



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAestrÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**Receptores artificiales fluorescentes para neurotransmisores  
basados en complejos catiónicos de Cu(II) con ácidos borónicos**

**TESIS**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**Q. CINTHIA LAURA HERNÁNDEZ JUÁREZ**

**DR. ALEJANDRO DORAZCO GONZÁLEZ**

**Instituto de Química UNAM**

**CIUDAD DE MÉXICO, ENERO 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**Receptores artificiales fluorescentes para neurotransmisores  
basados en complejos catiónicos de Cu(II) con ácidos borónicos**

**TESIS**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**Q. CINTHIA LAURA HERNÁNDEZ JUÁREZ**



Ciudad de México, enero 2019

# Jurado

<b>Presidente</b>	Dra. Silvia Elena Castillo Blum
<b>Vocal</b>	Dr. David Morales Morales
<b>Vocal</b>	Dr. Hugo Morales Rojas
<b>Vocal</b>	Dr. José Guadalupe López Cortés
<b>Secretario</b>	Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla



**Sustentante**

Q. Cinthia Laura Hernández Juárez



**Tutor**

Dr. Alejandro Dorazco González

A mis papás,  
por su apoyo incondicional y  
por creer en mí a pesar de todo.

A mis hermanos Aby y Luis,  
que me brindan alegría, que son  
mi motivación y me impulsan  
a seguir ante cualquier adversidad.

El desarrollo experimental de esta tesis se llevó a cabo en el laboratorio 1 de Química Inorgánica del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEMéx-UNAM.

Este trabajo se presentó en la modalidad póster en el Simposio Interno del Instituto de Química 2018 obteniendo el primer lugar a nivel maestría y en el 13<sup>th</sup> International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry llevado a cabo del 8 al 13 de julio en Québec, Canadá.

## Agradecimientos

A la **UNAM** por la oportunidad de estudiar un posgrado y por todos los servicios brindados.

Al **CONACyT** por la beca No. 606121 otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A los proyectos: Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales-CONACyT **PDCPN-247495**, Ciencia Básica-CONACyT **CB-239648**, Investigación e Innovación Tecnológica **PAPIIT-UNAM IA203717** y Fronteras de la Ciencias 2015-CONACyT **ID-179** por el financiamiento otorgado a nuestro grupo de investigación.

Al **Dr. Alejandro Dorazco González** por el apoyo y asesoría para el desarrollo de este trabajo, por darme la confianza de seguir formando parte de su grupo de investigación y por todas las facilidades otorgadas para que pudiera asistir a un congreso en el extranjero.

A la **M. en C. María de las Nieves Zavala Segovia** por su amable atención y excepcional disposición para llevar a cabo los estudios de RMN, así como por su valiosa asesoría para el análisis de estos.

Al **Dr. Diego Martínez Otero** por su excelente disposición para la realización de los estudios de difracción de rayos X de monocristal.

A la **M. en C. Lizbeth Triana Cruz** y la **M. en C. Melina Tapia Tapia** por las facilidades y ayuda otorgada para la realización de los estudios de IR y EM.

A la **M. en C. Virginia Gómez Vidales** por su amable atención, disposición y excelente asesoría en la obtención e interpretación de los espectros de EPR.

A los miembros del jurado, por todas sus observaciones y sugerencias para mejorar esta tesis, así como su amable atención:

Presidente	<b>Dra. Silvia Castillo Blum</b>
Vocal	<b>Dr. David Morales Morales</b>
Vocal	<b>Dr. Hugo Morales Rojas</b>
Vocal	<b>Dr. José Guadalupe López Cortés</b>
Secretario	<b>Dra. Martha Verónica Escárcega Bobadilla</b>

Al **Programa de maestría y doctorado en ciencias químicas** por el apoyo económico PAEP para asistir al 13<sup>th</sup> International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry.

A mis amigos **Mayeli Mondragón, Mariana Nicolás** y **Luis Manuel Tobón** por su apoyo e incondicional amistad, ojalá que la vida nos permita seguir formando historias y recuerdos juntos, gracias por creer en mí más de lo que quizá me creo capaz de lograr, por todos sus ánimos y los momentos divertidos que me han compartido.

A **Alfonso Soto** por impulsarme a confiar más en mí, por estar ahí hasta en mis peores momentos, gracias por cuidarme y compartirme un pedacito de tu vida.

A los amigos que encontré durante esta travesía **Karina Salomón, Teresa Torres, Iván Bazany, José Carlos Rendón, Angélica Vidal, Nancy Moreno, Misael Olivera** y **Tita L. Pacheco**, gracias por su agradable compañía y apoyo, por sus buena vibras y los consejos que me otorgaron.

A los amigos que conocí en el posgrado **Olivia Pérez** y **Manuel Rodríguez**, con quienes fue un placer convivir y compartir ideas.

A la familia **Padilla Medrano** por su apoyo desinteresado durante mi estancia en Canadá.



# CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>Capítulo 1 Marco teórico</b> .....	5
1. Química supramolecular .....	5
2. Reconocimiento molecular .....	5
2.1 Interacciones intermoleculares no covalentes .....	6
2.2 Enlaces covalentes dinámicos .....	9
2.3 Enlace de coordinación .....	10
3. Quimiosensores .....	11
3.1 Quimiosensores fluorescentes .....	12
3.1.1 Principios teóricos de la fluorescencia .....	13
3.2 Clasificación de sensores fluorescentes por su diseño .....	14
3.3 Mecanismos de respuesta óptica .....	16
3.3.1 Transferencia electrónica fotoinducida (PET) .....	16
3.3.2 Transferencia de carga fotoinducida (PCT) .....	17
3.3.3 Transferencia de energía (ET) .....	18
<b>Capítulo 2 Antecedentes</b> .....	19
1. Complejos de cobre(II) como receptores metálicos .....	20
2. Ácidos borónicos y su uso en reconocimiento molecular .....	24
3. Receptores heteroditópicos para analitos biológicos .....	29
4. Neurotransmisores y receptores para catecolaminas .....	31
<b>OBJETIVOS</b> .....	37
<b>HIPÓTESIS</b> .....	37
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	38
<b>Capítulo 3 Desarrollo experimental</b> .....	39
1. Reactivos y disolventes .....	39
2. Instrumentación .....	39
3. Síntesis .....	41
3.1 Síntesis del intermediario <b>TIQ</b> .....	42
3.2 Síntesis de los ligandos <b>L-o</b> y <b>L-m</b> .....	43
3.3 Obtención de los receptores <b>CS-o</b> y <b>CS-m</b> .....	44
4. Obtención de monocristales .....	45
4.1 Cristalización de <b>L-o</b> .....	45

4.2 Cristalización de <b>CS-m</b> .....	45
5. Propiedades ácido-base de <b>L-o</b> y <b>L-m</b> .....	45
6. Estudios de reconocimiento molecular.....	45
6.1 Titulaciones ligante-analito.....	47
6.2 Titulaciones ligante-cobre.....	47
6.3 Titulaciones receptor-analito.....	47
<b>Capítulo 4 Resultados y discusión</b> .....	49
1. Caracterización.....	49
1.1 <b>L-m</b> .....	50
1.2 Evidencias de la formación de <b>CS-o</b> y <b>CS-m</b> .....	56
2. Análisis estructural en estado sólido.....	58
2.1 <b>L-o</b> .....	59
2.2 <b>CS-m[cloroformo]</b> .....	65
2.3 <b>CS-o[acetona]</b> .....	70
3. Propiedades ácido-base de los ligantes.....	76
4. Estudios de reconocimiento molecular.....	79
4.1 Titulaciones ligante-analito.....	79
4.2 Titulaciones ligante-Cu <sup>2+</sup> .....	85
4.3 Titulaciones receptor-analito.....	89
<b>CONCLUSIONES</b> .....	97
<b>ANEXOS</b> .....	99
<b>REFERENCIAS</b> .....	105

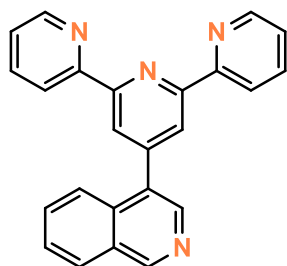
## Abreviaturas

[A]	Concentración del analito
[R] <sub>0</sub>	Concentración del receptor
$\alpha$	Ángulo
°C	Grado Celsius
1/ $\lambda$	Número de onda
2D	Bidimensional
Å	Ángstrom
AcEt	Acetato de Etilo
A <sub>  </sub>	A paralela
CD <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo deuterado
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
CEF	Incremento de la Fluorescencia por quelatación
CEQ	Incremento del amortiguamiento de la fluorescencia por quelatación
C <sub>g</sub>	Centroide
CO(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> /Ac	Acetona
COSY	COrrrelation SpectroscopY
d	Doblete
dd	Doblete de dobletes
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
DOPAC	Ácido 3,4-dihidroxifenilacético
EM	Espetrometría de masas
EPR	Resonancia Paramagnética Electrónica
eq.	Equivalente
ESI	Ionización por electrospray
ET	Transferencia de energía
EtOH	Etanol
G-6-P	Glucosa-6-fosfato
g <sub>  </sub>	G paralela
g <sub>⊥</sub>	G perpendicular
His	Histidina

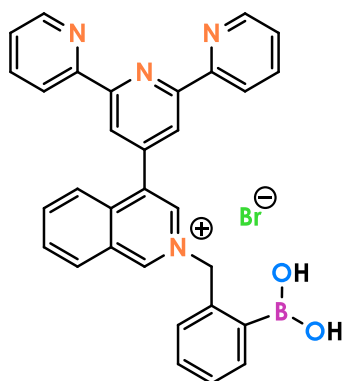
HOMO	Orbital molecular ocupado de más alta energía
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HSQC	Heteronuclear Simple Quantum Correlation
I	Intensidad de fluorescencia
$I_0$	Intensidad de fluorescencia inicial
IDAs	Ensayos de desplazamiento de indicador
IE	Ionización por impacto electrónica
IR-ATR	Infrarrojo-Reflexión total atenuada
K	Kelvin
$K_{ass}$	Constante de asociación
$K_c$	Constante de complejación
kcal	Kilocaloría
L-DOPA	L-3,4 dihidroxifenilalanina
log	Logaritmo
LUMO	Orbital molecular desocupado de más baja energía
Lys	Lisina
m	Multiplete
m/z	Relacion masa carga
MeCN/CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo
MeOD	Metanol deuterado
MeOH/CH <sub>3</sub> OH	Metanol
MES	Ácido 2-(N-morfolín)etanosulfónico
MHz	Megahertz
mL	Millilitro
mmol	Milimol
MOM	Metoximetil
MOPS	Ácido 3-(N-mofolín)propanosulfónico
mT	Militeslas
nm	Nanometro
Ome	Metoxi
PCT	Transferencia de carga foto inducida
PET	Transferencia electrónica fotoinducida
pH	Potencial de hidrógeno
pKa	Constante de acidez
ppm	Partes por millón

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Segundo/ en RMN singulete
SP	Pirámide de base cuadrada
T	Temperatura
t	Triplete
TBP	Bipirámide trigonal
td	Triplete de dobles
Tyr	Tirosina
u.a.	Unidades arbitrarias
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
V	Volt
X	Halógeno
$\delta$	Desplazamiento químico
$\lambda$	Longitud de onda
$\lambda_{em}$	Longitud de onda de emisión
$\lambda_{ex}$	Longitud de onda de excitación
$\mu\text{M}$	Micromolar
$\mu\text{S}$	Microsiemens

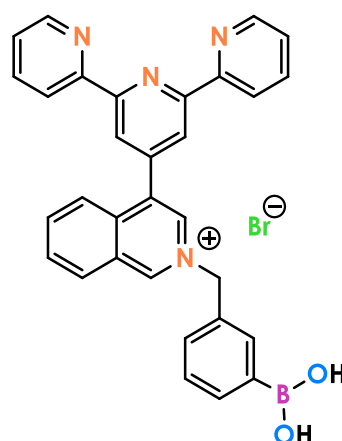
## Estructuras químicas y acrónimos de los compuestos sintetizados



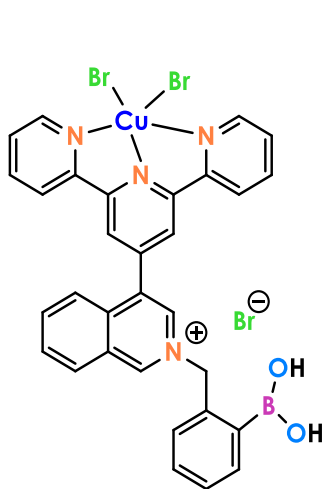
**TIQ**



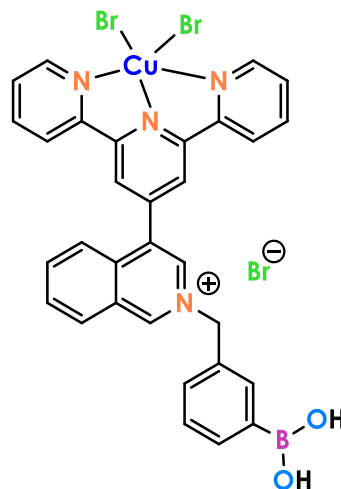
**L-o**



**L-m**

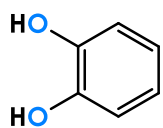


**CS-o**

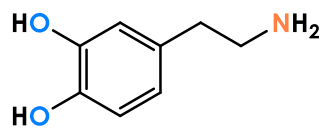


**CS-m**

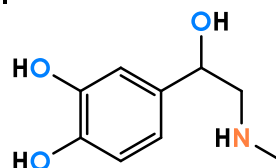
## Analitos empleados en los estudios de reconocimiento molecular



