fluorescence quenching of a boronic acid receptor by Cl^- in dichloromethane.¹²

Although these examples point to a possibility of using boronic acids as proton-donor receptors for anions, there are no data regarding stability and selectivity of boronic acid–anion complexes of this type in solution. It is also not clear whether hydrogen-bonded complexation can be observed with any anion or just with some of them. In this article, we report the results of a systematic study of complex formation between arylboronic acids and anions in aprotic solvents, mostly DMSO, monitored by NMR and UV–vis spectroscopy. These results confirm the hydrogen-bonding interaction, reaction 1, for several anions, whereas with other anions, arylboronic acids act as Lewis acids. The association constants for hydrogen-bonded complexes with boronic acids are noticeably larger than those reported for usually employed bidentate hydrogen-bonding receptors such as ureas or dicarboxamides, which makes

Received: February 17, 2015

Published: April 24, 2015

boronic acids attractive building blocks for the future design of hydrogen-bonding anion receptors.



RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the course of ^1H NMR titration of $\text{PhB}(\text{OH})_2$ with Bu_4NAcO in $\text{DMSO}-d_6$. Additions of increasing amounts

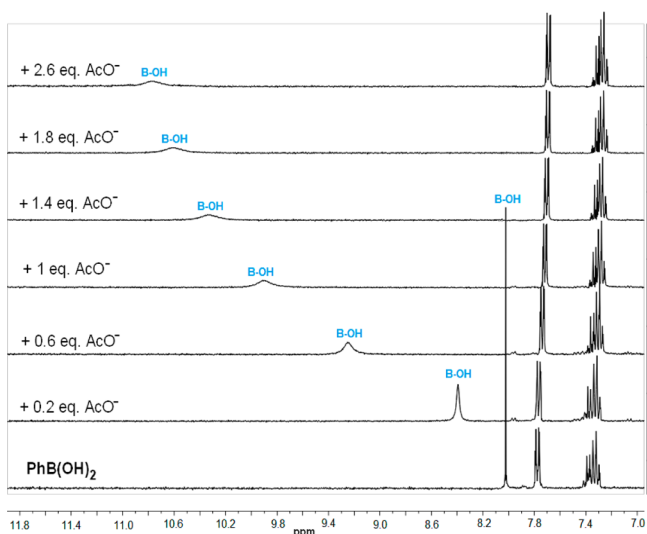


Figure 1. ^1H NMR titration of 5 mM phenylboronic acid by Bu_4NAcO in $\text{DMSO}-d_6$.

of acetate anions induce a characteristic downfield shift of the signal of B-OH protons, indicating hydrogen-bond formation of the type shown in Scheme 1 (2). Significant broadening of the signal may be associated with a relatively slow exchange rate between the free form and that bound to the anion phenylboronic acid. The concomitant small upfield shift of the signals of aromatic protons can be attributed to the electron-donor effect of the bound anion, also in agreement

with the proposed structure (2) of the complex. The methyl group signal of the acetate anion undergoes a downfield shift (Table 1) by 0.14 ppm, which reflects partial proton transfer to the hydrogen-bonded anion.

The concentration dependences of chemical shifts for all host signals perfectly fit the binding isotherm for a 1:1 association process given by eq 2, where $[\text{H}]$ and $[\text{G}]$ are total concentrations of host and guest, respectively, K_A is the association constant, and $\Delta\delta = (\delta_{\text{HG}} - \delta_{\text{H}})$ is the complexation-induced shift in the signal of a host proton.¹³ The fitting of the titration plot followed by the chemical shift of the B-OH proton of phenylboronic acid to eq 2 is shown in Figure 2.

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{H}} + 0.5(\Delta\delta/[\text{H}])([\text{H}] + [\text{G}] + K_A^{-1} - (([\text{H}] + [\text{G}] + K_A^{-1})^2 - 4[\text{H}][\text{G}])^{0.5}) \quad (2)$$

Similar titration plots were observed for several 3- and 4-substituted phenylboronic acids, Figure 2A. The K_A values for 4- CF_3 and 4- NO_2 phenylboronic acids were determined spectrophotometrically, as described below, since NMR titrations of these acids gave association constants with large uncertainty. Additionally, phenylboronic acid was titrated by tetramethylammonium salts of substituted benzoic acids, Figure 2B. The calculated K_A and $\Delta\delta$ values are summarized in Table 1.

The results summarized in Table 1 allow us to analyze the electronic effects of substituents in terms of the Hammett correlation, shown graphically in Figure 3. Surprisingly, the plot for substituted boronic acids (Figure 3A) is nonlinear. For the formation of a negatively charged complex, the expected positive slope is observed only for strongly electron-accepting substituents, but for electron-donating and weakly electron-accepting substituents, a small negative slope is observed. The reported Hammett ρ constants for formal acid dissociation constants (corresponding to the addition of hydroxide anions to the B(III) center) as well as for stability constants of anionic tetrahedral diol esters for arylboronic acids are about 2.¹⁴ The slope of the line passing through the points for trifluoromethyl and nitro substituted acids is also about 2, but the deviation from this tendency for boronic acids with other substituents does not have a clear explanation. A possible reason is a

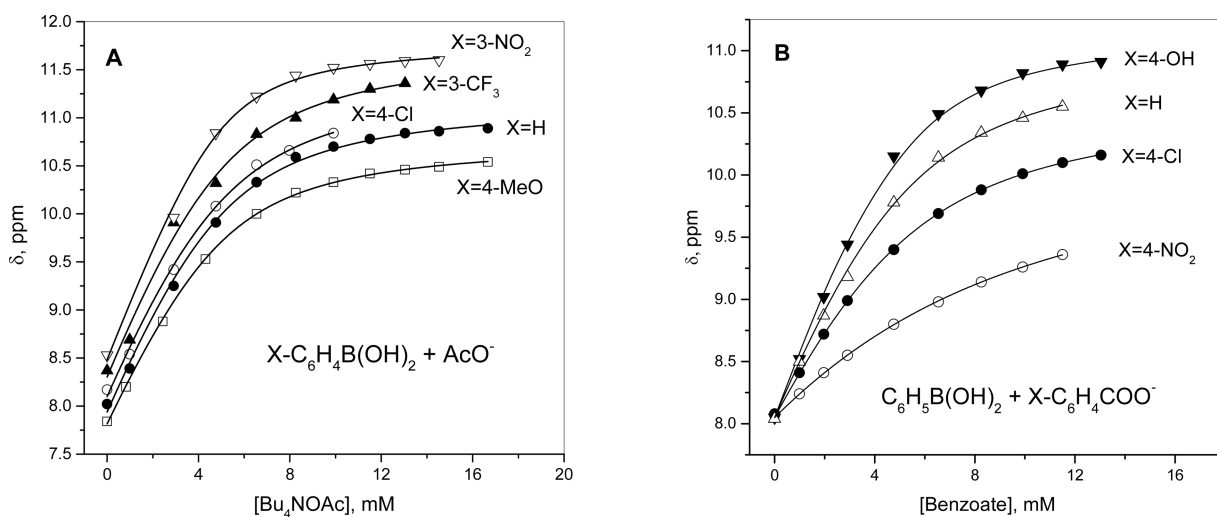


Figure 2. ^1H NMR titrations of (A) 5 mM substituted phenylboronic acids by Bu_4NAcO and (B) 5 mM phenylboronic acids by Me_4N salts of substituted benzoic acids in $\text{DMSO}-d_6$. Solid lines are fitting curves to eq 2.

Table 1. Stability Constants (K_A) of Acetate and Benzoate Complexes of Substituted Phenylboronic Acids in DMSO- d_6

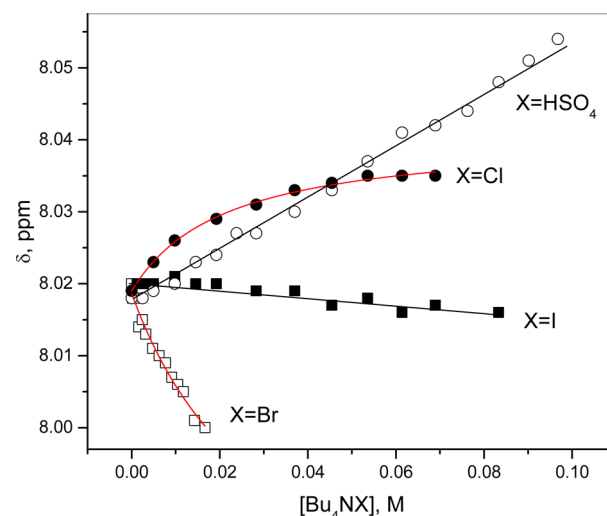
substituent		K_A , M^{-1}	$\Delta\delta$, ppm ^a	
in boronic acid	in benzoate		-B(OH) ₂	CH ₃ COO ⁻
Titrations with Acetate				
4-MeO		990 ± 50	2.95	0.09
H		950 ± 50	3.24	0.14
4-Cl		850 ± 60	3.34	0.15
3-CF ₃		910 ± 80	3.44	0.20
4-CF ₃		3000 ± 100	3.10	0.22
3-NO ₂		2900 ± 100	3.27	0.27
4-NO ₂		6200 ± 100	3.15	0.28
Titrations with Substituted Benzoates				
H	4-OH	1300 ± 100	3.13	
H	H	720 ± 90	3.00	
H	4-Cl	490 ± 20	2.56	
H	4-NO ₂	132 ± 6	2.40	

^aComplexation-induced shifts in the signals of B-OH and CH₃ groups of acetate.

complicated balance between free energies of complex formation and boronic acid solvation, both involving hydrogen bonding to the B(OH)₂ group. On the other hand, the Hammett plot for substituted benzoate anions (Figure 3B) has the expected negative slope ($\rho = -0.87 \pm 0.07$) for all types of substituents.

The complexation-induced downfield shifts in the signals of B-OH protons roughly correlate with σ values, although the dependence is not monotonic. A more regular trend is observed for complexation-induced shifts in the signals of protons of the acetate methyl group: proton donation by progressively stronger boronic acids induces stronger downfield shifts, approaching $\Delta\delta = 0.3$ ppm, observed on complete protonation of the anion.

Titrations of phenylboronic acid by tetrabutylammonium salts of other anions were performed in order to establish the selectivity of complexation. Additions of Cl⁻ and HSO₄⁻ anions caused small downfield shifts of B-OH signals, in agreement with the formation of hydrogen-bonded complexes. The respective titration plots are shown in Figure 4. The profile for HSO₄⁻ remains linear up to the highest employed concentration of anion and therefore the association constant

**Figure 4.** ¹H NMR titrations of 5 mM phenylboronic acid by different anions in DMSO- d_6 . Solid red lines are fitting curves to eq 2.

cannot be calculated, but for Cl⁻, the fitting to eq 2 allows one to determine the K_A value, given in Table 2. With Br⁻ and I⁻ anions, the B-OH signals shift in the opposite direction; the reason for this will be discussed later. The respective association constants are also included in Table 2.