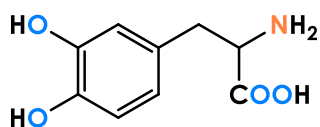
Pirocatecol



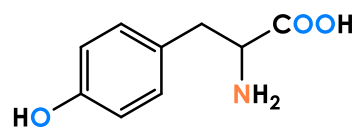
Dopamina



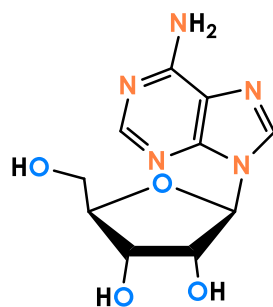
Epinefrina



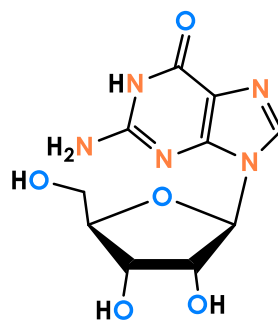
L-DOPA



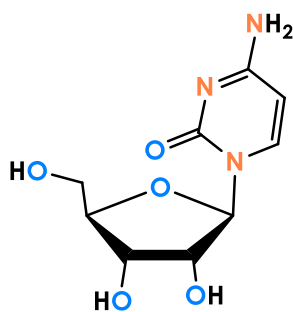
Tirosina



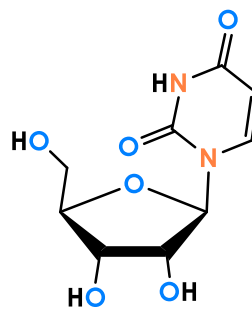
Adenosina



Guanosina



Citidina



Uridina

## RESUMEN

Dos nuevos complejos de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina con emisión fluorescente azul ( $\lambda_{em} = 400 \text{ nm}$ ) conteniendo en su estructura química fragmentos catiónicos de *N*-bencil isoquinolinio y dos diferentes isómeros de ácido fenilborónico (orto-, **CS-o** y meta-, **CS-m**) fueron sintetizados y estudiados como quimiosensores luminiscentes para una serie de neurotransmisores basados en catecolaminas (L-DOPA, dopamina, epinefrina) y analitos relacionados estructuralmente (tirosina, pirocatecol).

Los complejos tienen la fórmula general  $[\text{CuL}(-\mathbf{o},-\mathbf{m})\text{Br}_2]\text{Br}$ , (**L-o**= bromuro de 4-([2,2':6',2''-terpiridin]-4'-il)-2-(2-boronobenzil)isoquinolinio y **L-m**= bromuro de 4-([2,2':6',2''-terpiridin]-4'-il)-2-(3-boronobenzil)isoquinolinio) fueron caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{11}\text{B}$  RMN, IR-ATR, MS) y difracción de rayos-X de monocristal para el ligante **L-o** y el complejo  $[\text{CuL-mBr}_2]\text{Br}$ , **CS-m**.

Los valores de  $\text{pK}_a$  del ácido fenilborónico en **L-o** y **L-m** fueron determinados en 7.18 y 7.19 respectivamente, lo cual es considerablemente más bajo comparado con el ácido fenilborónico neutro. Se realizaron estudios de reconocimiento molecular de los ligantes **L-o** y **L-m** con catecolaminas (L-DOPA, dopamina, epinefrina), tirosina, pirocatecol y nucleósidos (adenosina, guanosina, citidina y uridina), estos estudios mostraron una respuesta basada en una fuerte extinción de la emisión fluorescente de los ligantes tras la adición de pirocatecol y los derivados de catecolaminas, un cambio modesto con los nucleósidos y no se manifestó cambio significativo en presencia de tirosina, indicando que la presencia de grupos diol es importante para el reconocimiento de los analitos.

Con fundamento en los resultados obtenidos en las titulaciones ligante-analito, se realizaron titulaciones fluorimétricas de los receptores **CS-o** y **CS-m** con los analitos que mostraron mayor selectividad relativa con ambos ligantes. En general ambos receptores tienen una respuesta analítica rápida basada en la extinción de su emisión azul por adición de los derivados de catecolaminas, la adición de pirocatecol genera disminución de su fluorescencia, pero considerablemente menor comparada con estas. En contraste, la adición de tirosina muestra un ligero aumento de la fluorescencia.

Para los neurotransmisores, las constantes de asociación fueron determinadas en un intervalo de  $\log K_{ass} = 7.15 \pm 0.01 - 5.83 \pm 0.01$  para el quimiosensor **CS-m**, derivado del isómero meta del ácido fenilborónico, con selectividad a L-DOPA. Por otra parte, isómero orto, **CS-o** se observó la



formación de un complejo estable con epinefrina ( $\log K_{\text{ass}} = 6.0 \pm 0.02$ ) y un orden de selectividad epinefrina  $\sim$  L-DOPA  $>$  dopamina  $>$  pirocatecol  $>$  tirosina. A partir de los estudios espectroscópicos  $^{11}\text{B}$  RMN, EPR, titulaciones espectroscópicas de absorción y emisión fluorescente se propone un modo de unión quimiosensor-catecolamina a través de dos sitios de asociación simultáneos que incluyen la esterificación reversible del ácido fenilborónico con los grupos diol y la coordinación de los grupos *N*-donadores de la catecolamina al centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$ . La alta afinidad de los receptores por L-DOPA y epinefrina se atribuye a la fuerte acidificación del ácido borónico, resultado de la cuaternización del fragmento de isoquinolina en combinación con la coordinación de los grupos amina, específicamente de L-DOPA y epinefrina al centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$ . Sobre las bases de RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$ ), EPR, UV-Vis y espectroscopia de emisión fluorescente se propone un mecanismo de transferencia fotoelectrónica inducida con complejación simultánea quimiosensor-analito tanto en el estado excitado como en el estado basal para la extinción de la emisión.

Adicionalmente se estudió la estabilidad de los ligandos **L-o** y **L-m** con iones  $\text{Cu}^{2+}$  a través de espectroscopia de UV-Vis, emisión fluorescente y  $^{11}\text{B}$  RMN en medios acuosos. Las constantes de estabilidad fueron determinadas en  $\log K_c = 5.91$  y  $6.18$  para **L-o** y **L-m** respectivamente, con un modelo de unión 1:1 a través de la coordinación del fragmento de terpiridina al  $\text{Cu}^{2+}$ , la cual fue soportada por la estructura cristalina del complejo **CS-m**.

En general, estos resultados destacan la utilidad de una nueva serie de receptores metálicos fluorescentes conteniendo ácidos borónicos para el reconocimiento y detección selectiva de analitos biológicos derivados de catecoles con grupos *N*-donadores.

# INTRODUCCIÓN

La Química Supramolecular es un área altamente interdisciplinaria que ha experimentado un desarrollo vertiginoso gracias a la utilización de herramientas aportadas por otras áreas de la química e incluso de la ciencia de materiales. Este concepto fue introducido en 1978 por el premio nobel Jean-Marie Lehn, quien define una supramolécula como una entidad compleja organizada que se crea a partir de la asociación de dos o más especies, las cuales se encuentran unidas por fuerzas intermoleculares (por ejemplo: enlaces de hidrógeno, interacciones aromáticas, fuerzas de van der Waals, etc.).<sup>[1]</sup>

El reconocimiento molecular, también conocido como química “huésped-anfitrión”, es la base de la química supramolecular debido a que la construcción de cualquier sistema supramolecular involucra una combinación molecular selectiva para el establecimiento de interacciones entre dos entidades. En este contexto, un anfitrión se define como una entidad molecular que posee sitios de unión convergentes, mientras que el huésped posee sitios de unión divergentes, a su vez, un sitio de enlace se define como una región del anfitrión o huésped capaz de participar en una interacción no covalente.<sup>[2]</sup> El reconocimiento molecular constituye la base de diversos procesos biológicos, por ejemplo, la unión de un sustrato a una proteína, reacciones enzimáticas, la asociación antígeno-anticuerpo, la señal de inducción nerviosa que generan los neurotransmisores, el reconocimiento celular, etc.

De esta manera, surge el interés de crear sistemas huésped-anfitrión para la detección y/o captura de especies específicas, desarrollando así moléculas de origen abiótico que indiquen la presencia de materia o energía por medio de una señal medible, llamadas quimiosensores o sensores moleculares.<sup>[3]</sup> Es por ello que el presente trabajo está enfocado en el diseño y síntesis de nuevos complejos fluorescentes basados en sales de isoquinolinio, unidas covalentemente a un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina y derivados de ácidos fenilborónicos, así como su uso como receptores asimétricos heteroditópicos para catecolaminas con importancia biológica, en medio acuoso y pH neutro.

Esta tesis se encuentra dividida en diversos capítulos: *marco teórico*, *antecedentes*, *desarrollo experimental*, *resultados* y *discusión*, *conclusión* y *anexos*, con la finalidad de cubrir los lineamientos del método científico.

El primer capítulo, *marco teórico*, presenta los fundamentos químicos bajo los cuales se realizó el planteamiento del proyecto, menciona generalidades de la química supramolecular analítica que van desde las interacciones no covalentes hasta los mecanismos de respuesta en sensores ópticos. El capítulo *antecedentes* recopila y describe brevemente una serie de receptores basados en el uso de complejos de cobre con ligantes tridentados y de ácidos borónicos informados para el reconocimiento de bioanalitos, así mismo, presenta algunos ejemplos de receptores heteroditópicos y receptores destinados al reconocimiento de catecolaminas.

La descripción de las reacciones químicas realizadas, así como condiciones generales de experimentación y los procedimientos seguidos para los estudios de reconocimiento molecular se encuentran en el *desarrollo experimental*. El capítulo *resultados y discusión* recopila toda la información relevante obtenida en el desarrollo del presente proyecto, así como la justificación de estos. Finalmente se presentan las *conclusiones* y los *anexos*, que incluyen aquellos estudios espectroscópicos realizados no mostrados en el capítulo de resultados.

# Capítulo 1 Marco teórico

## 1. Química supramolecular

Las moléculas son creadas por átomos unidos covalentemente, sin embargo, es sabido que muchas de estas entidades individuales con diferente tamaño y estructura pueden interactuar entre sí para pasar de una estructura muy simple a una de alta masa molecular, originando así sistemas moleculares sofisticados. En estos casos, aunque entendamos la naturaleza y propiedades de las entidades individuales, esto no será suficiente para explicar la estructura y función de los ensamblados moleculares que son resultado de la organización de las moléculas individuales. De este modo nace la química supramolecular que cubre tanto aspectos químicos, como físicos y biológicos, de las especies químicas de complejidad más grande que las moléculas mismas. En otras palabras, se enfoca en ensamblados moleculares construidos mediante interacciones intermoleculares.

La química supramolecular es un área interdisciplinaria y ha contribuido en el desarrollo de las ciencias analíticas, a través de los conceptos de reconocimiento molecular, afinidad y selectividad, entre otros. La combinación de estas dos áreas ha dado como resultado el surgimiento de una nueva área de investigación: la química analítica supramolecular. Este término fue usado por primera vez por Eric Anslyn<sup>[4]</sup>, en su definición menciona que estudia el intercambio dinámico de estructuras químicas sintéticas que crean ensamblajes, los cuales provocan cambios en una señal medible al agregar analitos.

## 2. Reconocimiento molecular

El reconocimiento molecular o química Huésped-Anfitrión, es la base de la química supramolecular debido a que la construcción de cualquier sistema de este tipo involucra una asociación molecular selectiva. El reconocimiento molecular es el fenómeno químico mediante el cual una especie iónica o neutra (huésped) se asocia selectivamente a un receptor (anfitrión)<sup>[5]</sup>. Formalmente el anfitrión es definido como una entidad molecular que posee sitios de unión convergentes, mientras que el huésped posee sitios de unión divergentes.

El reconocimiento molecular está definido por la energía, el modo de unión y las interacciones intermoleculares involucradas en la asociación de un sustrato y su receptor<sup>[1]</sup>. Anteriormente el sitio de unión era solamente considerado como la región en la que el huésped y anfitrión eran capaces de formar interacciones intermoleculares no covalentes, ese concepto ha sido modificado, dado que la química supramolecular ha evolucionado hacia la química dinámica

combinatoria, incluyendo a las interacciones dinámicas covalentes además de las clásicas intermoleculares no covalentes.

En el proceso de reconocimiento molecular se pueden distinguir dos etapas: en primer lugar, hay una etapa de activación en la que el anfitrión se somete a un reajuste conformacional para *organizar* sus sitios de unión de forma complementaria al huésped para minimizar interacciones desfavorables entre ellos. Después se produce la unión que es energéticamente favorable debido a la atracción. La energía total libre de complejación representa la diferencia entre la energía de preorganización desfavorable y la energía de enlace favorable. Cuando el anfitrión está preorganizado se favorece la estabilización de la unión huésped-anfitrión. El otro factor que determina la afinidad es la *complementariedad* en los sitios de unión, en principio, un anfitrión debe tener sitios de enlace que son del carácter electrónico complementario al huésped, además estos sitios deben estar espaciados de tal manera que pueda interactuar de acuerdo con la forma y tamaño del huésped. La Figura 1.1 muestra un ejemplo de la relación entre la preorganización y afinidad de distintos receptores para iones  $K^+$  y  $Li^+$ <sup>[2]</sup>, en donde se observa que a mayor preorganización del sistema, el logaritmo de la constante de asociación incrementa.

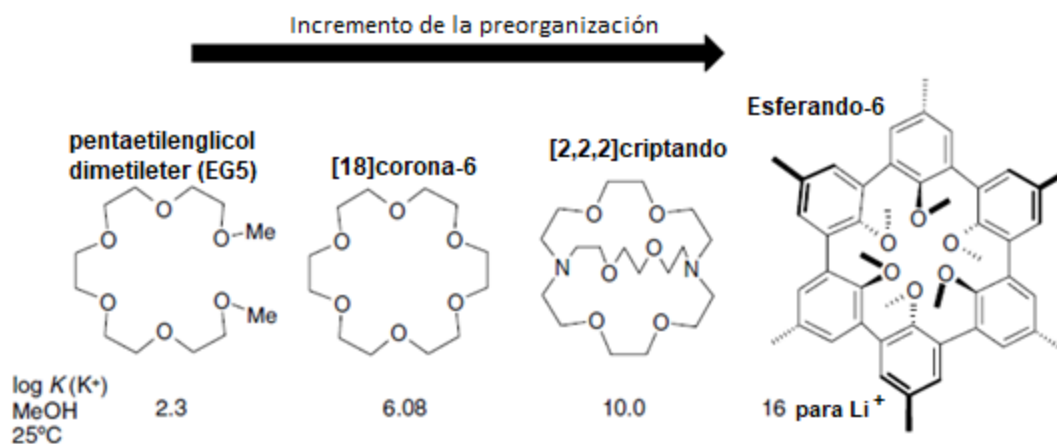


Figura 1.1 Comparación de los efectos de preorganización y complementariedad en las constantes de unión ( $\log K$ ) de algunos anfitriones de cationes alcalinos.<sup>[4]</sup>

## 2.1 Interacciones intermoleculares no covalentes

En los sistemas supramoleculares, las interacciones intermoleculares son de suma importancia ya que las moléculas que lo conforman se encuentran unidas por medio de ellas. Una interacción de este tipo es básicamente una interacción débil comparada con los enlaces covalentes, que no implica la compartición de electrones<sup>[6]</sup>. A continuación, se definirán de forma breve los tipos

de interacciones intermoleculares no covalentes utilizadas comúnmente en sistemas huésped-anfitrión con receptores artificiales.

### a) Interacciones electrostáticas

Se establecen entre iones de carga contraria, la magnitud de su fuerza está definida por la ley de Coulomb, que menciona:<sup>[7]</sup>

*Para dos objetos cargados, de tamaño mucho menor a la distancia que los separa, la fuerza de atracción entre ellos varía en forma directa con el producto de sus cargas y es inversa al cuadrado de la distancia entre ellos.*

La fuerza de interacción de estos sistemas en estado sólido es comparable con la del enlace covalente (energía de enlace= 100-350 kJ mol<sup>-1</sup>)<sup>[2]</sup>.

### b) Interacciones $\pi$

La densidad electrónica  $\pi$  en la mayoría de los anillos aromáticos crea un momento cuadrupolo con una carga negativa parcial sobre ambas caras aromáticas y una carga positiva parcial alrededor de la periferia, dos de estos momentos cuadrupolos en proximidad evitan el apilamiento paralelo centrado en la cara para favorecer las interacciones perpendiculares, estableciendo así interacciones cara-cara desplazadas. Por otra parte, una interacción entre un fragmento C-H de un anillo aromático con la densidad electrónica de un segundo anillo es conocida como del tipo borde-cara o CH- $\pi$  <sup>[8,9]</sup>. La Figura 1.2 muestra apilamientos  $\pi$  en sistemas aromáticos, así como sus densidades electrónicas y su relación con la atracción o repulsión entre ellos.

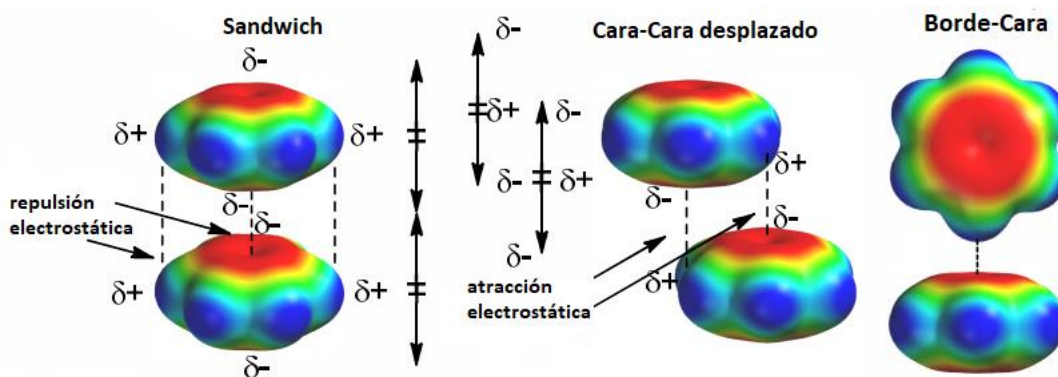


Figura 1.2 Interacciones  $\pi$  en anillos aromáticos

Cuando un miembro del par aromático posee grupos electroattractores que polarizan la densidad electrónica  $\pi$  lejos del núcleo aromático, da como resultado un área central de deficiencia relativa de electrones, estableciendo así la posible atracción electrostática con un

anillo aromático más rico en electrones, que lleva a un apilamiento  $\pi$ - $\pi$  centrado en la cara o también conocido como sándwich.<sup>[9,10]</sup>

Existe, además, la interacción  $\pi$ -catión, que es una interacción electrostática estabilizadora de un catión con la nube de electrones  $\pi$  polarizable de un anillo aromático, en la conformación adecuada, esta proximidad forma una interacción energéticamente significativa<sup>[11]</sup>. Por otra parte, la anión- $\pi$  es definida como una interacción no covalente favorable entre un sistema aromático deficiente de electrones y un anión, esta interacción es dominada por una contribución electrostática y la polarización inducida por el anión.<sup>[12]</sup>

### c) Enlace de hidrógeno

El enlace de hidrógeno es una atracción parcialmente electrostática entre un átomo de hidrógeno unido a un átomo más electronegativo (C, N, P, O, S, Se, F, Cl, Br, I), y un átomo adyacente que posee un par de electrones libre (base de Lewis).

Este tipo de enlace puede ocurrir entre moléculas (intermolecular) o con diferentes partes de una misma molécula (intramolecular). La Figura 1.3 representa la formación de un enlace de

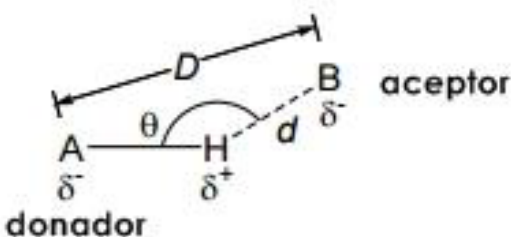


Figura 1.3 Representación del enlace de hidrógeno, donde A es el átomo donador de H y B el átomo aceptor.<sup>[9]</sup>

hidrógeno, donde A es un átomo más electronegativo que el hidrógeno (donador de H), B cualquier donador de electrones (aceptor de H), D la distancia entre A y B, d la distancia H $\cdots$ B y  $\theta$  el ángulo A-H $\cdots$ B. La fuerza de este enlace varía considerablemente de acuerdo con la naturaleza de A y de B, pueden tener un amplio intervalo de energía que van desde 0.2 a 40 kcal/mol<sup>[13]</sup>.

Jeffrey<sup>[14]</sup> clasificó al enlace de hidrógeno en tres categorías en función a su fuerza, lo cual se presenta en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Clasificación de los enlaces de Hidrógeno según Jeffrey.

	Fuertes	Moderados	Débiles
Longitud del enlace B $\cdots$ H (Å)	≈1.2-1.5	≈1.5-2.2	2.2-3.2
Longitud del enlace A $\cdots$ B (Å)	2.2-2.5	2.5-3.2	3.2-4.0
Ángulo (A-H $\cdots$ B) (°)	175-180	130-180	90-150
Energía de enlace (kcal·mol <sup>-1</sup> )	14-40	4-15	<4
Frecuencia de vibración IR (% de variación relativa)	25	10-25	<10

#### d) Fuerzas de van der Waals

La interacción por fuerzas de van der Waals es considerada la más débil y menos específica que las otras descritas anteriormente debido a que son isotrópicas, pero son muy relevantes en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos. Pueden considerarse en forma sencilla como dipolos instantáneos resultantes de las distribuciones electrónicas instantáneas no balanceadas en sustancias neutras.

Este tipo de interacción puede ser dividida dentro de tres grupos<sup>[15]</sup>:

- Fuerza dipolo-dipolo. Moléculas que tienen dipolos permanentes interactuarán mediante una interacción dipolo-dipolo.
- Fuerza dipolo-dipolo inducido. El campo de un dipolo permanente induce un dipolo en un átomo o molécula no polar.
- Fuerzas de dispersión. Debido a las fluctuaciones de los átomos hay un desplazamiento instantáneo del centro de carga positiva contra el centro de carga negativa, así en un cierto momento existe un dipolo e induce un dipolo en otro átomo. Por lo tanto, átomos o moléculas no polares (por ejemplo, neón) se atraen entre sí.

## 2.2 Enlaces covalentes dinámicos

La naturaleza dinámica de la química supramolecular es una de sus características clave. Las interacciones intermoleculares no covalentes utilizadas en sistemas supramoleculares son lábiles y reversibles, que permiten la organización espontánea del sistema en la composición termodinámica más favorecida; sin embargo, la misma inestabilidad inherente de los conjuntos supramoleculares impide su uso en aplicaciones que requieren un mayor grado de robustez en las interacciones establecidas. De este modo surge la demanda de un conjunto de reacciones que combinan las propiedades dinámicas

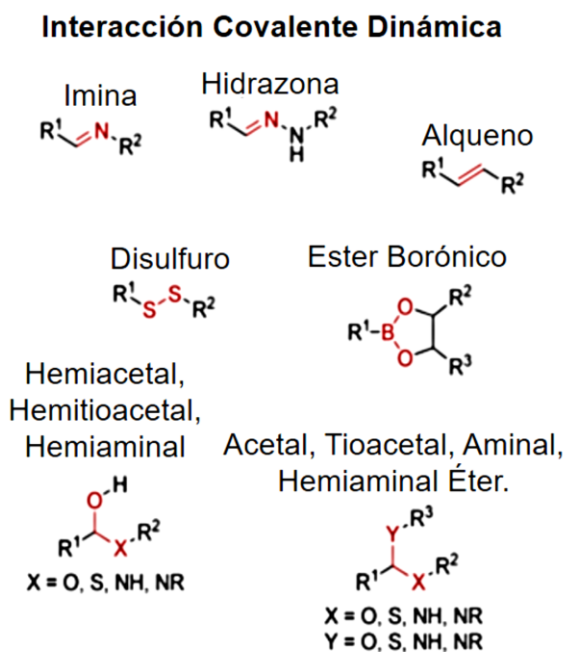


Figura 1.4 Ejemplos de enlaces covalentes dinámicos.



de la química supramolecular con la estabilidad y la solidez de los enlaces covalentes, para cumplir con esta demanda, se desarrolló la química covalente dinámica. [16,17]

La química covalente dinámica se basa en la formación reversible y la ruptura de un enlace covalente entre moléculas (enlace covalente reversible), el cual es un proceso dinámico que permite el intercambio de componentes moleculares en equilibrio para alcanzar los mínimos termodinámicos del sistema, de esta manera extiende la química supramolecular tradicional al dominio molecular.[18] Los enlaces covalentes informados como dinámicos incluyen el enlace C-C, C-N, C-O, S-S y el enlace B-O, algunos ejemplos se muestran en la Figura 1.4.