Several reported crystal structures of hydrogen-bonding complexes of boronic acids with carboxylate anions correspond to complexes with formally neutral zwitterions of amino acids, such as, for example, the complex of phenylboronic acid with proline 3.^{5,7,8} Since free amino acids in DMSO exist predominantly as zwitterions,¹⁵ we tested this type of interaction in solution. Figure S1 (Supporting Information) shows the ¹H NMR titration of 3-nitrophenylboronic acid by proline, and Figure 5 illustrates the titration plots by proline and *N,N*-dimethylglycine, demonstrating formation of hydrogen-bonding complexes with $K_A = 30 \pm 5 M^{-1}$ for both amino acids. The strongly decreased affinity for these species, as compared to that for acetate, is a result of the much lower basicity of the carboxylate group of zwitterions. Interestingly, although the fraction of the zwitterionic form in DMSO is much higher for glycine than for *N,N*-dimethylglycine,^{15a} interaction of glycine with phenylboronic acid in DMSO

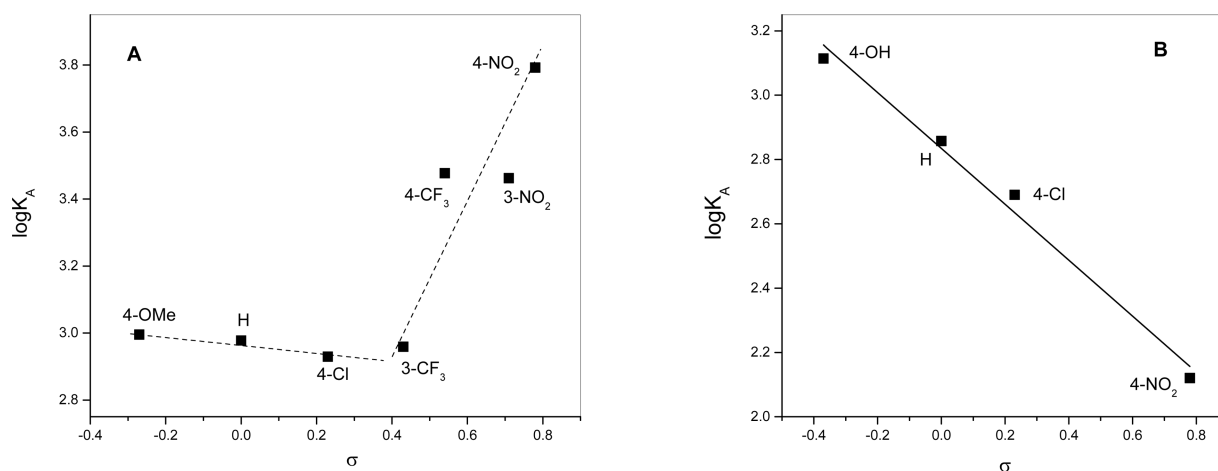
**Figure 3.** Hammett plots for the stability constants of hydrogen-bonded complexes of (A) substituted boronic acids X-C₆H₄-B(OH)₂ with acetate anions and (B) phenylboronic acid with substituted benzoate anions X-C₆H₄-CO₂⁻ in DMSO.

Table 2. Stability Constants (K_A , M^{-1}) of Complexes of Phenylboronic and 3-Nitrophenylboronic Acids with Different Anions in Different Solvents and ^{11}B NMR Chemical Shifts at Saturation ($\delta(^{11}\text{B})_{\text{sat}}$)

anion	$\text{PhB}(\text{OH})_2$				$3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$			
	DMSO		MeCN		DMSO		MeCN	CHCl_3
	$\log K_A^a$	$\delta(^{11}\text{B})_{\text{sat}}$	$\log K_A^a$	$\delta(^{11}\text{B})_{\text{sat}}$	$\log K_A^a$	$\delta(^{11}\text{B})_{\text{sat}}$	$\log K_A^a$	$\log K_A$
none		28.53				27.69		
AcO^-	2.98(2)	28.78	3.41(8)	29.13	3.46(3) ^b	27.16	3.73(2) ^b	4.01(1) ^b
H_2PO_4^-	2.34(6)	^c			3.4(1)	4.78		
HSO_4^-	<0.3							
F^-	^d	4.07					4.14	
Cl^-		1.78(7)	29.09	2.41(8)	29.92		2.74(3)	
Br^-		1.60(9)	28.86	1.72(4)				
I^-		<0.3						

^aThe number in parentheses is the standard error in the last significant digit. ^bSpectrophotometric titration. ^cUndetectable signal. ^dNot determined.

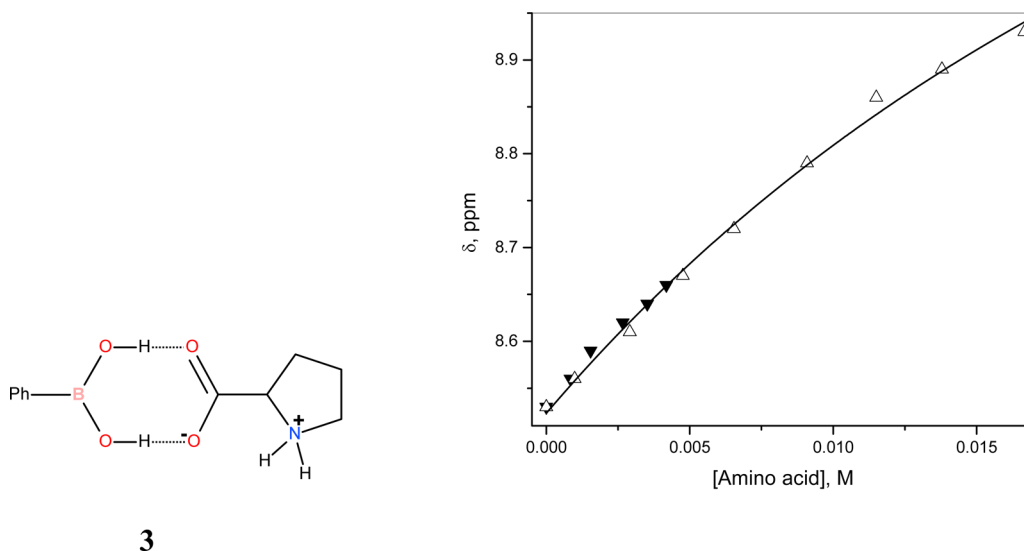


Figure 5. ^1H NMR titrations of 5 mM 3-nitrophenylboronic acids by *N,N*-dimethylglycine (open triangles) and proline (solid triangles) in $\text{DMSO-}d_6$. The chemical shift of B-OH protons is used for the fitting. The solid line is the fitting curve to eq 2.

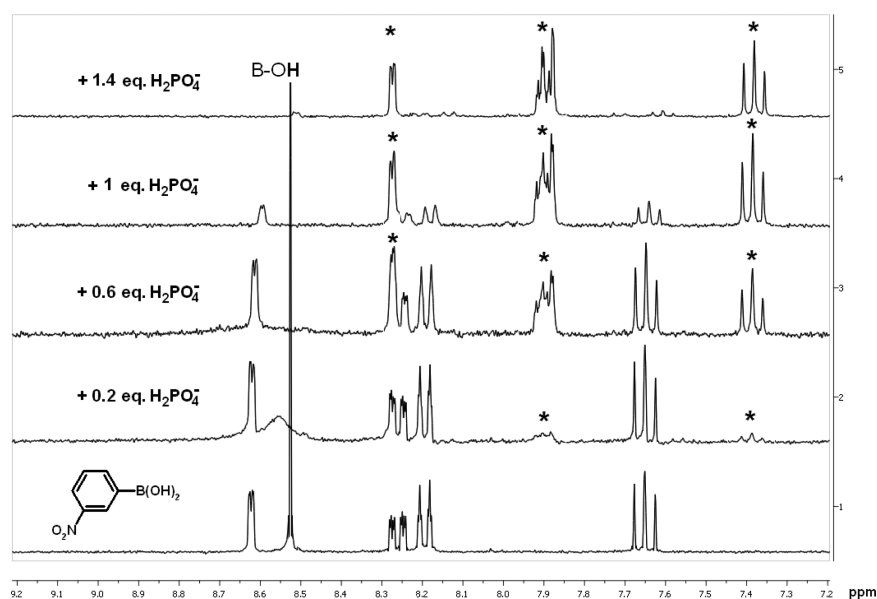


Figure 6. ^1H NMR titration of 5 mM $3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$ by $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$ in $\text{DMSO-}d_6$.

results in the formation of a N,O chelate¹⁶ rather than a hydrogen-bonded complex. A possible reason is that the ternary

nitrogen has a lower affinity for B(III) than the primary amino group due to steric effects.

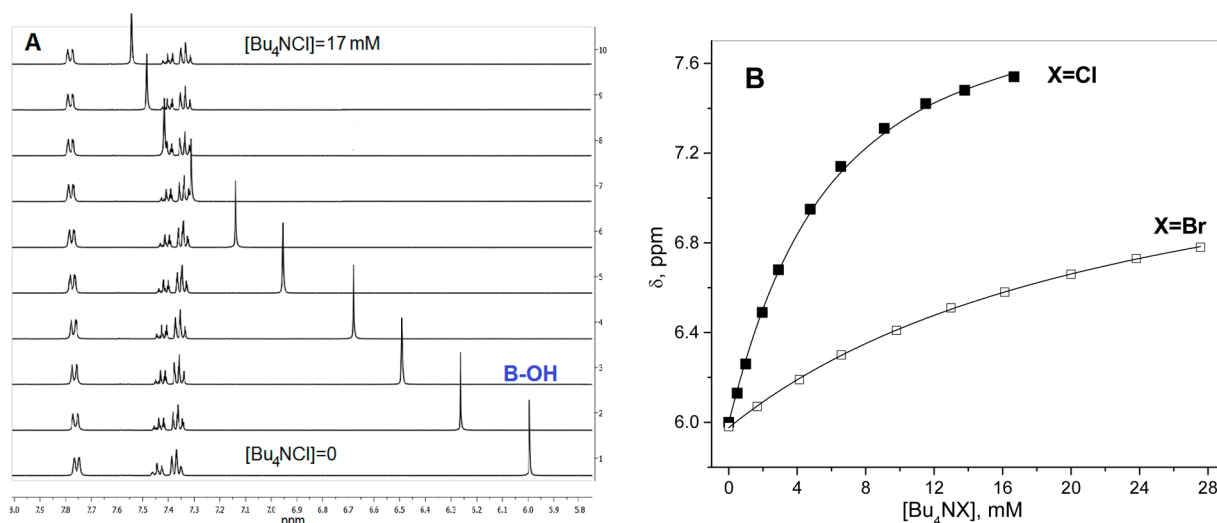


Figure 7. (A) ^1H NMR titration of 2.5 mM phenylboronic acid by Bu_4NCl (0–17 mM) in $\text{MeCN-}d_3$. (B) Titration plots of 2.5 mM phenylboronic acid in $\text{MeCN-}d_3$ by Cl^- and Br^- . Solid lines are fitting curves to eq 2.

Addition of H_2PO_4^- , even at a low concentration, caused complete disappearance of the signal of the B-OH group, but signals of aromatic protons underwent upfield shifts like that in the case of titration by acetate anions (Figure S2, Supporting Information). Fitting of these signals to eq 2 (Figure S3, Supporting Information) allowed us to calculate the association constant given in Table 2. To obtain a clearer picture with a stronger H-bonding receptor, a titration of 3-nitrophenylboronic acid by H_2PO_4^- was carried out (Figure 6). After addition of 0.2 equiv of H_2PO_4^- , the B-OH proton signal moves slightly downfield and strongly broadens, but at higher concentrations of the anion, it again disappears completely, as in the case of phenylboronic acid. At the same time, a new set of upfield-shifted signals of aromatic protons marked with asterisks (*) appears, and their intensity grows while the intensity of the signals of free 3-nitrophenylboronic acid decreases and finally disappears completely. Such behavior reflects slow exchange, on the NMR time scale, between free and complexed components that is nontypical for hydrogen-bonded complexes. The association constant in this case can be calculated from integrated areas of signals corresponding to the free form and that bound to anion boronic acid. The respective values of K_A are given in Table 2.

A similar but more complicated picture was observed with F^- and phenylboronic acid, Figure S4 (Supporting Information). Initially, addition of anion induced a small downfield shift and broadening of the B-OH signal, but with further additions, the signal disappears completely and the second set of signals of aromatic protons starts to appear in a mode typical of a slow exchange process. The changes are complete at a 1:1 molar ratio, indicating a strong interaction, but the final spectrum still indicates the presence of a mixture of compounds. The reason for the disappearance of the ^1H signal of the B-OH group in the presence of F^- and H_2PO_4^- is not clear, although the initially observed downfield shifts of the B-OH signals indicate at least some contribution of hydrogen bonding with these anions.

Important information about the type of anion complexes is provided by the position of the ^{11}B NMR signal. Free boronic acids with sp^2 boron have ^{11}B NMR signals around 30 ppm.¹⁷ Formation of a hydrogen-bonded complex like **2** does not change the hybridization of the B atom, so it can change the chemical shift of ^{11}B only by small inductive and/or solvation

effects. On the contrary, formation of a complex like **1** changes the hybridization of the B atom to sp^3 , which has a characteristic chemical shift between 0 and 10 ppm.¹⁷ The ^{11}B NMR spectra of phenylboronic and 3-nitrophenylboronic acids in DMSO in the absence and presence of anions are shown in Figure S5 (Supporting Information). In Table 2, the ^{11}B chemical shifts at saturation clearly show that complexes of phenylboronic acid with AcO^- , Cl^- , and Br^- are of the hydrogen-bonding type, but complexes with F^- and H_2PO_4^- (with 3-nitrophenylboronic acid) are of a covalent type. Surprisingly, we were unable to detect the ^{11}B signal of phenylboronic acid at saturation with H_2PO_4^- (Figure S5c), although in the case of 3-nitrophenylboronic acid, at least a low-intensity signal was clearly seen (Figure S5h).

In the less polar MeCN solvent, stability of anion complexes was, as expected, higher. During titration of phenylboronic acid by AcO^- in MeCN, the broadening of the B-OH signal was significantly stronger than that in DMSO, and the signal was already undetectable at low concentrations of added anion. The association constant given in Table 2 was determined in this case from the titration plot for a signal of an aromatic proton (Figure S6, Supporting Information). The ^{11}B chemical shift at saturation (Table 2) confirms that the complex of phenylboronic acid with AcO^- in this solvent is indeed of the hydrogen-bonded type. Figure 7A illustrates the titration of phenylboronic acid by Cl^- in $\text{MeCN-}d_3$, which clearly demonstrates a strong downfield shift of the signal of the B-OH proton and upfield shifts of the signals of aromatic protons. The ^{11}B chemical shift at saturation (Table 2) confirms that the complex is of the hydrogen-bonded type. Titration by Br^- shows similar characteristics. The fitting plots for both anions are shown in Figure 7B. The stability constants for AcO^- and Cl^- are ca. 3–4 times larger than those in DMSO (Table 2), but the stability constant for Br^- is only slightly larger in MeCN as compared to that in DMSO (Table 2). It is worth noting that, in MeCN solvent, addition of Br^- induces the expected downfield shift of the B-OH signal, whereas in DMSO, an upfield shift is observed (Figure 4). We believe that the reason for this discrepancy is that solvation of B-OH by strongly donating DMSO molecules induces a larger downfield shift of the signal than the complexation of B-OH with Br^- . Indeed, the

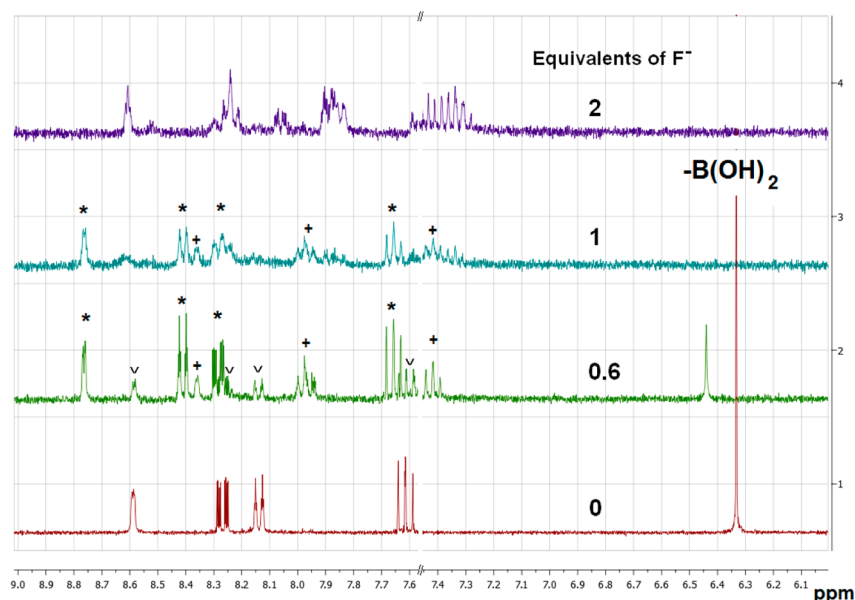


Figure 8. ^1H NMR titration of 5 mM $3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{B(OH)}_2$ by $\text{PhCH}_2\text{NMe}_3\text{F}$ in $\text{MeCN-}d_3$. The interval between 7.45 and 7.55 ppm, which contains the signal of the phenyl group of $\text{PhCH}_2\text{NMe}_3\text{F}$, is eliminated.

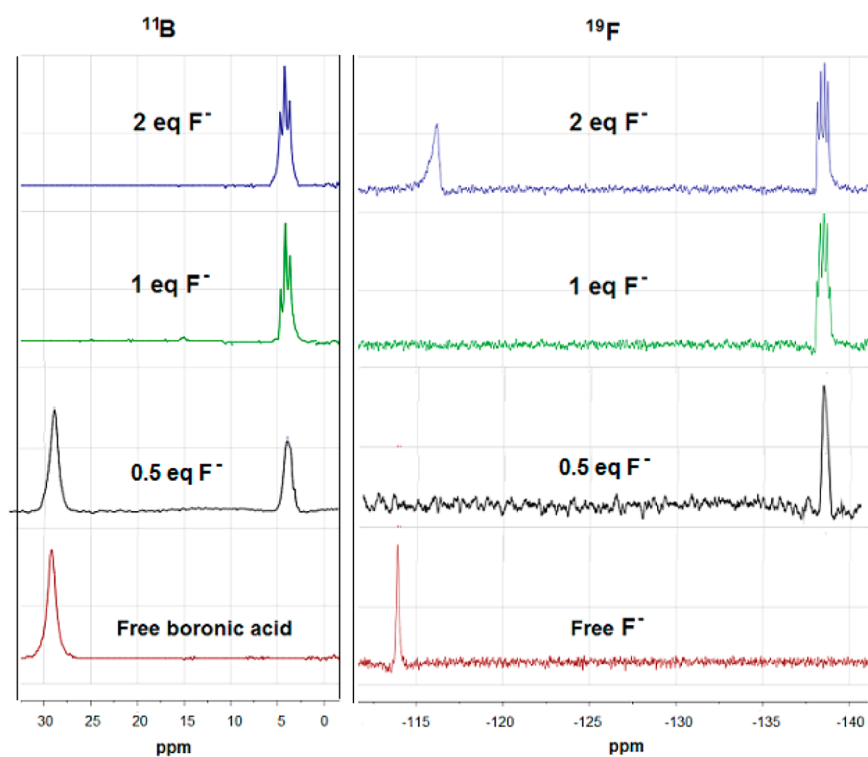


Figure 9. ^{11}B and ^{19}F NMR titrations of 20 mM $3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{B(OH)}_2$ by $\text{PhCH}_2\text{NMe}_3\text{F}$ in $\text{MeCN-}d_3$.

limiting chemical shift of the proton of B-OH at saturation with Br^- in MeCN is only 7.39 ppm (calculated from the fitting of results in Figure 7B), but the chemical shift of B-OH in pure DMSO is already 8.02 ppm.

The combined results of ^1H and ^{11}B titrations of phenylboronic acid with F^- and H_2PO_4^- anions show that the predominant type of interaction with these anions is Lewis acid type bonding, with some possible contribution of hydrogen bonding. It is also worth noting that formation of Lewis acid type adducts, on several occasions, occurs slowly on the NMR time scale, as is typical for the formation of covalent boronic

acid esters.¹⁸ To obtain additional insight on the type of interactions with fluoride anion, the system was also studied with a stronger boronic acid, $3\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{B(OH)}_2$, in the less polar MeCN solvent. The results of the ^1H NMR titration are shown in Figure 8.

Addition of less than 1 equiv of F^- (second from the bottom spectrum in Figure 8) induces a downfield shift of the signal of B(OH)_2 protons and formation of a new set of signals of aromatic protons marked with the asterisk (*), which coexists with a set of the signals of free boronic acid marked with the tick (v). Also, a new set of lower-intensity signals marked with

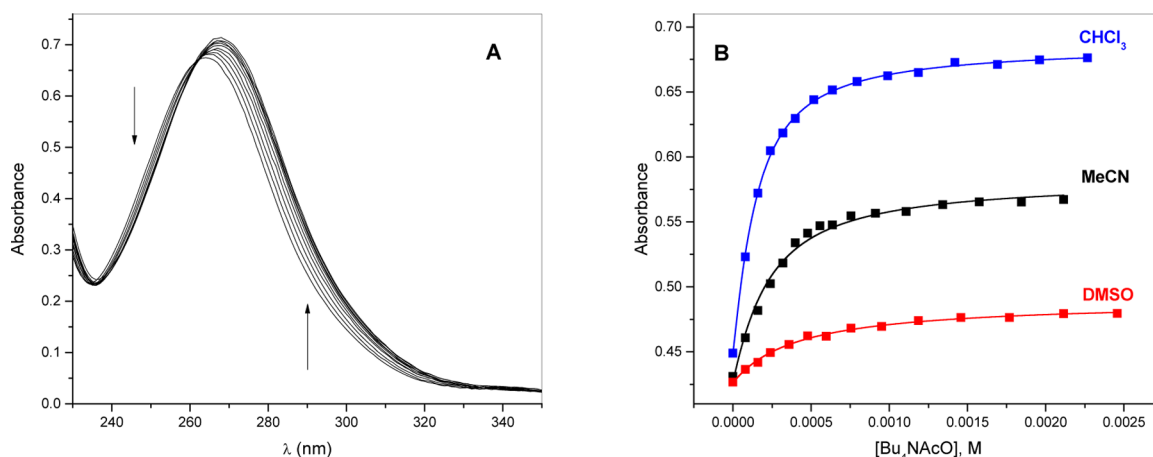
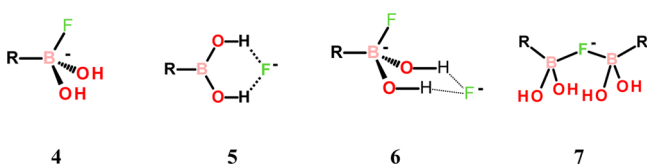


Figure 10. (A) Spectrophotometric titration of 0.1 mM 3-nitrophenylboronic acid by Bu_4NAcO in MeCN. The arrows show the direction of spectral changes on addition of increasing amounts of acetate anions. (B) Titration plots in different solvents at 290 (DMSO), 285 (CHCl_3), and 280 (MeCN) nm. Solid lines are the theoretical fitting curves.

+ is observed. At this step, we are most probably observing a mixture of slowly exchanging covalent and rapidly exchanging hydrogen-bonded adducts as the major components. At a 1:1 molar ratio (third spectrum), the signal of $\text{B}(\text{OH})_2$ protons disappears, as do signals of aromatic protons of the free acid, and in the presence of the second equivalent of fluoride (the upper spectrum), again a different set of signals is observed. These results indicate an unexpectedly large number of fluoride adducts. Indeed, one can expect formation of only two types of 1:1 adducts, one covalent (**4**) and one hydrogen-bonded (**5**) and one 1:2 adduct (**6**) with both types of binding. Formation of 1:2 covalent adducts is unlikely because it would need either formation of a very rare pentacoordinate B(III) compound or binding of the second anion via OH^-/F^- exchange, which is improbable in an aprotic solvent since it needs protonation of the leaving hydroxide anion.¹⁹ Possible types of additional species are various polymeric adducts, e.g., like **7**, resulting from the self-association of reaction components in low-polar MeCN medium at high concentrations employed for NMR measurements.