Una reacción dinámica covalente muy conocida es la autocondensación de ácidos borónicos y la condensación de éstos con grupos diol, que se pueden observar en la Figura 1.5.[18]

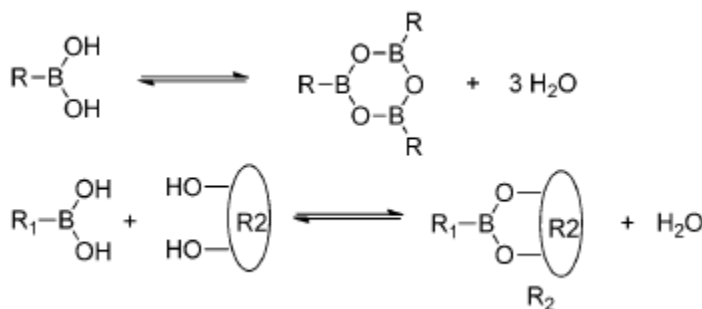


Figura 1.5 Enlace dinámico B-O. Arriba: autocondensación del ácidos borónico. Abajo: condensación de un ácido borónico con un grupo diol.[14]

Aunque la fuerza de unión es diferente a la de una interacción intermolecular no covalente, existen similitudes entre estas interacciones supramoleculares clásicas y los enlaces covalentes dinámicos. Desde el punto de vista cinético y termodinámico, ambos son procesos reversibles y pueden someterse a un intercambio de componentes. En este tipo de interacciones el equilibrio se alcanza en segundos o minutos, por lo que puede ser medida por técnicas espectroscópicas.[19]

## 2.3 Enlace de coordinación

Los metales de transición forman una gran variedad de compuestos inorgánicos, los más comunes son los compuestos de coordinación, en los cuales, el átomo o ion metálico es rodeado por ligantes. El enlace de coordinación es formado mediante la interacción en dos especies, una de las cuales actúan como un donante y la otra como un aceptor de un par de electrones que se comparten en el compuesto de coordinación formado.[20] Los ligantes son iones o moléculas neutras con pares de electrones que pueden donar al metal (bases de Lewis), estos pueden ser

mono-, bi-, tri- o polidentados. En este enlace el metal es un ácido de Lewis porque acepta electrones en sus orbitales vacíos.

Los compuestos resultantes son denominados complejos o compuestos de coordinación, el número de coordinación y geometría de éste dependerá del número de ligantes que rodeen al metal, debido a esto, las geometrías pueden ser irregulares y depender de la forma del ligante.<sup>[21]</sup>

Estos complejos metálicos pueden emplearse como receptores artificiales para una amplia variedad de moléculas o iones huésped si presentan sitios de coordinación disponibles, que pueden ser inicialmente ocupados por moléculas de disolventes o contraiones con poca basicidad.

### 3. Quimiosensores

Un sensor es un dispositivo que interactúa con la materia o energía y en respuesta produce una señal medible. Anteriormente el campo de los sensores se limitaba a considerar que estos eran solamente dispositivos macroscópicos, pero los avances en tecnología y la investigación científica indicaron que moléculas individuales son dispositivos capaces de actuar como sensores sobre otras moléculas.<sup>[3]</sup>

De este modo un quimiosensor (o receptor) es una molécula de origen abiótico que detecta la presencia de materia o energía en tiempo real, produciendo un cambio detectable en una señal<sup>[4]</sup> (absorción o emisión de luz, conductividad, etc.) en términos de los sistemas de reconocimiento molecular, el receptor funciona como el anfitrión que se asocia selectiva y reversiblemente con analitos específicos (huéspedes). La Figura 1.6 representa el funcionamiento general de un quimiosensor, en donde la interacción del analito con la unidad de reconocimiento provoca un cambio en la unidad de señalización puede ser medido.

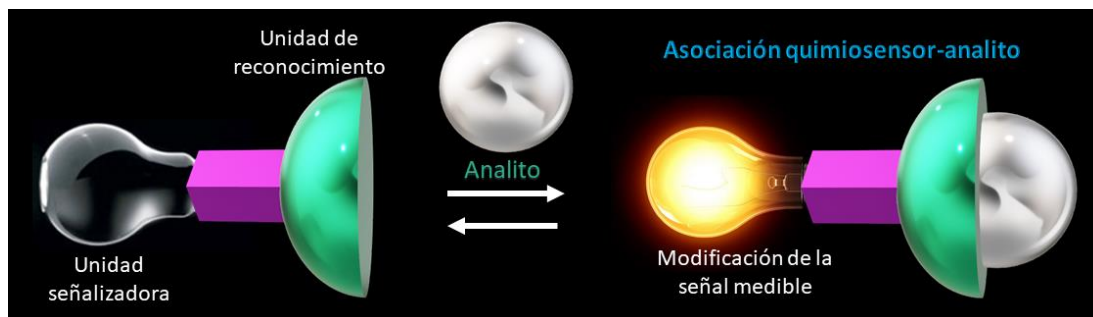


Figura 1.6 Funcionamiento de un quimiosensor.

### 3.1 Quimiosensores fluorescentes

Los quimiosensores fluorescentes son aquellos que, al interactuar con un analito, pueden identificarlo por cambios en su emisión de fluorescencia, ya sea aumentando (turn-on) o disminuyéndola (turn-off).

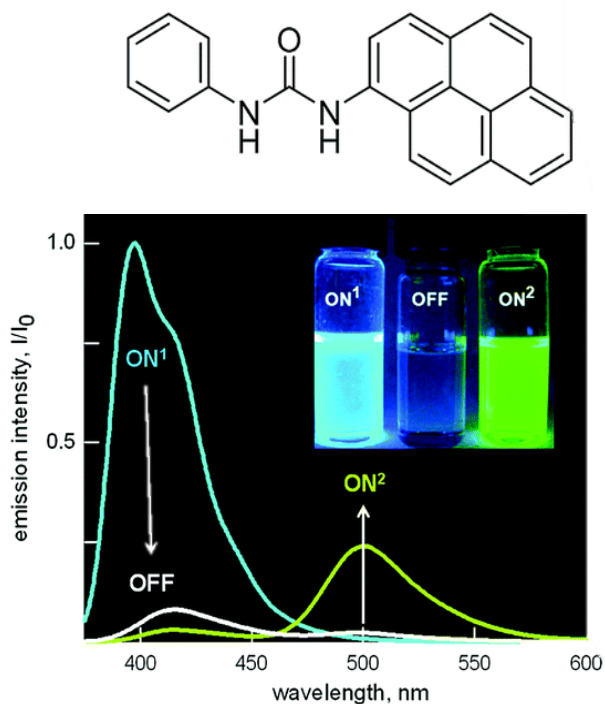


Figura 1.7 Quimiosensor fluorescente selectivo a F<sup>-</sup>. [21]

Un quimiosensor tiene dos funciones. La primera es proporcionar la interacción con la especie objetivo de una manera altamente selectiva (unidad de reconocimiento o receptor) y la segunda es la de “visualizar” esta interacción (unidad de señalización), por lo que debe proporcionar una señal que pueda ser analizada y cuantificada (Figura 1.6)[22,23]. En el caso de los quimiosensores fluorescentes la señal de visualización de la interacción con el analito es la fluorescencia. La Figura 1.5[24] muestra un ejemplo de un quimiosensor fluorescente, que posee un grupo pireno como unidad de señalización y un fragmento urea como unidad de reconocimiento, el cual es selectivo a fluoruro, que a bajas concentraciones de F<sup>-</sup> presenta un fenómeno turn-off y a altas concentraciones se manifiesta un fenómeno tur-on, con un cambio de longitud de onda de emisión.

Los métodos de fluorescencia han llegado a ser populares en química ambiental, medicina y biología por ser de bajo costo, de fácil operación, altamente sensibles y por tratarse usualmente de técnicas no destructivas[25]. Actualmente es una metodología usada extensivamente en biotecnología, citometría de flujo, diagnósticos médicos, análisis forenses y genéticos, por mencionar algunos.

### 3.1.1 Principios teóricos de la fluorescencia

La luminiscencia es la emisión de luz por cualquier sustancia y ocurre de estados electrónicamente excitados, es formalmente dividida en dos categorías dependiendo de la naturaleza del estado excitado: fluorescencia y fosforescencia.<sup>[26]</sup> La Figura 1.8 muestra algunos ejemplos de compuestos fluorescentes típicos y su emisión bajo lámpara UV.

El diagrama de Jablonski resume el proceso que ocurre entre la absorción y la emisión de luz (Figura 1.9). En el diagrama las flechas rectas representan procesos radiativos y las onduladas procesos no radiativos.

Una molécula al absorber luz (Abs) pasa del estado fundamental

singlete,  $S_0$  (con dos electrones apareados), a un estado singlete electrónicamente excitado,  $S_1$  u otros posteriores. El estado excitado existe durante un tiempo finito, en el cual el fluoróforo experimenta cambios conformacionales y se encuentra sujeto a una multitud de posibles interacciones con su entorno molecular, estos procesos provocan dos consecuencias importantes<sup>[27]</sup>:

- La energía del estado excitado se disipa (R) y la molécula se relaja al nivel vibracional más bajo del estado excitado, a partir de la cual puede producirse el regreso a un nivel de vibración del estado fundamental en nanosegundos mediante emisión de luz (fluorescencia).
- No todas las moléculas inicialmente excitadas regresan a estado fundamental por emisión de fluorescencia, otros procesos como la conversión interna (IC), transición al estado triplete (T) mediante cruce de intersistemas (ISC) y la transferencia de energía a un desactivador pueden despoblar el estado excitado  $S_1$ .

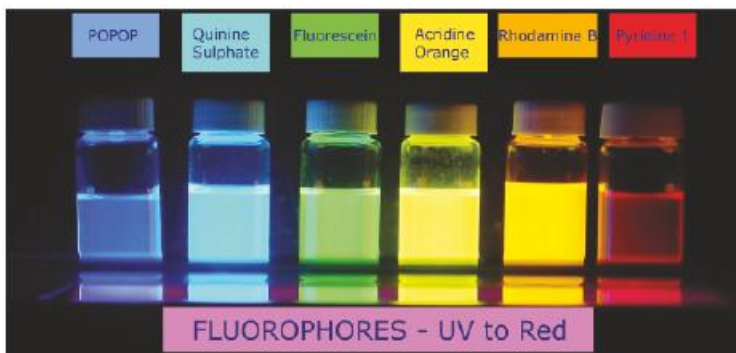


Figura 1.8 Emisión de compuestos fluorescentes típicos <sup>[23]</sup>.

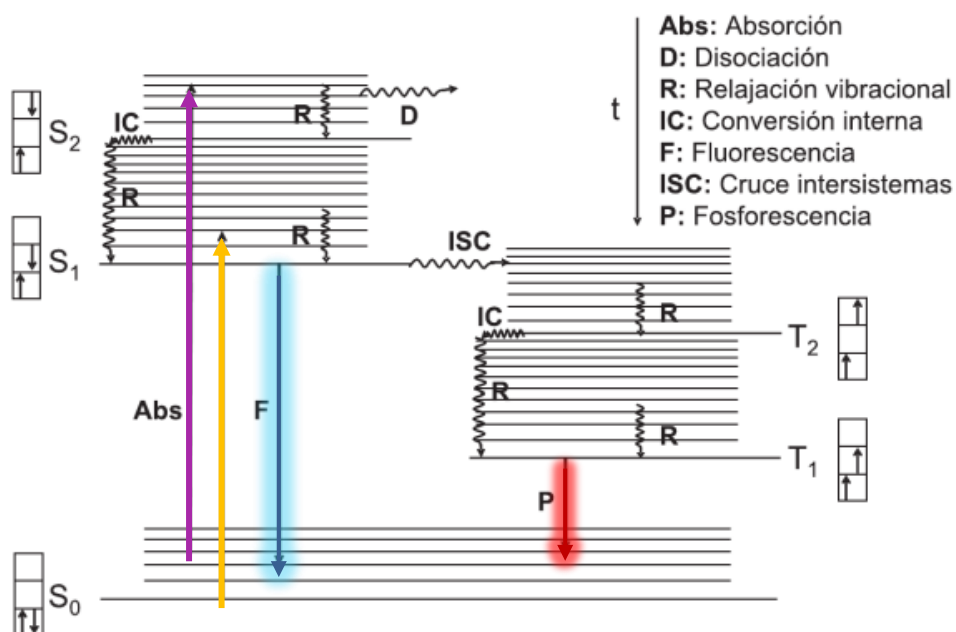


Figura 1.9 Diagrama de Jablonski. Representación esquemática de los estados de energía electrónica y de los procesos posibles en estos niveles de energía.

Las tasas de emisión de fluorescencia son usualmente de  $10^8 \text{ s}^{-1}$ , de modo que el tiempo de vida de ella es cercano a 10 ns ( $10 \times 10^{-9} \text{ s}$ ). La emisión desde un estado triplete se denomina fosforescencia, las transiciones al estado basal son lentas ( $10^3$  a  $10^0 \text{ s}^{-1}$ ) debido a que los electrones tienen la misma orientación de spin, así los tiempos de vida de fosforescencia son típicamente de milisegundos a segundos.<sup>[26]</sup>

### 3.2 Clasificación de sensores fluorescentes por su diseño

Dentro de los sensores podemos encontrar diferentes situaciones estructurales:<sup>[22,28,29]</sup>

- a.) **Quimiosensores discretos.** Es el enfoque más popular que consiste en una unidad de reconocimiento y una subunidad de señalización, en donde ambas unidades se encuentran unidas covalentemente. En este tipo de sensores se puede producir una disminución en la emisión (CHEQ chelation enhanced quenching) o un incremento (CHEF chelation enhanced fluorescence) tras la interacción del sitio de unión con el analito. La disminución de la fluorescencia también puede darse como consecuencia de la colisión directa del huésped con la unidad fluorescente. Este tipo de receptor se puede presentar de tres maneras (Figuras 1.10 y 1.11):

- I. El sitio de unión es parte integral de la unidad de señalización, de modo que el receptor es parte del sistema  $\pi$  conjugado del señalizador.
- II. El sitio de unión se encuentra covalentemente unido a la unidad de señalización mediante un espaciador corto.