Further information was obtained from ^{11}B and ^{19}F spectra, Figure 9. According to ^{11}B results (left side of the figure), the addition of 0.5 equiv of F^- induces formation of a slowly exchanged covalent adduct with δ 4.14 ppm, most probably of the type **4**. The absence of the expected doublet structure of the signal can be attributed to broadening due to the exchange with an excess of boronic acid. Addition of 1 equiv of F^- completely transforms the boronic acid into a tetrahedral covalent adduct, as evidenced by the shift of the ^{11}B signal to 4.14 ppm, and addition of the second equivalent of the anion induces very little change in the spectrum, which means that the second fluoride anion does not interact directly with B(III). The coupling constant $J(^{11}\text{B}-^{19}\text{F}) = 59.02$ Hz is close to other reported values for arylboronic acids,²⁰ but the observation of a triplet rather than a doublet signal is strange. Such multiplicity corresponds to the binding of two fluoride anions to the B(III) center, which seems improbable (see above). Most probably,

this multiplicity arises due to overlapping signals of different species that are very close to each other observed in ^1H spectra, which are supposedly of the polymeric type (see above).

The ^{19}F results (right side of the figure) agree with the ^{11}B data. The added 0.5 equiv of F^- is transformed completely into a covalent adduct with $\delta -138.33$ ppm that lacks the expected quartet structure due to exchange with excess boronic acid. In a 1:1 mixture, when free boronic acid disappears, one observes a quintet at -138.33 ppm, corresponding to a covalent adduct. The exceeding multiplicity of the signal can be explained, as in the case of the ^{11}B spectra, by overlapping signals of polymeric species. With 2 equiv of F^- , this signal converts to a quartet, as expected for a 1:1 adduct, and a new signal at -116.20 ppm appears that is close to, but does not coincide with, that of free F^- (-113.92 ppm) and may belong to the hydrogen-bonded anion. Thus, the most probable structure of the complex formed in the presence of 2 equiv of F^- is **6**.

In order to see whether arylboronic acids can be employed for optical sensing of anions via hydrogen bonding, a spectrophotometric titration of 3-nitrophenylboronic acid by acetate was performed in solvents of different polarities (DMSO, MeCN, and CHCl_3). In all cases, complexation was accompanied by a significant red shift of the absorption maximum, as illustrated in Figure 10A for titration in MeCN. Such red shifts are usually observed on interactions of anions with arylureas²¹ and there is probably a similar origin in both cases. The fitting of the spectrophotometric titration plots to an equation similar to 2 but adopted for this type of titration¹³ is shown in Figure 10B for different solvents, and the respective stability constants are given in Table 2. Evidently, the complexation-induced change in absorption is larger in less polar solvents where more tightly bound complexes are formed. Smaller, but detectable, spectrophotometric changes were observed also in titration of phenylboronic acid by AcO^- and Cl^- in MeCN. Spectrophotometrically determined association constants were reasonably close to those determined by NMR titrations.

Comparison of results obtained in different solvents (Table 2) shows that the stability of hydrogen-bonded complexes decreases in more polar solvents, as is typical for other similar systems. However, the solvent effect observed in this case, which is manifested in less than a 4-fold decrease in K_A on going from CHCl_3 to DMSO, is not as large as for, e.g., urea-

based receptors for which stability constants of anion complexes are, by ca. 2 orders of magnitude, smaller in DMSO as compared to that in CHCl_3 (see, e.g., ref 22). We also found the binding constants of phenylboronic acid to acetate to decrease only 2- and 4-fold on addition of 1 and 3 vol % water, respectively, to DMSO.

CONCLUSIONS

The results of this study show that boronic acids act as proton-donating hydrogen-bonding receptors toward many common anions. The pronounced selectivity to acetate is a result of complementarity between anion oxygen atoms and two hydroxyls of the $\text{B}(\text{OH})_2$ group. Surprisingly, H_2PO_4^- , another anion for which such complementarity could be expected, forms a Lewis type covalent adduct with boronic acids, possibly because phosphate anions have more hard character. A very hard, and isoelectronic with OH^- , fluoride anion preferably forms the covalent adduct, although there is some evidence for hydrogen bonding with this anion, too. A nonlinear Hammett plot for acetate binding with substituted arylboronic acids indicates the complex character of electronic effects in the hydrogen-bonding properties of boronic acids. Stability constants measured for phenylboronic acid and anions such as acetate or chloride in DMSO are larger than those reported for such familiar bidentate proton donors as phenylurea or isophthalamide in the same media (about 100 M^{-1} for acetate and 10 M^{-1} for chloride, see, e.g., refs 23 and 24). Finally, a significant change in absorptivity induced by anion binding makes properly substituted arylboronic acids possible candidates for the future design of neutral optical anion sensors.

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Methods. Commercially available substituted phenylboronic acids, tetrabutylammonium salts of all anions besides F^- , which was used as a less hygroscopic benzyltrimethylammonium salt, and deuterated and common solvents were used as supplied. Stock solutions of tetramethylammonium salts of substituted benzoic acids were prepared by reacting the respective acid with Me_4NOH in DMSO. All titration experiments were performed at 25°C . ^1H NMR spectra were recorded at 300 MHz. ^{11}B NMR spectra were recorded at 128.3 MHz with $\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{BF}_3$ in CDCl_3 as the external standard using a 45° pulse, 4.82 s FID acquisition time, and 1 s acquisition delay. The sweep width was set to 423.6 ppm, and 2000 scans were performed. The ^{19}F NMR measurements were carried out at 282.3 MHz, and the signal of $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ at -76.55 ppm (relative to CFCl_3) was used as an external standard for the NMR shift.

NMR and Spectrophotometric Titrations. To a 5 mM (^1H NMR titrations) solution of a boronic acid in $\text{DMSO}-d_6$ or $\text{MeCN}-d_3$ were added portions of concentrated solutions of tetrabutylammonium salts of anions in the same solvent, and the mixture was incubated for 2 min after each addition before recording the spectrum. A similar procedure but with 0.1 mM boronic acid in common solvents was applied for spectrophotometric titrations. The observed equilibrium constants of the complex formation (K_A) were calculated from the profiles of the chemical shift or absorbance vs salt concentration by fitting to eq 2 using Origin Pro 8.5. In NMR titrations, the signals of both B-OH aromatic protons were used for fitting and the results were averaged, and in spectrophotometric titrations absorbances at several wavelengths were used for fitting and the results were averaged.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

^1H NMR titration of phenylboronic acid by H_2PO_4^- and F^- in $\text{DMSO}-d_6$, of phenylboronic acid by AcO^- in $\text{MeCN}-d_3$, and of 3-nitrophenylboronic acid by proline in $\text{DMSO}-d_6$; ^{11}B NMR

spectra. The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.joc.5b00377.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: anatoli@unam.mx

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support by CONACyT (project 101699) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- (1) (a) Hall, D. G. In *Boronic Acids: Preparation and Application in Organic Synthesis and Medicine*; Hall, D. G., Ed; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2005; p 1 and references therein. (b) Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769.
- (2) (a) Galbraith, E.; James, T. D. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3831. (b) Guo, Z.; Shin, I.; Yoon, J. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5956. (c) Wade, C. R.; Broomsgrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbai, F. P. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3958. (d) Peters, J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1.
- (3) (a) Kubo, Y.; Kobayashi, A.; Ishida, T.; Misawa, Y.; James, T. D. *Chem. Commun.* **2005**, 2846. (b) Koskela, S. J. M.; Fyles, T. M.; James, T. D. *Chem. Commun.* **2005**, 945. (c) Thakur, A.; Mandal, D.; Sao, S.; Ghosh, S. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *715*, 129. (d) Xue, M.; Wang, X.; Duan, L.; Gao, W.; Ji, L.; Tang, B. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *36*, 168. (e) DiCesare, N.; Lakowicz, J. R. *Anal. Biochem.* **2002**, *301*, 111. (f) Swamy, K. M. K.; Ju Lee, Y.; Lee, H. N.; Chun, J.; Kim, Y.; Kim, S.-J.; Yoon, J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8626.
- (4) Rodriguez-Cuamatzi, P.; Arillo-Flores, O. I.; Bernal-Uruchurtu, M. I.; Höpfl, H. *Cryst. Growth Des.* **2005**, *5*, 167.
- (5) Rogowska, P.; Cyranski, M. K.; Sporzynski, A.; Ciesielski, A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1389.
- (6) Lemmerer, A. J. *Chem. Crystallogr.* **2012**, *42*, 498.
- (7) Reetz, M. T.; Huff, J.; Rudolph, J.; Toellner, K.; Deege, A.; Goddard, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11588.
- (8) Zobetz, E.; Preisinger, A. *Monatsh. Chem.* **1989**, *120*, 291.
- (9) Aakeröy, C. B.; Desper, J.; Levin, B. *CrystEngComm* **2005**, *7*, 102.
- (10) Shull, B. K.; Spielvogel, D. E.; Gopalaswamy, R.; Sankar, S.; Boyle, P. D.; Head, G.; Devito, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 557.
- (11) (a) Sessler, J. L.; Gale, P. A.; Cho, W. S. *Anion Receptor Chemistry*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2006. (b) Amendola, V.; Bonizzoni, M.; Esteban-Gómez, D.; Fabbrizzi, L.; Licchelli, M.; Sancenón, F.; Taglietti, A. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 1451.
- (12) Galbraith, E.; Fyles, T. M.; Marken, F.; Davidson, M. G.; James, T. D. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 6236.
- (13) Schneider, H.-J.; Yatsimirsky, A. K. *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; John Wiley and Sons: Chichester, UK, 2000; p 144.
- (14) Martínez-Aguirre, M. A.; Villamil-Ramos, R.; Guerrero-Alvarez, J. A.; Yatsimirsky, A. K. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4674.
- (15) (a) Hughes, D. L.; Bergan, J. J.; Grabowski, E. J. J. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2579. (b) Headley, A. D.; Starnes, S. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9309.
- (16) Mohler, L. K.; Czarnik, A. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7037.
- (17) Zhu, L.; Shabbir, S. H.; Gray, M.; Lynch, V. M.; Sorey, S.; Anslyn, E. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1222.
- (18) (a) Van Duin, M.; Peters, J. A.; Kieboom, A. P. G.; Van Bekkum, H. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2901. (b) Pizer, R. D.; Ricatto, P. J.; Tihal, C. A. *Polyhedron* **1993**, *12*, 2137. (c) Pizer, R.; Ricatto, P. J. *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 2402. (d) Pizer, R.; Tihal, C. *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3243.

- (19) (a) Yuchi, A.; Sakurai, J.; Tatebe, A.; Hattori, H.; Wada, H. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *387*, 189. (b) Ting, R. C.; Harwig, W.; Lo, J.; Li, Y.; Adam, M. J.; Ruth, T. J.; Perrin, D. M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4662.
- (20) Oliveira, R. A.; Silva, R. O.; Molander, G. A.; Menezes, P. H. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 873.
- (21) Amendola, V.; Esteban-Gómez, D.; Fabbrizzi, L.; Licchelli, M. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 343.
- (22) Perez-Casas, C.; Höpfl, H.; Yatsimirsky, A. K. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2010**, *68*, 387.
- (23) Hughes, M. P.; Smith, B. D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4492.
- (24) Bühlmann, P.; Amemiya, S.; Nishizawa, S.; Xiao, K. P.; Umezawa, Y. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1998**, *32*, 151.

Mayte A. Martínez-Aguirre, Diego Martínez Otero, Magali L. Álvarez-Hernández, Teresa Torres-Blancas, Alejandro Dorazco-González and Anatoly K. Yatsimirsky*

Anion and sugar recognition by 2,6-pyridinedicarboxamide bis-boronic acid derivatives

DOI 10.1515/hc-2017-0054

Received March 12, 2017; accepted May 3, 2017; previously published online June 3, 2017

Abstract: Two 2,6-pyridinedicarboxamide derivatives containing arylboronic acid fragments were prepared and fully characterized including X-ray crystal diffraction analysis of a pinacol ester. These compounds are potential bifunctional receptors for sugars and anions. Acid dissociation and stability constants for complexation of both receptors with glucose and fructose were determined by potentiometric titrations in aqueous DMSO. Also, binding of alizarin red S indicator was studied spectrophotometrically and a highly sensitive detection of fructose by an indicator displacement assay was proposed. Complexation with anions was studied by ^1H NMR titrations in $\text{DMSO-}d_6$. Binding of acetate anion occurs only via hydrogen bonding to OH groups of boronic acid fragments and does not affect signals of NH protons but chloride anion induces large shift of the signals of NH protons and small shifts of the signals of OH groups. This behavior makes possible anion discrimination based on preference in the type of binding site rather than simply on anion basicity as is typical for majority of neutral hydrogen bonding anion receptors.

Keywords: anion recognition; boronic acid 2,6-pyridinedicarboxamide; sugar recognition.

Introduction

There is a significant current interest in development of ‘multi-channel’ or ‘multifunctional’ sensors containing an array of recognition sites for detection of several analytes [1–4]. By the moment most such sensors are designed for detection of multiple metal ions [2]. Important analytes of other types involve anions and carbohydrates which are frequent components of many biological, environmental and nutritional systems [5–9]. In this paper, we report synthesis and characterization of two dicarboxamidedi-boronic acids as first examples of receptors of this type exploiting dicarboxamide and boronic acid moieties as anion and sugar receptor sites.

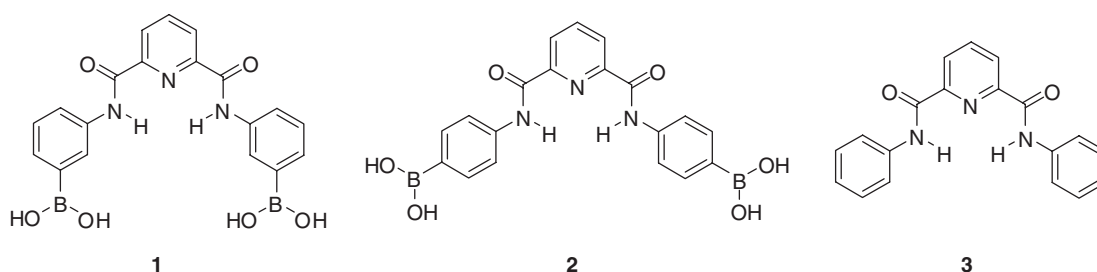
2,6-Pyridinedicarboxamide and structurally related isophthalamide derivatives initially suggested as simple yet efficient hydrogen bonding anion receptors [10] are currently among most popular building blocks and scaffolds employed in design of numerous cyclic and acyclic receptors for guests of distinct types including anions, cations and neutral molecules [11–15]. Pyridinedicarboxamides are used more often because they are better pre-organized for anion binding [14, 15]. In a proposed here design of a bifunctional receptor a 2,6-pyridinedicarboxamide is used both as an anion recognition site and as a scaffold for incorporation of boronic acid groups for sugar recognition. However, the actual role of boronic acids may be more complex because they also may participate in anion recognition. Lewis acidity of boronic acids toward anions is well documented and widely employed in design of anion, mostly fluoride, receptors [16–19]. It has been shown recently that the $\text{B}(\text{OH})_2$ group acts also as a strong proton donor toward anions [20], which possibly may compete with ‘classical’ hydrogen bonding anion receptors like dicarboxamides. It seems therefore interesting to see which site would be preferable for binding of anions of distinct types within a receptor possessing both a dicarboxamide and a boronic acid recognition sites. Following from above considerations we have prepared bifunctional receptors **1** and **2** as well as a simple monofunctional receptor **3** lacking boronic acid groups as a reference compound.

*Corresponding author: Anatoly K. Yatsimirsky, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, DF, México, e-mail: anatoli@unam.mx

Mayte A. Martínez-Aguirre: Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, DF, México

Diego Martínez Otero, Magali L. Álvarez-Hernández, Teresa Torres-Blancas and Alejandro Dorazco-González: Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Carretera Toluca-Atlamolc Km 14.5, C. P. 50200, Toluca, Estado de México, México

Numbered free-standing structures (without legends):



Results and discussion

Receptors **1–3** were prepared by reacting 2,6-pyridinedicarbonyl dichloride with respective isomers of aminophenylboronic acid or with aniline. Figure 1 shows the structure of pinacol ester of **2** determined by X-ray diffraction analysis of a crystal grown from methanol. Crystallographic data for pinacol ester of **2** are given in Table S1 (Supporting Information). The receptor is nearly planar with convergent NH bonds directed inside the cavity. The cavity size with distances between protons of NH groups, 3.063 Å, and between protons of *ortho*-CH groups, 4.101 Å, is optimal for inclusion of chloride anion via hydrogen bonding chelation with NH and CH donors [21]. Boronic acid groups are separated by a large distance of 12.7 Å, obviously too large to allow chelation of a guest.

All compounds are practically insoluble in water. The acid-base and sugar binding properties of **1** and **2** were determined by potentiometric titrations in 50% vol. aqueous DMSO. Figure 2 shows the titration plots for **1** alone and in the presence of excess of glucose or fructose. Similar plots were obtained for **2**. The plot for **1** alone has the shape of a single ‘wave’ with an upward break in pH at the point when two mole equivalents of NaOH are added. Such profile is indicative of deprotonation of two boronic acid groups with relatively close pK_a values. Additions of sugars induce strong downward shifts of titration curves to lower pH values and a more pronounced break at two mole equivalents of added NaOH, confirming formation of anionic tetrahedral hydroxo-complexes of boronic acid esters [22–24] with both boronic acid groups.

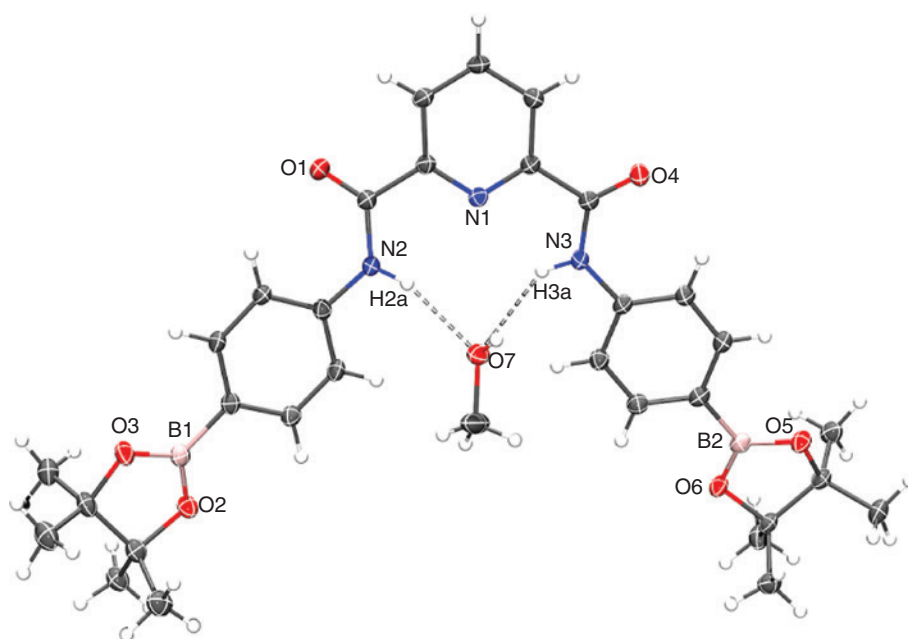


Figure 1 Molecular structure of pinacol ester of **2** crystallized with a methanol molecule. Ellipsoids are drawn at the 50% probability level.

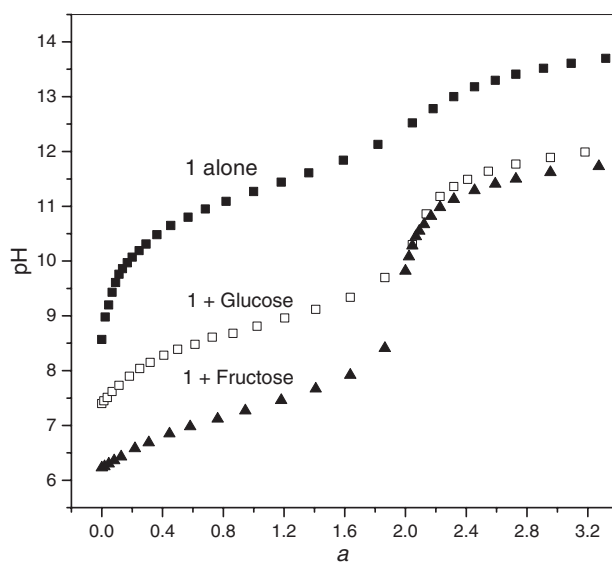


Figure 2 Potentiometric titrations of 2.1 mM receptor **1** alone (solid squares) and in the presence of 0.2 M glucose (open squares) or fructose (solid triangles) in 50% vol. aqueous DMSO; a is the number of added equivalents of NaOH.

The titration results were analyzed in terms of general equation (1) where M is the neutral receptor molecule, L is the neutral form of the sugar, H is proton and stability constants β_{pqr} are defined as in equation (2). By testing different combinations of p , q , r values for the fitting of the



$$\beta_{pqr} = \frac{[MpLqHr]}{[M]^p [L]^q [H]^r} \quad (2)$$

titration results with Hyperquad program we found the best fit with a set of the equilibrium constants given in Table 1 which correspond to a set of deprotonation and association equilibria illustrated in Scheme 1. For comparison, corresponding literature data for phenylboronic acid in water are also included in Table 1.

The first pK_a values of receptors **1** and **2** are significantly higher than that of phenylboronic acid in water, most probably due to the solvent effect. A smaller pK_a of **1** reflects a larger electron acceptor effect of the N -acyl group in *meta* position (more positive σ_m than σ_p) [25] of boronic acid. The second pK_a values are larger than the first values due to both statistical and electronic effects. Increased pK_a values of boronic acids **1** and **2** have the expected negative effect on ester formation with polyols, which is reflected in much smaller β_{111} values for **1** and **2** as compared to those for stronger phenylboronic acid. However, the stability of boronate esters expressed in terms of K_{tet1} (Scheme 1) is higher for **1** and **2**. The relationship between these constants is given by equation (3) [24] and the respective calculated values of $\log K_{\text{tet1}}$ are shown in Table 1. Evidently, K_{tet1} for glucose is 5 and 3 times larger with **1** and **2**, respectively, compared to phenylboronic acid. For fructose, the effect is even larger: 40 and 10 times, respectively.

$$\log K_{\text{tet1}} = \log \beta_{11-1} + pK_{a1} \quad (3)$$

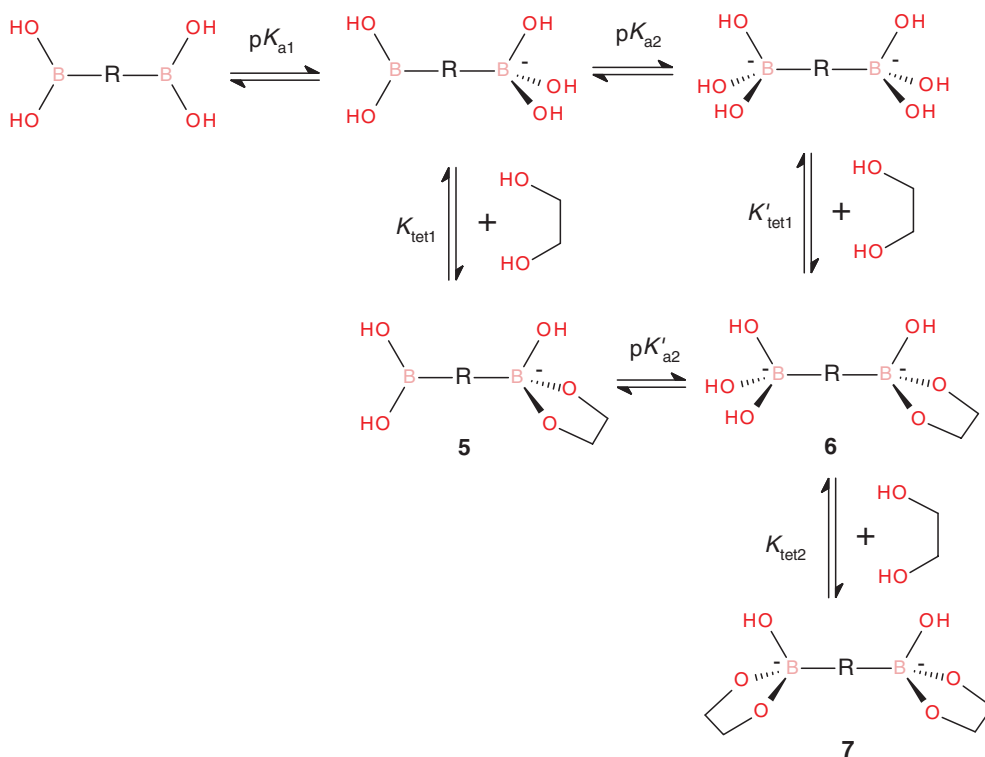
The results of potentiometric titrations did not allow to determine β_{11-2} which would correspond to formation of the monoester with deprotonated second boronic acid group (**6** in Scheme 1). This means low degree of formation of this species. Without this equilibrium constant we cannot, however, calculate the K_{tet2} value corresponding to formation of the final dianionic diester **7** (Scheme 1), but the overall stability of this species should be very large as follows from the species distribution diagrams shown for **1** in Figure 3. This Figure illustrates the species distribution diagrams for interaction of **1** with glucose and fructose. It shows the degree of formation of distinct species as percentage of total concentration of the receptor at variable pH calculated for 0.1 mM receptor and excess of a sugar (10 mM for glucose and 1 mM for more tightly bound fructose) using the equilibrium constants from Table 1. For comparison, the dashed lines show calculated profiles for phenylboronic acid in water.