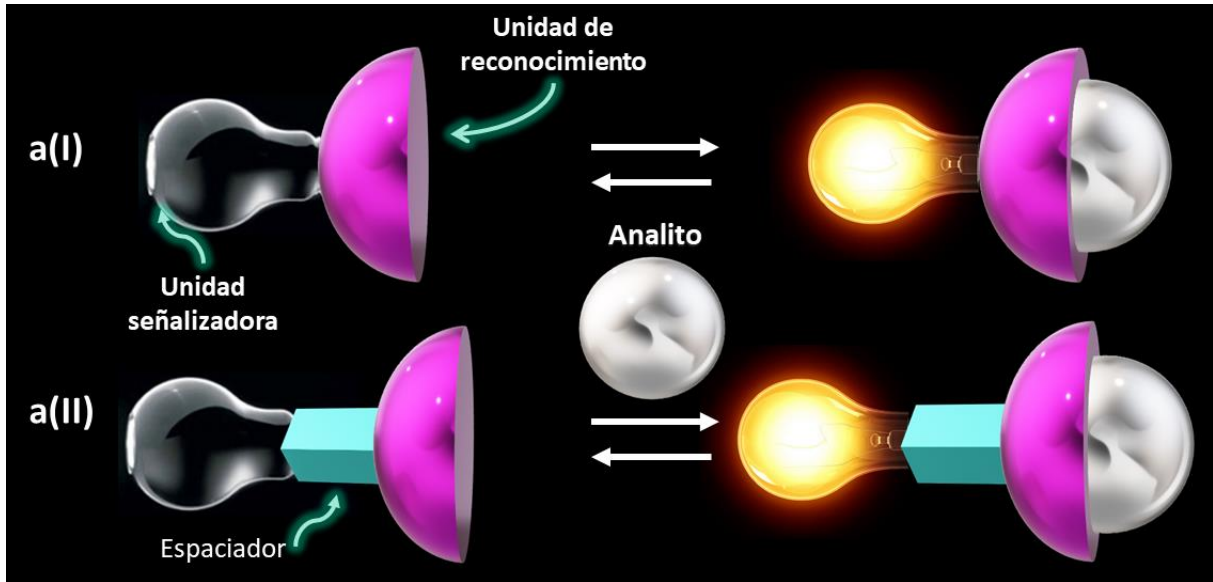


Figura 1.10 Vista esquemática de un quimiosensor con unidad de señalización y reconocimiento unidas directamente (a(I)) y con unidades separadas por un espaciador (a(II)).

- III. *Quimiosímetros*. Tras la adición de un analito se produce una reacción irreversible en el receptor, de manera que cambian sus propiedades luminiscentes (Figura 1.11); sin embargo, son llamados quimiosímetros debido a que el reconocimiento en los receptores debe ser un proceso reversible, según la terminología de Czarnik<sup>[3]</sup>.

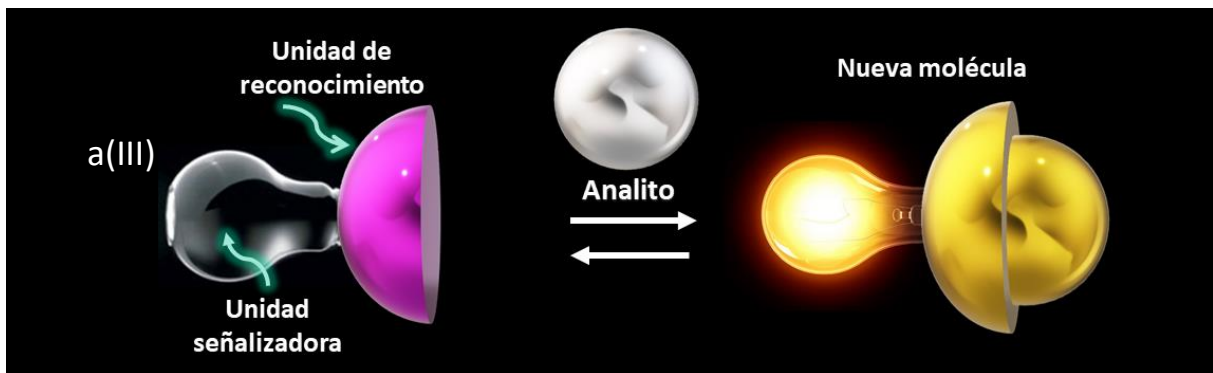


Figura 1.11 Enfoque quimiosímtrico, donde el analito induce una reacción irreversible en la unidad de señalización.

b.) **Quimiosensor de desplazamiento de indicador.** La unidad de reconocimiento y la de señalización no están covalentemente unidos sino formando un complejo supramolecular, de manera que la interacción reversible con el analito lleve consigo el desplazamiento simultáneo de la unidad de señalización provocando un cambio perceptible en sus propiedades ópticas<sup>[30]</sup>.

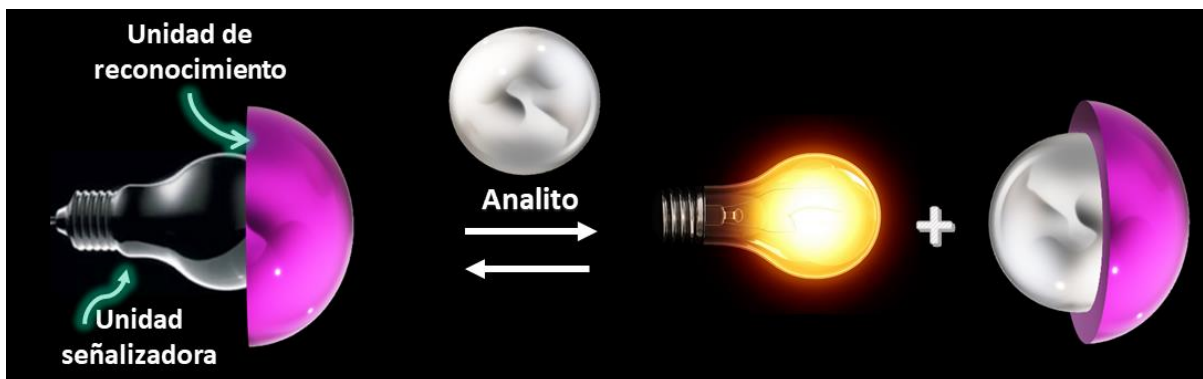


Figura 1.12 Funcionamiento de un quimiosensor de desplazamiento de indicador o ensamblado.

### 3.3 Mecanismos de respuesta óptica

Existen mecanismos mediante los cuales las moléculas pueden disminuir o incrementar su fluorescencia con o sin un desplazamiento en sus longitudes de onda de emisión. A continuación, se describirán algunos de ellos.

#### 3.3.1 Transferencia electrónica fotoinducida (PET)

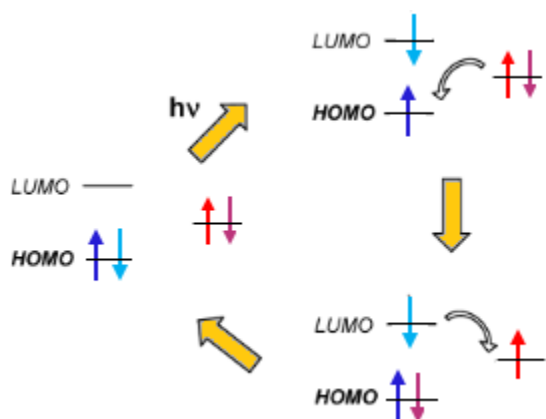


Figura 1.13 Mecanismo PET con la participación de orbitales HOMO y LUMO del fluoróforo y un orbital molecular externo.

Consiste en la desactivación no radiante del fluoróforo por una interacción con un sustituyente donador o aceptor, dependiendo del tipo de sustituyente el proceso se llevará a cabo de manera distinta, ya que el proceso está controlado por las energías relativas de los orbitales HOMO-LUMO del fluoróforo y de un orbital molecular externo<sup>[31]</sup>(ver Figuras 1.13 y 1.14).

Reductiva<sup>[32]</sup>: el fluoróforo (aceptor) es excitado y promueve un electrón del orbital HOMO al LUMO, el par libre del grupo donador, que se encuentra a mayor energía que el HOMO del fluoróforo, transfiere un electrón a este último. Así el fluoróforo excitado y reducido transfiere el electrón en LUMO al grupo donador oxidado, provocando una desactivación no radiante.

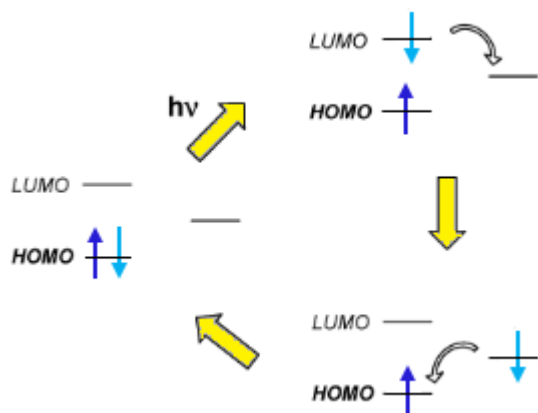


Figura 1.14 Mecanismo PET con la participación de los orbitales HOMO y LUMO del fluoróforo y un orbital molecular externo vacío.

Oxidativa<sup>[32]</sup>: en este caso el fluoróforo es la especie donadora que al ser excitado promueve un electrón del HOMO al LUMO, posteriormente el electrón es transferido al grupo aceptor, lo cual produce la desactivación del fluoróforo acompañado de un cambio en sus estados de oxidación, finalmente, el grupo aceptor transfiere el electrón al fluoróforo y éste vuelve a su estado basal de menor energía.

Los receptores basados en este mecanismo contienen un fluoróforo con un grupo electrodonador conjugado a un grupo electroattractor (Figura 1.15). Tras la unión del analito al grupo donador de electrones habrá una disminución en su capacidad de donación de electrones, causando una reducción en la conjugación electrónica y, por lo tanto, un efecto hipsocrómico o desplazamiento hacia el azul. En caso contrario, si el analito se une al grupo aceptor de electrones, esta interacción mejorará la capacidad de extracción de electrones, lo cual estabilizará al sistema dando como resultado un cambio batocrómico en el espectro o desplazamiento hacia el rojo<sup>[33,34]</sup>.

### 3.3.2 Transferencia de carga fotoinducida (PCT)

Los receptores basados en este mecanismo contienen un fluoróforo con un grupo electrodonador conjugado a un grupo electroattractor (Figura 1.15). Tras la unión del analito al grupo donador de electrones habrá una disminución en su capacidad de donación de electrones, causando una reducción en la conjugación electrónica y, por lo tanto, un efecto hipsocrómico o desplazamiento hacia el azul. En caso contrario, si el analito se une al grupo aceptor de electrones, esta interacción mejorará la capacidad de extracción de electrones, lo cual estabilizará al sistema dando como resultado un cambio batocrómico en el espectro o desplazamiento hacia el rojo<sup>[33,34]</sup>.



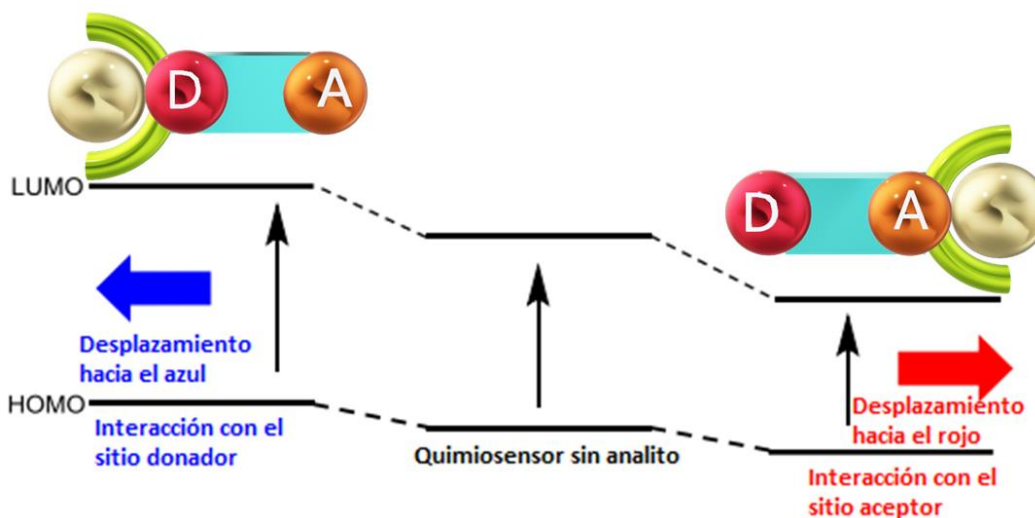


Figura 1.15 Mecanismo en PCT.

### 3.3.3 Transferencia de energía (ET)

Cuando el grupo molecular externo tiene algunos orbitales vacíos o semilenos con niveles de energía entre el HOMO y LUMO del fluoróforo, puede producirse un intercambio simultáneo de dos electrones (desde el LUMO al orbital externo y desde el orbital externo al HOMO). Este intercambio de electrones provoca que el fluoróforo regrese a su estado basal, haciendo que la fluorescencia disminuya<sup>[31]</sup>. Este proceso es uno de los mecanismos responsables de la ausencia de emisión de fluoróforos en presencia de metales de transición con orbitales d parcialmente llenos<sup>[35]</sup>.