Table 1 Acid dissociation and stability constants of sugar complexes for receptors **1** and **2** (50% DMSO, 0.1 M NaCl).

	1		2		PhB(OH) ₂ ^a	
pK_{a1}	10.34 ± 0.03		11.40 ± 0.06		8.9	
pK_{a2}	11.22 ± 0.04		12.3 ± 0.1			
	Glucose	Fructose	Glucose	Fructose	Glucose	Fructose
$\log \beta_{11-1}$	-7.48 ± 0.04	-5.18 ± 0.02	-8.81 ± 0.05	-6.9 ± 0.2	-6.75	-5.36
$\log \beta_{12-2}$	-15.28 ± 0.02	-11.55 ± 0.03	-19.13 ± 0.06	ND ^b		
$\log K_{\text{tet1}}$	2.86	5.16	2.59	4.5	2.15	3.54

^aPhenylboronic acid in water, data are from [22, 23].

^bFitting of titration results did not require a β_{12-2} value.



Scheme 1

Let us consider first the results for glucose (Figure 3A). The distribution curve for monoester **5** reaches the maximum of 40% at pH 9.7 and then goes down with concomitant increase in the fraction of the diester **7**. The fraction of mono-deprotonated **1** reaches the maximum of 6% at the same pH and the doubly deprotonated form as well as the ester **6** do not contribute noticeably at any pH. Instead, a rapid growth of the fraction of diester **7** which exceeds 90% above pH 11 is observed. Such behavior may be observed if both $K_{\text{tet}2}$ and $K'_{\text{tet}1}$ are larger than $K_{\text{tet}1}$. Currently, we cannot provide a satisfactory explanation for this phenomenon, but it is in line with our previous observation of co-operative formation of diester of 1,4-benzenediboronic acid with a catechol ligand [26]. Comparison of distribution curves for **1** with those for phenylboronic acid at first glance indicate worse performance of the former since the distribution curves for it are shifted to higher pH values. It must be considered, however, that the presence of DMSO as a co-solvent shifts the autoprotolysis constant of water (pK_w) and therefore shifts the whole scale of pH [27]. In 50% (v/v) DMSO the value of pK_w equals 15.9 instead of 13.8 in water (at ionic strength 0.1 M) which means that solutions of equal basicity have pH values by 2.1 units higher in 50% DMSO than in pure water. Thus, for a typical 'physiological' pH of 7.4 in water the equivalent value in 50% DMSO is pH 9.5. As can be seen from

Figure 3A the degree of ester formation of phenylboronic acid with glucose at pH 7.4 is only about 4% while at pH 9.5 in 50% DMSO the total degree of ester formation (**5** + **7**, see Scheme 1) is about 70%.

In case of fructose with a much higher $K_{\text{tet}1}$ value an increased degree of ester formation is observed for **1** as compared to phenylboronic acid already at pH around 7 in both media (Figure 3B). At higher pH values the complexation of **1** becomes nearly quantitative with low fraction of free boronic acid anion. These results show that receptor **1** could serve as a sensitive sensor for fructose, but it lacks suitable spectral properties. The problem can be solved by using an indicator displacement assay. We chose as an indicator the most popular catechol-type dye alizarin red S (ARS) [23, 28]. Figure 4 shows the results of spectrophotometric titration of ARS by **1** at pH 8 which demonstrates characteristic blue shift of the absorption maximum. Fitting of the titration results to equation (4) allowed us to calculate the association constant $K = (4.6 \pm 0.4) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. The fitting to equation (4), which implies a 1:1 complexation equilibrium was possible because in this experiment an excess of receptor to the guest was employed and therefore predominantly a 1:1 complex was formed. For isomeric receptor **2**, $K = (3.0 \pm 0.3) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ was obtained. The respective binding constant of ARS to phenylboronic

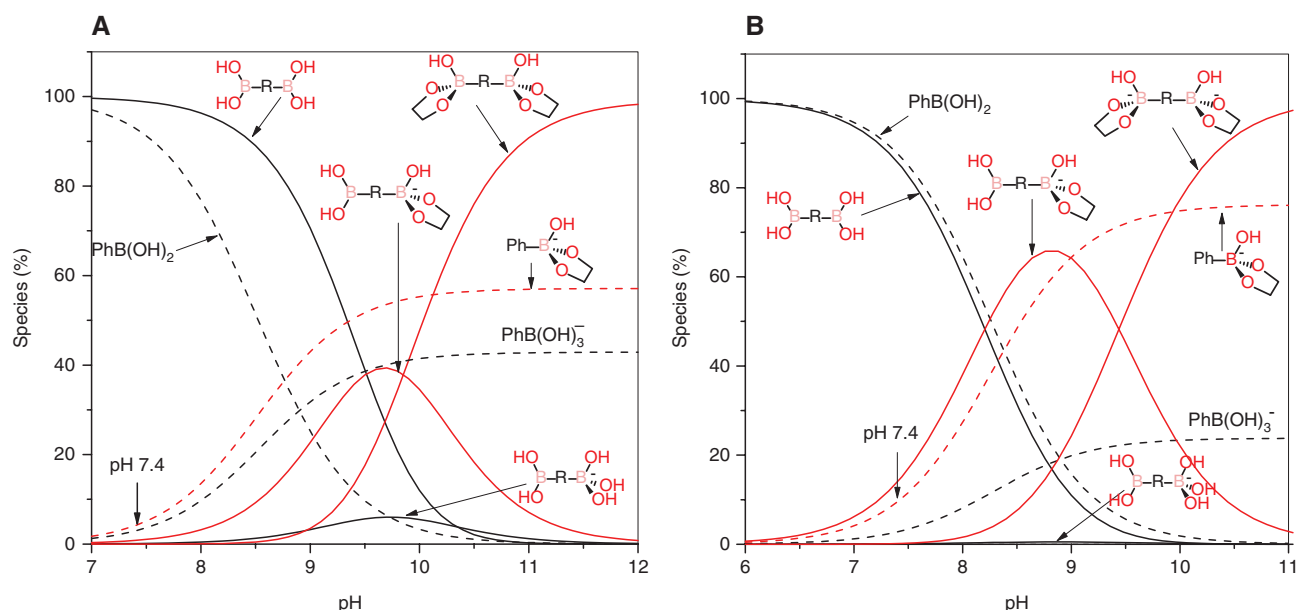


Figure 3 Species distribution diagrams for 0.1 mM receptor **1** in the presence of 10 mM glucose (A) or 1 mM fructose (B) in 50% v/v DMSO/water.

Red lines show the relative concentrations of boronate esters. Dashed lines show the distribution curves calculated for phenylboronic acid in water with the same concentrations of sugars.

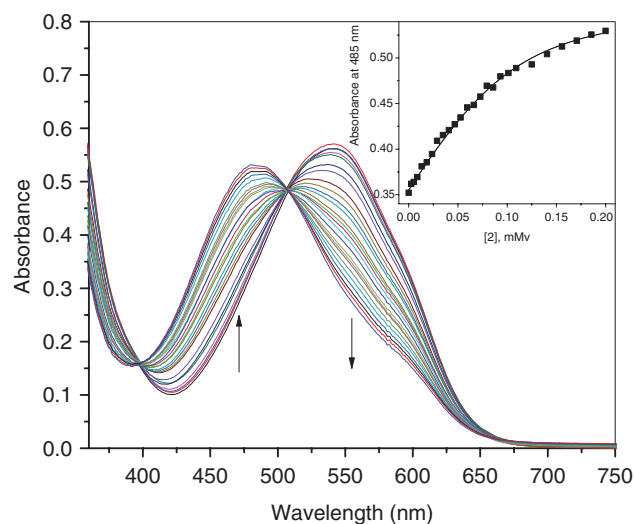


Figure 4 Spectrophotometric titration of 0.1 mM ARS with **1** in 50% v/v DMSO/water at pH 8.0.

The inset shows the fitting of titration profile at 485 nm to equation (4).

acid in water at pH 7.4, $K = 1.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ [23], is much lower. Additions of fructose to the mixture of **1** and ARS

$$A = A_0 + 0.5(\Delta\epsilon / [H]) ([H] + [G] + K^{-1} - (([H] + [G] + K^{-1})^2 - 4[H][G])^{0.5}) \quad (4)$$

were accompanied by restoration of the absorbance of free ARS and the calibration plot constructed at 555 nm at pH

8.0 showed a linear response to fructose concentration up to 8 mM with detection limit of 0.05 mM.

Anion recognition properties of **1–3** were studied by ^1H NMR titrations in $\text{DMSO-}d_6$. We chose two anions which represent two distinct types of anionic species: highly basic planar triangular AcO^- and low basic spherical Cl^- . Titration results for a monofunctional receptor **3** are shown in Figure 5. Both anions induce downfield shifts of the signals of NH protons and smaller downfield shifts of C-protons in *ortho* position of the phenyl ring (doublet at 7.92 ppm) together with small upfield shifts of the signals of *meta* and *para* protons of phenyl rings. Downfield shifts are indicative of hydrogen bonding, which therefore occurs as chelation of anions by NH and *ortho*-C-protons and upfield shifts reflect small electron donor inductive effect from the bound anion. Analysis of titration profiles by using a HypNMR program gives the association constants collected in Table 2 and the complexation induced shifts of the signals of NH protons at saturation 1.06 and 1.26 ppm for chloride and acetate anions, respectively. Titration results for bifunctional receptors **1** and **2** are shown in the respective Figures 6 and 7. Additions of acetate induce strong downfield shift in the signal of protons of $\text{B}(\text{OH})_2$ group characteristic of hydrogen bonding interaction and small upfield shifts in signals of aromatic protons of phenyl groups which can be attributed to an inductive effect of bound anion, but practically they do not affect the signals of

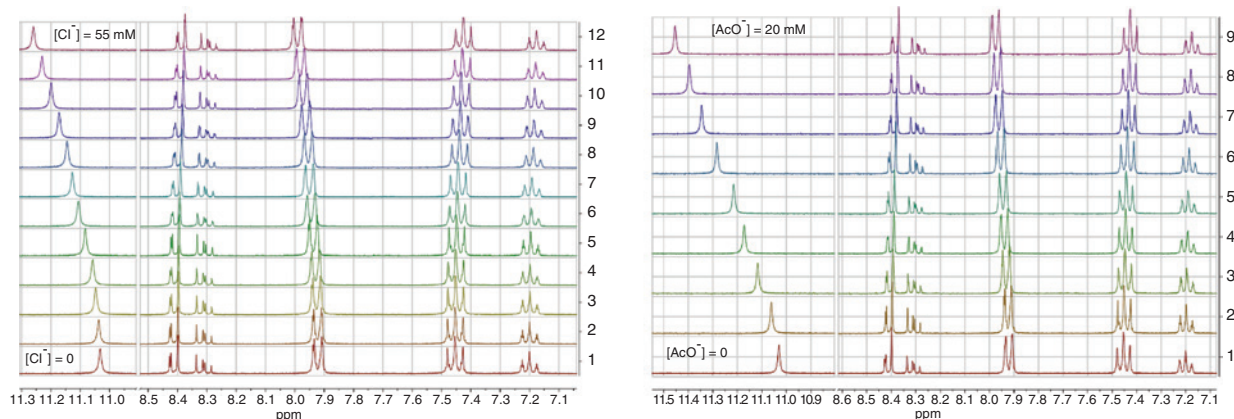


Figure 5 ^1H NMR titrations of 5 mM **3** by chloride (A) and acetate (B) anions in DMSO-d_6 . Spectra were recorded at increased concentrations of added anion as a tetrabutylammonium salt from bottom to top of the Figure.

Table 2 Complex formation constants for anions in DMSO.

Anion	K (M^{-1})			
	1	2	3	PhB(OH)_2^a
AcO $^-$	630 ± 50 ; 320 ± 30^b	3200 ± 300 ; 200 ± 20^b	33 ± 3	950
Cl $^-$	9.8 ± 0.8	3.6 ± 0.5 ; 12 ± 1^c	5.1 ± 0.9	60

^aData from Ref. [20].

^bFormation constants for the binding of first and second anion.

^cFormation constant calculated from the chemical shift of the protons of PhB(OH)_2 group.

NH protons. The fitting of titration results with HypNMR program allowed us to determine binding constants to both boronic acid groups given in Table 2. Formation constants for the first acetate anion are close to that reported for phenylboronic acid. Binding of the second anion has a smaller constant, apparently due to the electrostatic repulsion to the first bound anion. Binding of acetate to receptor **3** involves amide groups and occurs with much smaller binding constant (Table 2), however, in the range of acetate concentrations employed for titrations of **1** and **2** even with this binding constant the observed shift of the NH signal should be about 1 ppm. Thus, while affinity of boronic acid groups in **1** and **2** to acetate is approximately the same as that of phenylboronic acid, the dicarboxamide fragment loses the affinity to this anion.

Titration of **1** by chloride (Figure 6B) induces only small downfield shift of the signal of NH protons with the binding constant which is two times higher than that for **3**. Although chloride forms hydrogen bonded complex with phenyl boronic acid and with larger constant (Table 2)

no interaction with boronic acid group of **1** is observed. In the case of receptor **2** (Figure 7B) binding of chloride to dicarboxamide fragment occurs via hydrogen bonding to NH and *ortho*-CH (signal at 7.9 ppm experiencing significant downfield shift upon titration) in accordance with what is expected on basis of structure of the receptor (see above) and with the binding constant similar in limits of experimental errors to that for **3**. A small downfield shift of the signal of protons of boronic acid groups indicates hydrogen bonding of chloride but with much smaller stability constant than in the case of phenylboronic acid as receptor (Table 2).

In general, acetate shows clearly selectivity toward boronic acid and chloride preferably binds to dicarboxamide NH groups. At the same time with both monofunctional receptors **3** and phenylboronic acid, more basic acetate always forms more stable complexes which induces larger shifts of the NMR signals of the respective protons. Such behavior is typical for neutral hydrogen bonding anion receptors which discriminate anions mostly by their basicity. Using of bifunctional receptors allows less trivial discrimination of anions determined by the type of preferable interaction site.

Conclusions

The first examples of bifunctional receptors designed for recognition of sugars/polyols and anions demonstrate good efficiency of detection of both types of analytes. Selectivity of polyol recognition follows usual trend catechol > fructose > glucose and receptors may be employed as sensors in indicator displacement mode. Recognition sites for anions are not independent. Boronic acid responds to acetate and

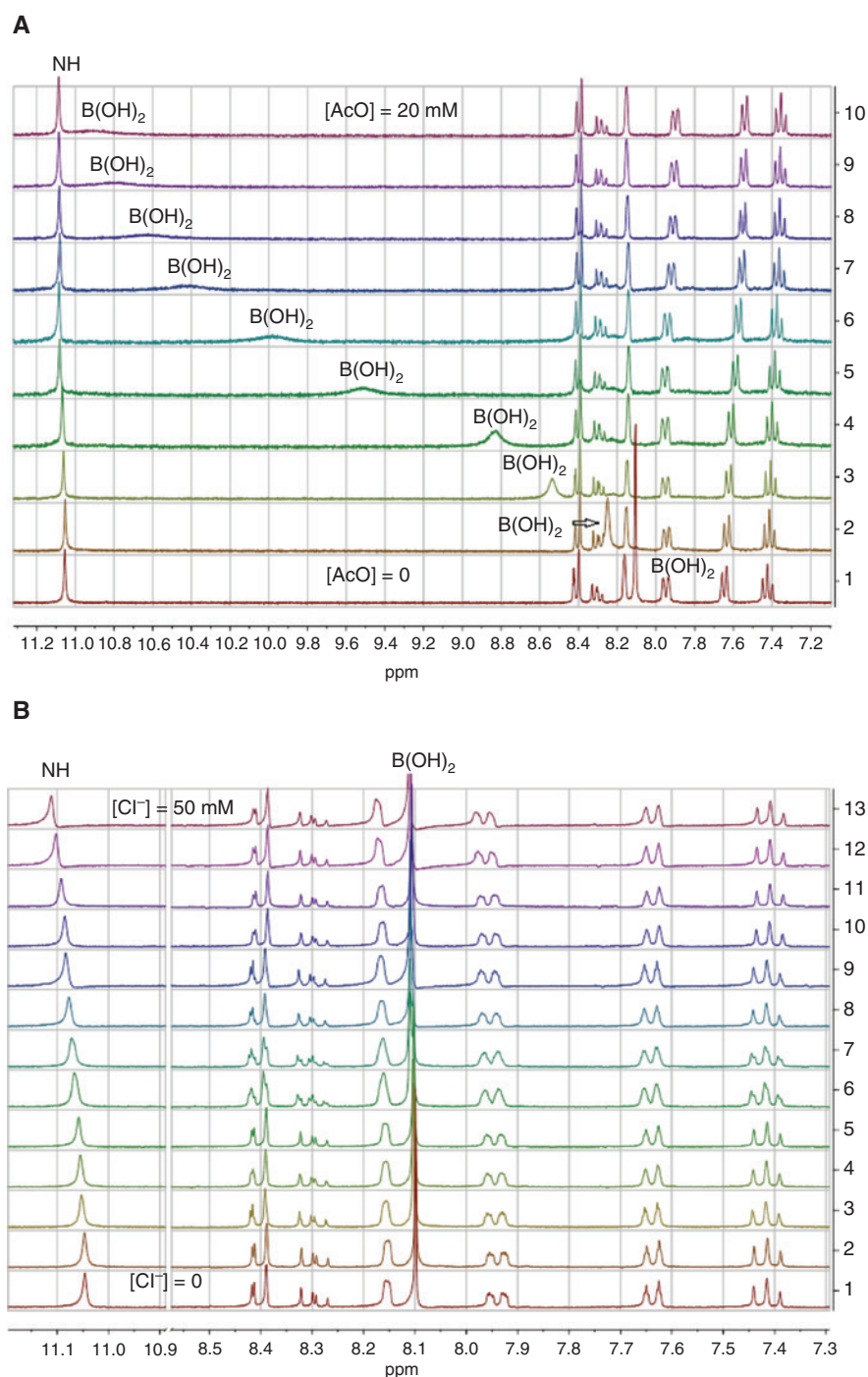


Figure 6 ^1H NMR titrations of 5 mM **1** by acetate (A) and chloride (B) anions in DMSO-d_6 . Spectra were recorded at increased concentrations of added anion as a tetrabutylammonium salt from bottom to top of the Figure.

the dicarboxamide fragment responds to chloride. This creates a different type of selectivity not based on anion basicity which usually is the principal factor in anion discrimination. Further progress in development of sugar/anion bifunctional sensors may be expected with more water soluble optically responsive receptors, which are currently in a process of design and screening in our laboratory.

Experimental

General procedure for the synthesis of compounds 1–3

A mixture of 2,6-pyridinedicarbonyl dichloride (50 mg, 0.25 mmol) and 3- or 4-aminophenylboronic acid (70 mg, 0.5 mmol) or aniline (47 mg, 0.5 mmol) in dry toluene was stirred under reflux in the

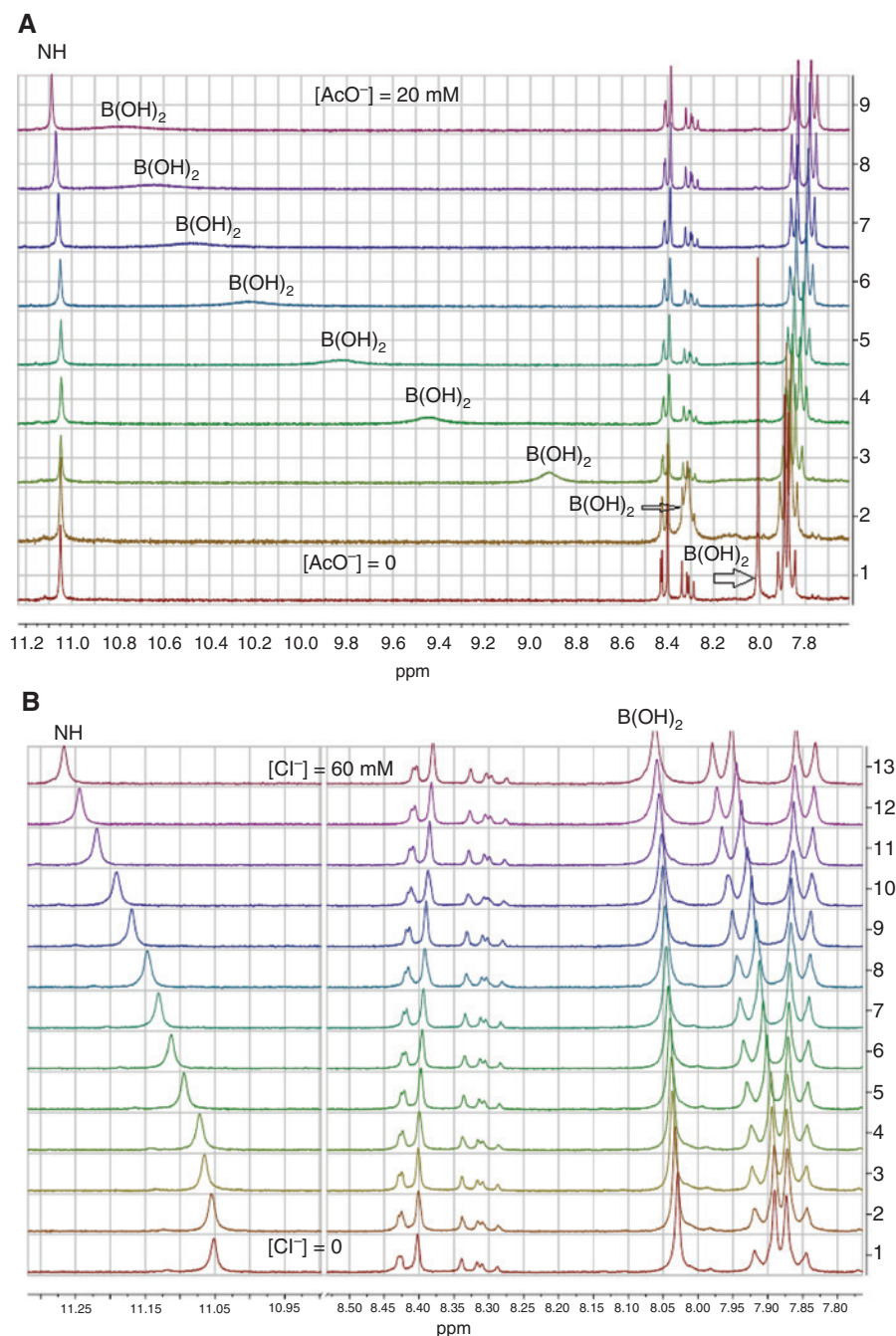


Figure 7 ^1H NMR titrations of 5 mM **2** by acetate (A) and chloride (B) anions in $\text{DMSO-}d_6$. Spectra were recorded at increased concentrations of added anion as a tetrabutylammonium salt from bottom to top of the Figure.

atmosphere of nitrogen for 4 h. The resultant precipitate was collected by filtration and washed with 3% NaHCO_3 aqueous solution and then with water to give **1–3** as a white powder in 92%–95% yield. Copies of ^1H and ^{13}C NMR spectra of compounds **1–3** are given in the online supplement.