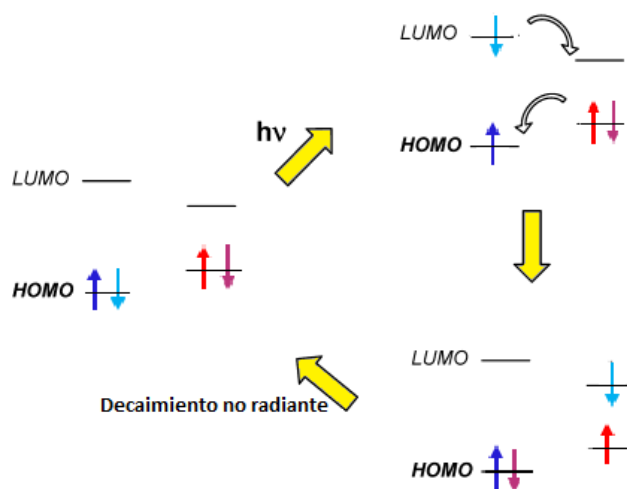


Figura 1.16 Proceso ET con la participación de los orbitales HOMO y LUMO del fluoróforo y orbitales moleculares externos.

## Capítulo 2 Antecedentes

En los últimos años el desarrollo de nuevos receptores ha tenido gran auge, por lo que en la literatura se pueden encontrar muchos ejemplos destinados a distintos usos como son el reconocimiento de cationes, aniones o especies biológicas, así mismo como sensores de pH. Los receptores son desarrollados con diversos diseños en función al fin que persiguen y la señal con la cual se pretende identificar al analito, de acuerdo con esto, es importante tener en cuenta varias consideraciones para su diseño como: el tamaño del analito que se quiere reconocer, los grupos funcionales que posee en su estructura química para así aprovecharlos e introducir en el receptor sitios de reconocimiento capaces de interactuar con ellos, su carga y el medio en el cual se encuentran (pH, estado físico o disolvente).

El presente trabajo tiene como objetivo central la síntesis de nuevos complejos fluorescentes basados en sales de isoquinolinio unidas covalentemente a un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina y derivados de ácidos fenilborónicos, además de su estudio como receptores ópticos de catecolaminas biológicas en medio acuoso neutro. La estructura general de los sensores propuestos puede describirse como R1-I-R2, donde R1 es un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$  del tipo  $[\text{Cu}(\text{N},\text{N},\text{N})]$  donde  $(\text{N},\text{N},\text{N} = 2,2':6,2''\text{-terpiridina})$ ; I= la unidad luminiscente que corresponde al fragmento de isoquinolinio y R2= isómero (orto o meta) del ácido fenilborónico. El concepto de reconocimiento está basado en que los derivados de catecolamina (dopamina, epinefrina, L-DOPA) pueden unirse a través de dos puntos de contacto:

1. La coordinación de grupos donadores (amino y ácidos carboxílicos) al centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$
2. La formación de enlaces diéster borónicos entre el fragmento de catecol y el ácido fenilborónico

La idea de generar dos puntos de contacto entre el receptor y el analito es incrementar la afinidad en medios competitivos como el agua, ambos sitios de unión están conectados covalentemente por una unidad fluorescente de isoquinolinio, que puede transducir el fenómeno de asociación en un cambio de su emisión fluorescente.

La literatura ofrece múltiples ejemplos de receptores cromogénicos/fluorescentes para especies iónicas basados en complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  con ligantes tridentados capaces de operar en medios acuosos o disolventes polares. La unión con los analitos es principalmente a través de un punto de contacto, enlace de coordinación, lo cual es suficiente para el reconocimiento de analitos

en concentraciones mili y micromolares, sin embargo, para detectar especies de interés biológicos a menores concentraciones se requiere una mayor afinidad receptor-analito.

A continuación, se describen ejemplos recientes de receptores luminiscentes para analitos biológicos basados en complejos de coordinación de cobre(II), seguida de la química de los ácidos borónicos en agua y su aplicación en reconocimiento molecular. Finalmente se presentarán receptores heteroditópicos para analitos biológicos y receptores destinados al reconocimiento de neurotransmisores derivados de catecolaminas.

## 1. Complejos de cobre(II) como receptores metálicos

Los complejos metálicos con sitios de coordinación "abiertos" han sido ampliamente utilizados en reconocimiento molecular. Estos complejos presentan acidez de Lewis, que puede aprovecharse para coordinar ligantes con grupos funcionales básicos de Lewis, lo cual los hace adecuados para el diseño de receptores sintéticos.

La coordinación de un ligante a iones metálicos se produce normalmente con entalpías grandes en comparación con la formación de interacciones intermoleculares clásicas como los enlaces de hidrógeno. Un único enlace coordinado de un huésped a un anfitrión de este tipo puede proporcionar energía de unión suficiente para obtener agregados estables a bajas concentraciones en agua, lo cual presenta una ventaja respecto a las interacciones intermoleculares, en donde se requieren múltiples interacciones y estructuras grandes del receptor para lograr una unión estable. Para que un sitio de unión sea adecuado para el reconocimiento molecular de especies iónicas o neutras, la afinidad y cinética de unión, deberán permitir la reversibilidad para mantener las características del reconocimiento molecular (Figura 2.1).

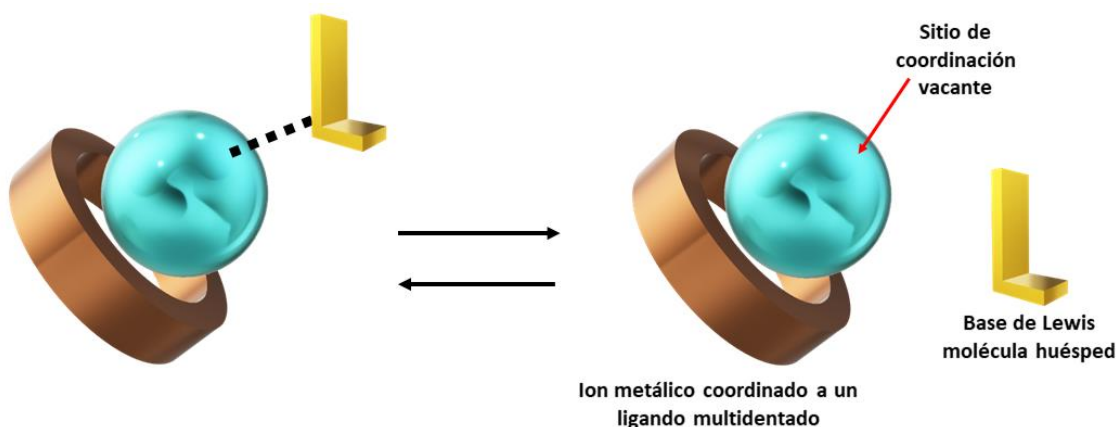


Figura 2.1 Coordinación reversible con velocidades rápidas de activación y desactivación.

Los complejos metálicos que contienen en su estructura química sitios de coordinación disponibles, ocupados inicialmente por aniones no coordinantes o moléculas de disolvente lábiles que pueden ser fácilmente desplazadas por especies químicas más básicas son las especies más utilizadas para el reconocimiento de especies en concentraciones sub-milimolares.<sup>[36]</sup>

Otro requisito implícito para que un complejo pueda ser usado como sitio de asociación es su estabilidad química, el ion metálico debe coordinarse de un modo termodinámica y cinéticamente estable, es decir, el huésped básico de Lewis unido reversiblemente no debe desplazar el ligante original del ion metálico.

El diseño de este tipo de receptores basados en complejos metálicos requiere ligantes multidentados químicamente estables en solución. Se han informado una gran variedad de complejos metálicos con ligantes multidentados, entre los informados destacan aquellos que poseen átomos N y O donadores. La Figura 2.2 muestra algunos ejemplos de ligantes tridentados comúnmente usados, como el iminodiacetato (ida), ácido nitriloacético (nta), bis(2-piridilmetil)-amina (bpa), tris(2-piridilmetil)-amina (tpa), dietilentriamina (dien) y tri(2-aminoetil)-amina (tren).

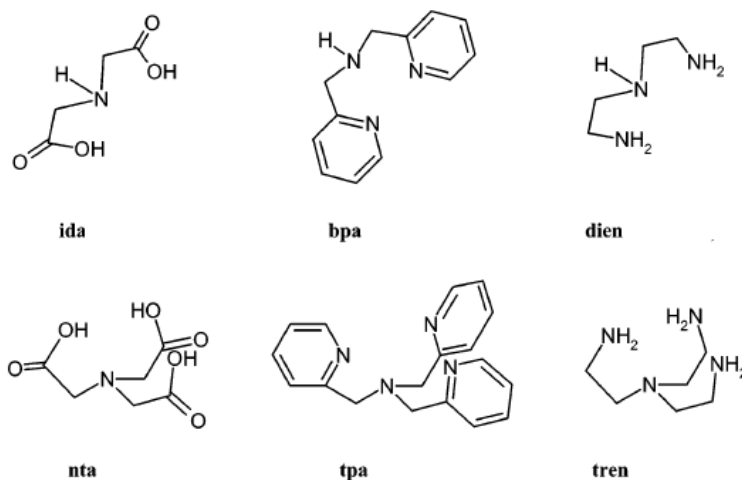


Figura 2.2 Estructura de ligantes tridentados con grupos N y O coordinantes.

Diversos complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  con sitios de coordinación abiertos se han empleado en reconocimiento molecular para la identificación, detección y cuantificación de diversos analitos, de entre los cuales destacan moléculas con importancia biológica, debido a que éstas poseen diversos grupos funcionales básicos de Lewis aprovechables para su asociación con este tipo de sitios de unión.

En esta línea, Fabbrizzi y colaboradores, han empleado macrociclos dinucleares para el reconocimiento de aminoácidos (Figura 2.3) [37–39].

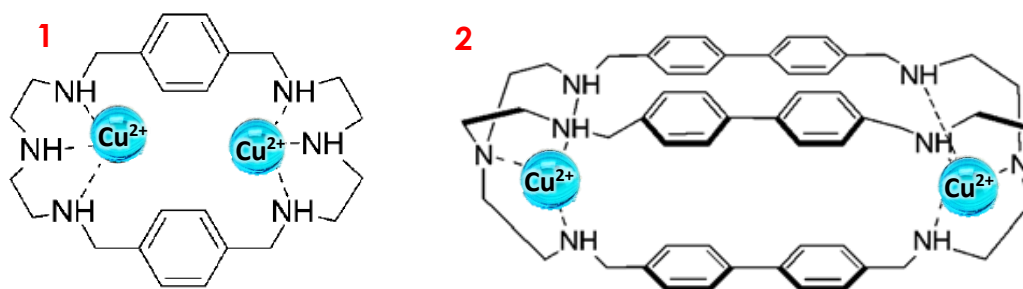


Figura 2.3 Receptores metálicos de  $\text{Cu}^{2+}$  **1** y **2** sintetizados por Fabbrizzi y colaboradores.

Ambos complejos funcionan como receptores fluorescentes off-on mediante ensayos de desplazamiento de indicador (IDAs), el cual experimenta un apagamiento de su emisión al interactuar con el centro metálico  $\text{Cu}^{2+}$  que, al agregar un analito más afín al metal, provoca un desplazamiento del indicador con una recuperación de su emisión.

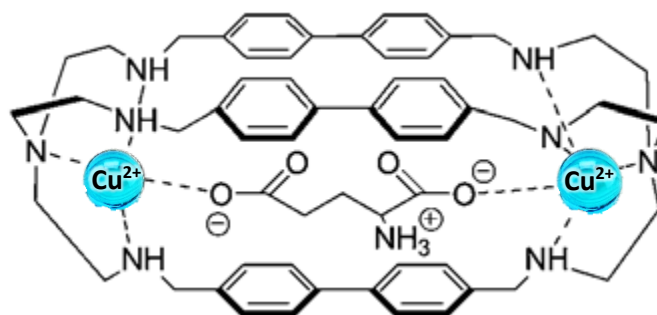


Figura 2.4 Modelo de la interacción del complejo **2** con L-glutamato.

El receptor **1** reconoce el fragmento de imidazol del residuo de histidina, al emplear fluoresceína como indicador. Mientras que el receptor **2** es selectivo a L-glutamato usando el indicador rodamina bajo las mismas condiciones, en donde el analito establece interacciones coordinantes entre el metal y grupos carboxilato (Figura 2.3) con  $\log K_{\text{ass}} = 6.9 \pm 0.2$ .

Por otra parte, Anslyn reportó en 2005 los complejos **3** y **4** (MOM=metoximetil) que funcionan como receptores cromogénicos selectivos a histidina, bajo el mismo principio de desplazamiento



como receptores basados en el enfoque de desplazamiento del metal (**8** y **9**)<sup>[47-49]</sup>, entre otras aplicaciones.