[3-[[6-[(3-Boronophenyl)carbamoyl]pyridine-2-carbonyl]amino]phenyl]boronic acid (1) ^1H NMR (300 MHz, 25°C , $\text{DMSO-}d_6$): δ 11.06 (s, 2H), 8.42 (d, $J=7$ Hz, 2H), 8.30 (t, $J=9$ Hz, 1H), 8.16 (s, 2H), 8.11 (s, 4H), 7.93 (d, $J=9$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J=7$ Hz, 2H), 7.45

(t, $J=7$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, 25°C , $\text{DMSO-}d_6$): δ 161.7, 148.9, 139.8, 138.6, 137.1, 130.4, 127.7, 127.6, 125.2, 123.7; EI-MS: m/z 405 [M] $^+$; ATR-IR: ν_{max} 3382, 2977, 1355, 1398, 1141, 1087 cm^{-1} . Anal. Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{B}_2\text{N}_5\text{O}_6$: C, 56.35; H, 4.23; N, 10.38. Found: C, 56.37; H, 4.25; N, 10.75.

[4-[[6-[(4-Boronophenyl)carbamoyl]pyridine-2-carbonyl]amino]phenyl]boronic acid (2) ^1H NMR (300 MHz, 25°C , $\text{DMSO-}d_6$): δ 11.05 (s, 2H), 8.43 (d, $J=7.1$ Hz, 2H), 8.30 (t, $J=8.7$ Hz, 1H 1H), 8.01 (s, 4H), 7.89 (m, 8H); ^{13}C NMR (75 MHz, 25°C , $\text{DMSO-}d_6$): δ 161.9,

148.8, 140.9, 140.0, 135.2, 125.6, 124.1, 119.9; EI-MS: m/z 405 [M]⁺; ATR-IR: ν_{\max} 3299, 2976, 1675, 1586, 1356, 1139 cm⁻¹. Anal. Calcd for C₁₉H₁₇B₂N₃O₆: C, 56.35; H, 4.23; N, 10.38. Found: C, 56.38; H, 4.29; N, 10.29.

N²,N⁶-diphenylpyridine-2,6-dicarboxamide(3) ¹H NMR(300 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆): δ 11.04 (s, 2H), 8.43 (d, $J=8$ Hz, 2H), 8.30 (t, $J=9$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J=9$ Hz, 4H), 7.45 (t, $J=8$ Hz, 4H), 7.20 (t, $J=8$ Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆): δ 161.6, 148.9, 139.9, 138.0, 128.8, 125.3, 124.3, 121.4; EI-MS: m/z 317 [M]⁺; ATR-IR: ν_{\max} cm⁻¹ 3270, 1672, 1659, 1533, 1533, 1079 cm⁻¹. Anal. Calcd for C₁₉H₁₅N₃O₂: C, 71.91; H, 4.76; N, 13.24. Found: C, 71.98; H, 4.79; N, 13.19.

Crystallography

The relevant details of the crystals, data collection and structure refinement can be found in Table S1 (Supporting Information). Data for dipinacol ester of **2** crystalized from methanol were collected on a Bruker APEX II CCD diffractometer at 100 K, using Mo-K α radiation ($k=0.71073$ Å) from an Incoatec ImuS source and Helios optic monochromator [29]. Suitable crystals were coated with hydrocarbon oil, picked up with a nylon loop, and mounted in the cold nitrogen stream of the diffractometer. The structures were solved by direct methods [30] and refined by full-matrix least-squares on F2 using the shelXle GUI [31, 32]. The hydrogen atoms of the C–H bonds were placed in idealized positions whereas the hydrogen atoms from the N–H, O–H moieties were localized from the difference electron density map, and their position was refined with $U_{\text{iso}} = aU_{\text{eq}}$ (where a is 1.5 for –CH₃ and –OH moieties and 1.2 for others). X-ray crystallographic data in CIF format are available in Supporting Information.

Potentiometry

Potentiometric titrations were performed in a 25 mL cell kept under nitrogen at 25 ± 0.1°C with 0.1 M NaCl as background electrolyte. Aqueous DMSO solutions (50% v/v) of receptors **1** or **2** (2 mM) alone and in the presence of sugar (glucose or fructose 0.2 M) were employed. The pK_a values of all components were determined independently by potentiometric titrations under the same conditions and were used as fixed parameters in the fitting of results for the mixtures. Experimental details and procedure for the electrode calibration have been previously described [33]. The program Hyperquad 2008 [34, 35] was used to calculate all equilibrium constants.

¹H NMR titrations

To a 5 mM solution of the receptor **1** or **2** in DMSO-*d*₆ were added portions of concentrated solution of tetrabutylammonium salts of anions (AcO⁻ or Cl⁻) in the same solvent and the mixture was incubated for 2 min after each addition before recording the spectrum. The observed equilibrium constants of the complex formation (K) were calculated from the profiles of the chemical shift δ versus salt concentration by fitting to the HypNMR program. The signals of B–OH or NH protons in the receptor were used for the fitting.

Acknowledgments: Mayte A. Martínez-Aguirre thanks CONACyT for the doctoral fellowship (271108). We thank M.Sc. María de la Nieves Zavala Segovia for technical assistance. The financial support of this research by CONACyT (281251, CB239648, PDCPN247495) and FQ-UNAM-PAIP is gratefully acknowledged. T. T.-B. and M. L. A.-H. are grateful to DGAPA-UNAM for scholarships.

References

- [1] de Silva, A. P. Analytical chemistry: sense and versatility. *Nature*, **2007**, *445*, 718–719.
- [2] Chhatwal, M.; Kumar, A.; Singh, V.; Gupta, R. D.; Awasthi, S. K. Addressing of multiple-metal ions on a single platform. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *292*, 30–55.
- [3] Gupta, V. K.; Mergu, N.; Kumawat, L. K. A new multifunctional rhodamine-derived probe for colorimetric sensing of Cu(II) and Al(III) and fluorometric sensing of Fe(III) in aqueous media. *Sensors Actuators B*, **2016**, *223*, 101–113.
- [4] Schmittel, M.; Lin, H.-W. Quadruple-channel sensing: a molecular sensor with a single type of receptor site for selective and quantitative multi-ion analysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 893–896.
- [5] Gale, P. A.; Howe, E. N. W.; Wu, X. Anion receptor chemistry. *Chem.* **2016**, *1*, 351–422.
- [6] Gale, P. A.; Busschaert, N.; Haynes, C. J. E.; Karagiannidis, L. E.; Kirby, I. L. Anion receptor chemistry: highlights from 2011 and 2012. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 205–241.
- [7] Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Rossom, W. V.; Gale, P. A. Applications of supramolecular anion recognition. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8038–8155.
- [8] Yan, J.; Fang, H.; Wang, B. Boronolectins and fluorescent boronolectins: an examination of the detailed chemistry issues important for the design. *Med. Res. Rev.* **2005**, *25*, 490–520.
- [9] James, T. D.; Phillips, M. D.; Shinkai, S. Boronic Acids in Saccharide Recognition; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2006.
- [10] Kavallieratos, K.; Bertao, C. M.; Crabtree, R. H. Hydrogen bonding in anion recognition: a family of versatile, nonpreorganized neutral and acyclic receptors. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1675–1683.
- [11] Kumar, P.; Gupta, R. The wonderful world of pyridine-2,6-dicarboxamide based scaffolds. *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 18769–18783.
- [12] Caltagirone, C.; Bazzicalupi, C.; Bencini, A.; Isaia, F.; Garau, A.; Lippolis, V. Anion recognition properties of pyridine-2,6-dicarboxamide and isophthalamide derivatives containing L-tryptophan moieties. *Supramol. Chem.* **2012**, *24*, 95–100.
- [13] Chmielewski, M. J.; Jurczak, J. Anion recognition by neutral macrocyclic amides. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6080–6094.
- [14] Kang, S. O.; Begum, R. A.; Bowman-James, K. Amide-based ligands for anion coordination. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7882–7894.
- [15] Chmielewski, M. J.; Zielinski, T.; Jurczak, J. Synthesis, structure, and complexing properties of macrocyclic receptors for anions. *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79*, 1087–1096.

- [16] Galbraith, E.; James, T. D. Boron based anion receptors as sensors. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3831–3842.
- [17] Guo, Z.; Shin, I.; Yoon, J. Recognition and sensing of various species using boronic acid derivatives. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5956–5967.
- [18] Wade, C. R.; Broomsgrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbai, F. P. Fluoride ion complexation and sensing using organoboron compounds. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3958–3984.
- [19] Peters, J. A. Interactions between boric acid derivatives and saccharides in aqueous media: Structures and stabilities of resulting esters. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- [20] Martínez-Aguirre, M. A.; Yatsimirsky, A. K. Brønsted versus Lewis Acid Type Anion Recognition by Arylboronic Acids. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4985–4993.
- [21] Dorazco-Gonzalez, A.; Hopfl, H.; Medrano, F.; Yatsimirsky, A. K. Recognition of anions and neutral guests by dicationic pyridine-2,6-dicarboxamide receptors. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2259–2273.
- [22] Lorand, J. P.; Edwards, J. O. Polyol complexes and structure of the benzenboronate ion. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769–774.
- [23] Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. A detailed examination of boronic acid–diol complexation. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291–5300.
- [24] Martínez-Aguirre, M. A.; Villamil-Ramos, R.; Guerrero-Alvarez, J. A.; Yatsimirsky, A. K. Substituent effects and pH profiles for stability constants of arylboronic acid diol esters. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4674–4684.
- [25] Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165–195.
- [26] Martínez-Aguirre, M. A.; Del Campo, J. M.; Escalante-Tovar, S.; Yatsimirsky, A. K. Self-assembly and recognition properties of a tetraanionic macrocyclic boronate ester in aqueous medium. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 30075–30083.
- [27] Bosch, E.; Fonrodona, G.; Rafols, C.; Rosés, M. Autoprotolysis in aqueous organic solvent mixtures. Water/dipolar protophilic solvent binary systems. *Anal. Chim. Acta* **1997**, *349*, 367–376.
- [28] Springsteen, G.; Wang, B. Alizarin Red S. as a general optical reporter for studying the binding of boronic acids with carbohydrates. *Chem. Commun.* **2001**, 1608–1609.
- [29] Bruker, APEX 2, (Ver. 1.0-22), Bruker AXS Inc.: Madison, Wisconsin, USA, 2004.
- [30] Sheldrick, G. M. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr. Sect. A*, **2008**, 112–122.
- [31] Hübschle, C. B.; Sheldrick, G. M.; Dittrich, B. ShelXle: a Qt graphical user interface for SHELXL. *J. Appl. Crystallogr.* **2011**, *44*, 1281–1284.
- [32] Sheldrick, G. M. SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement; University of Göttingen: Germany, 1997.
- [33] Sánchez-Lombardo, I.; Yatsimirsky, A. K. Simplified speciation and improved phosphodiesterolytic activity of hydroxo complexes of trivalent lanthanides in aqueous DMSO. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 2514–2525.
- [34] Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta* **1996**, *43*, 1739–1753.
- [35] Alderighi, L.; Gans, P.; Ienco, A.; Peters, D.; Sabatini, A.; Vacca, A. Hyperquad simulation and speciation (HySS): a utility program for the investigation of equilibria involving soluble and partially soluble species. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 311–318.

Supplemental Material: The online version of this article (DOI: 10.1515/hc-2017-0054) offers supplementary material, available to authorized users.