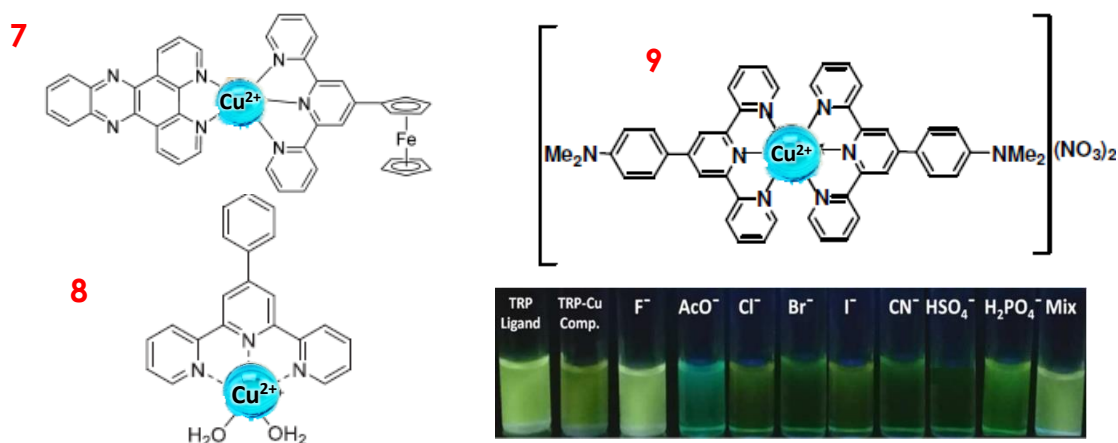


Figura 2.7 Ejemplos de complejos Terpiridina-Cu<sup>2+</sup>. 7: intercalador de ADN, 8 y 9: receptores fluorescentes turn-on de desplazamiento selectivos a H<sub>2</sub>S (H<sub>2</sub>O) y F<sup>-</sup> (MeCN) respectivamente, se muestra una imagen de la respuesta de 8 con diferentes aniones.

En principio, los complejos terpiridina-Cu<sup>2+</sup> pueden ser usados como sitios de unión en reconocimiento molecular al poseer sitios de coordinación “abiertos” (receptor **7**, Figura 2.7); sin embargo, estos receptores comúnmente funcionan bajo el principio de desplazamiento del metal.

## 2. Ácidos borónicos y su uso en reconocimiento molecular

Los ácidos fenilborónicos son probablemente los compuestos de organoboro más estudiados y útiles sintéticamente, estas especies contienen dos grupos hidroxilo y un grupo orgánico. Se caracterizan por su capacidad de formar complejos covalentes reversibles con azúcares, aminoácidos, ácidos hidroxámicos, etc.

Los ácidos fenilborónicos son ácidos de Lewis, en donde el átomo de boro presenta una hibridación sp<sup>2</sup> con una geometría trigonal plana. En solución acuosa, las bases duras de Lewis como los grupos OH<sup>-</sup> atacan al átomo de boro deficiente de electrones, convirtiéndolo a una estructura tetraédrica sp<sup>3</sup>, su pK<sub>a</sub> está indirectamente relacionado con su acidez de Lewis, los valores de pK<sub>a</sub> para éstos se encuentra en el intervalo de entre 4 y 10.5.<sup>[50]</sup> La Figura 2.8 presenta los valores de pK<sub>a</sub> para algunos ácidos borónicos.

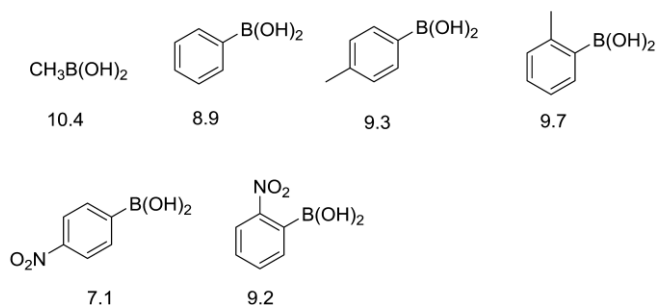


Figura 2.8 Ácidos borónicos representativos y sus correspondientes valores de  $pK_a$ .

A lo largo de los años, se ha encontrado una amplia variedad de aplicaciones en diferentes campos incluida la metalurgia, cerámicos y vidrio, medicina, insecticidas, lubricantes y catálisis, entre otras. Muchas de estas aplicaciones están relacionadas con la interacción de los ácidos borónicos con moléculas que poseen grupos polioli.<sup>[51]</sup>

El ácido borónico interacciona con 1,2- ó 1,3-dioles, formando ésteres borónicos cíclicos de 5 y 6 miembros, como se muestra en la Figura 2.10.

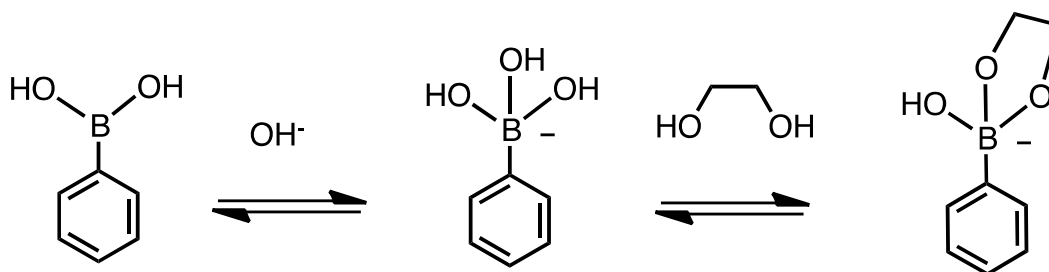


Figura 2.9 Formación del éster borónico cíclico a partir de ácido borónico y un 1,2-diol en medio acuoso.

Esta interacción es altamente dependiente del pH (ver Figura 2.11), se conoce que los ácidos borónicos se vuelven más ácidos al unirse a un diol, con  $pK_a^{BOL}$  del éster boronato menor (2-4 unidades) que el  $pK_a^{BO}$  del ácido borónico. La constante de formación de éster boronato aniónico tetraédrico ( $K_{ass}^{B-L}$ ) es en general más alta que la del éster boronato neutro trigonal ( $K_{ass}^{BOL}$ ) de 2 a 4 órdenes de magnitud.

De esta forma  $K_{ass}^{B-L} > K_{ass}^{BOL}$ , se deduce que un pH más alto favorece la unión al diol cuando la mayor parte del ácido borónico existe en su forma aniónica. Sin embargo, experimentalmente, el pH de unión no debe ser necesariamente superior al  $pK_a$  del ácidos borónico, lo cual se atribuye a la ionización de los grupos diol.<sup>[51-53]</sup>



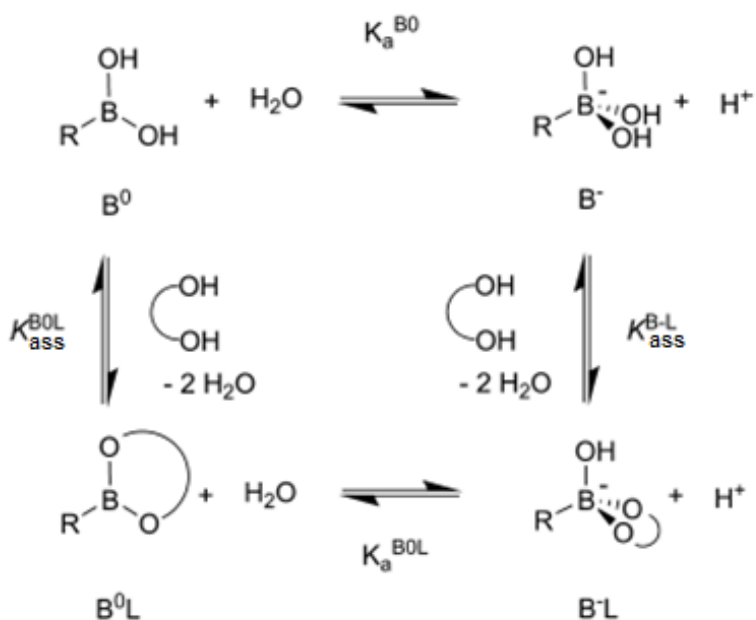


Figura 2.10 Ciclo termodinámico de la ionización del ácido borónico en agua y su interacción con cis-1,2-diol;  $K_a$  representa constantes de ionización y  $K_{ass}$  constantes de formación.

La formación de enlaces rápidos y estables entre ácidos borónicos y dioles para formar ésteres ha servido como base para la formación de ensamblados moleculares, la reversibilidad de la formación de estas interacciones también ha resultado en el desarrollo de sistemas multicomponente, así como su aplicación en reconocimiento molecular. Estas propiedades los han llevado a ser explotados en la detección y sistemas de separación para moléculas de importancias biológica que contienen grupos diol como los sacáridos.<sup>[54]</sup>

Los diseños de receptores basados en ácidos borónicos se originaron cuando Lorand y Edwards usaron la disminución de pH observada al agregar sacáridos a los ácidos borónicos para determinar sus constantes de asociación. Sin embargo, el primer receptor fluorescente (**10**) para sacáridos fue desarrollado 30 años más tarde por Yoon y Czarnik en 1992, que mostró un apagamiento de su fluorescencia tras la adición de sacáridos, lo cual es común cuando el átomo de boro está directamente unido al fluoróforo. James y colaboradores desarrollaron más tarde el primer receptor con respuesta off-on (**11**), atribuido a la inhibición del PET por el uso de un espaciador.<sup>[52]</sup> La estructura de los receptores **10** y **11** se muestra en la Figura 2.11.

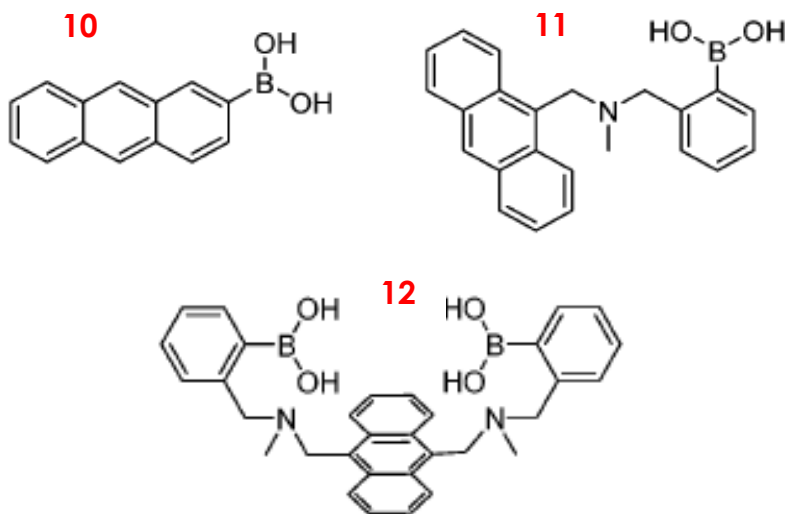


Figura 2.11 Receptores 10 (on-off), 11 (off-on) y 12 (off-on) derivados de ácido borónico para la identificación de sacáridos.

En 1994 Shinkai sintetizó el primer receptor luminiscente off-on diborónico con interacción multivalente (**12**, Figura 2.11), selectivo a glucosa con  $\log k_{\text{ass}}=3.59$  en medio acuoso.

Con el paso de los años, se ha buscado crear receptores más selectivos y potentes, por lo que existe un interés creciente en el desarrollo de moléculas con estructuras más complejas, como el receptor **13** derivado de porfirina con cuatro grupos de ácido fenilborónico, el cual mostró mayores constantes de afinidad por D-xilosa en  $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$  1:1 y  $\text{pH}=10.5$ , formando complejos 1:2 receptor/sacárido con  $\log K_{1\text{ass}}=3.94$  y  $\log K_{2\text{ass}}=3.69$  (Figura 2.12).<sup>[55]</sup>

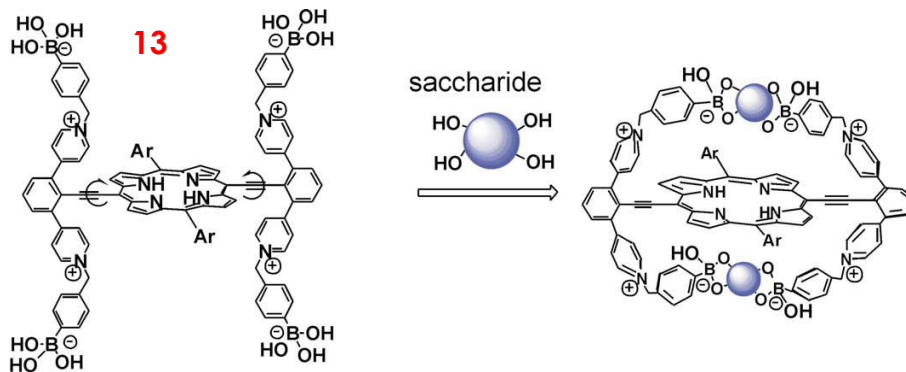


Figura 2.12 Receptor 13 y su modelo de asociación con sacáridos.

Recientemente, Xing y colaboradores sintetizaron pirenos funcionalizados con ácido borónico, receptores **14** y **15** (Figura 2.13), que mostraron cambios en su emisión al interactuar con sacáridos, en medio acuoso a  $\text{pH}=10$  en concentraciones  $\mu\text{M}$ , obteniendo así moléculas

ingeniosas capaces de distinguir monosacáridos con estructuras químicas muy similares al emplear respuestas de fluorescencia politrópica de diferentes bandas de emisión del fluoróforo. Dichos sensores son capaces de identificar glucosa en muestras prácticas de sangre y orina.<sup>[56]</sup>

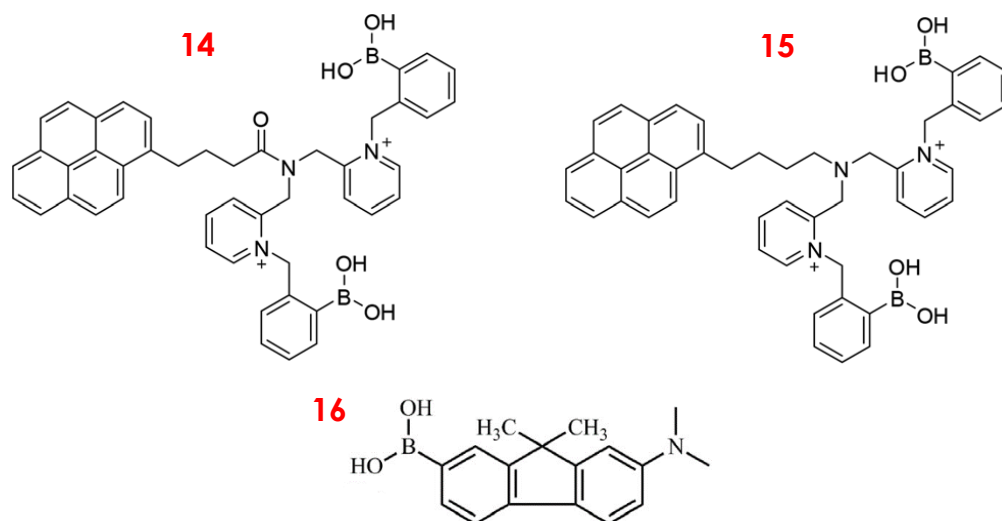


Figura 2.13 Estructura química de los receptores 14-16.

Como se ha visto en los ejemplos anteriores, estos receptores muestran una fuerte interacción con grupos diol a pH básicos; sin embargo, esto resulta una desventaja en su aplicación en medios biológicos, por lo que existe un interés continuo para desarrollar receptores capaces de detectar monosacáridos a pH fisiológico, como el receptor on-off **16**, el cual mostró una mayor afinidad a D-fructosa en medio acuoso a pH=7.4 con  $\log K_{as}=3.55$  y con un límite de detección de  $1.3 \times 10^{-5}$  M<sup>[57]</sup>.

La química de los ácidos borónicos también se ha aprovechado en el desarrollo de distintos materiales como copolímeros para la identificación de moléculas más complejas, como lo es la hemoglobina glicosilada, en donde los ácidos borónicos actúan como sitios de unión para los fragmentos glicosilados<sup>[58]</sup>. La identificación de sacáridos ha sido probablemente la aplicación más explorada de los ácidos borónicos en el campo del reconocimiento molecular; sin embargo, estos también se han usado para el reconocimiento de otros analitos como lo son: aniones, aminoácidos<sup>[59]</sup>, metales como el Cu<sup>2+</sup><sup>[60,61]</sup> y neurotransmisores derivados de catecoles, los cuales se tratarán en los siguientes apartados (3 y 4).

### 3. Receptores heteroditópicos para analitos biológicos

Gran parte del énfasis en el diseño de moléculas huésped está centrado en la realización de interacciones aditivas o incluso multiplicativas, es decir, se pueden construir sistemas huésped-anfitrión estables utilizando el mayor número posible de interacciones. La pequeña cantidad de energía de estabilización ganada por cualquier interacción se agrega a todas las otras interacciones (sumatoria) dando como resultado una energía de unión significativa y por lo tanto una estabilidad compleja. En algunos casos, la interacción de todo el sistema es sinérgicamente mayor que la suma de las partes (multiplicativa). Se denomina cooperatividad cuando dos o más sitios de enlace en un anfitrión cooperan de esta manera para enlazar a un huésped con una mayor energía de asociación comparada con la suma individual de las interacciones.<sup>[2]</sup>

Siguiendo este principio, es común que se busque el desarrollo de receptores con múltiples puntos de contacto receptor-analito, por lo que se pueden encontrar en la literatura diversos ejemplos de receptores con más de un sitio de unión; sin embargo, la mayoría de ellos poseen sitios de unión homotópicos o idénticos.

Pocos son los receptores asimétricos con sitios de reconocimiento heterotópicos, estos son diseñados para el reconocimiento de moléculas con estructuras complejas, como lo son analitos biológicos, los cuales en su mayoría son moléculas asimétricas

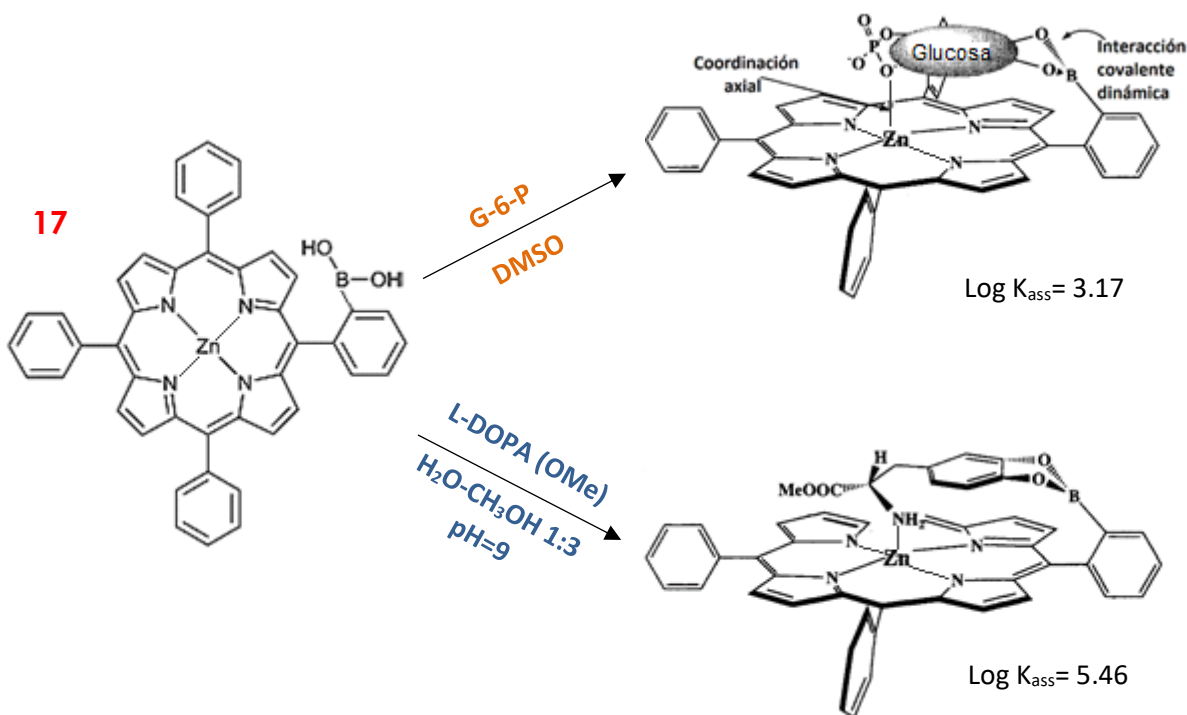


Figura 2.14 Propuestas de la interacción de 17 con G-6-P y L-DOPA esterificada, condiciones y sus log  $K_{ass}$ .

Uno de los primeros receptores heteroditópicos (con dos sitios de reconocimiento diferentes) con estas características fue reportado por Imada y colaboradores<sup>[62]</sup>, receptor **17**, quienes sintetizaron una porfirina de zinc(II) con un ácido borónico, la cual es selectiva a glucosa-6-fostado (G-6-P) y a L-DOPA esterificada, los estudios realizados demostraron que estos analitos se enlazan a través de dos puntos de interacción, la primera entre el diol y el ácido borónico y la segunda entre el fosfato o grupo amino y el centro metálico (Figura 2.14).

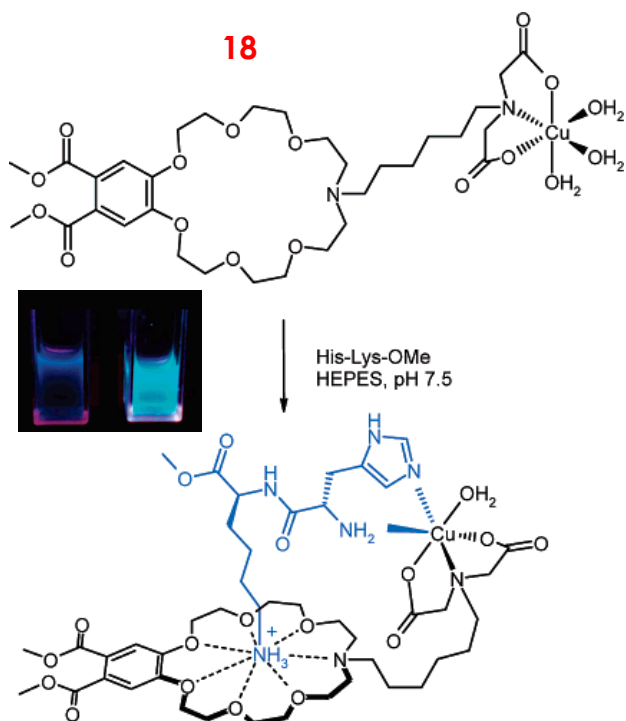


Figura 2.15 Estructura del receptor **18** y su modelo de unión con His-Lys-OMe.

En el 2005, se reportó la síntesis de **18**, un benzo éter corona luminiscente con un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ -IDA, que se coordina con alta afinidad a histidina y residuos de histidina N-terminales<sup>[63]</sup>. Tal es el caso el dipéptido His-Lys-OMe y el residuo His-OMe, que pudieron ser identificadas mediante un aumento de la emisión del complejo, con  $\log K_{\text{ass}}=4.22\pm 0.05$  y  $3.8\pm 0.1$  respectivamente, en medio acuoso amortiguado a  $\text{pH}=7.5$ . La Figura 2.15 muestra la propuesta de asociación de **17** con el dipéptido His-Lys-OMe, en donde el fragmento éter corona interacciona con el grupo amonio y el anillo de imidazol con los sitios coordinantes vacantes del complejo de cobre.

Recientemente, Miyaji y colaboradores sintetizaron un receptor electroquímico heteroditópico para el reconocimiento de dopamina<sup>[64]</sup>, **19**, derivado de ferroceno que contiene un ácido borónico como sitio de reconocimiento de catecol y una unidad de benzo-18-corona-6-éter para reconocer el ión amonio (Figura 2.16). La asociación receptor-dopamina se lleva a cabo en 1.5% de  $\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{CH}_3\text{CN}$  con  $\log K_{\text{ass}}=3.46$ .

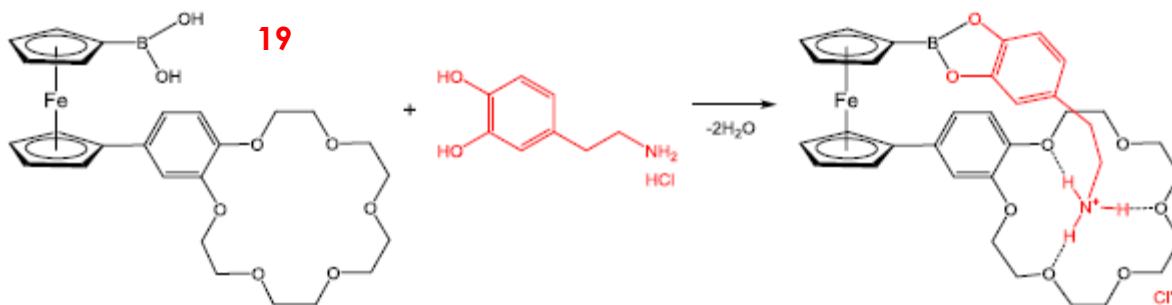


Figura 2.16 Receptor 19 y su asociación con dopamina.

#### 4. Neurotransmisores y receptores para catecolaminas

La célula nerviosa o neurona es la pieza fundamental en la actividad del sistema nervioso, transmite información tanto eléctrica como química, dentro de la propia neurona la información se transmite a través del movimiento de una carga eléctrica (impulso). Una neurona posee tres componentes principales: (1) las dendritas, fibras delgadas que se extienden desde la célula en zarcillos ramificados para recibir información de otras neuronas; (2) el cuerpo celular, que realiza la mayor parte del funcionamiento básico celular y (3) el axón, una fibra larga y delgada que lleva los impulsos nerviosos a otras neuronas. La comunicación entre las neuronas se produce en pequeños huecos llamados sinapsis, donde las partes especializadas de las dos células (neuronas presinápticas y postsinápticas) se encuentran a algunos nanómetros de distancia para permitir la transmisión química. La neurona presináptica libera una molécula, conocida como neurotransmisor, que es recibida por proteínas específicas de la neurona postsináptica, los neurotransmisores se unen a las proteínas receptoras y alteran la función neuronal postsináptica. Existen dos tipos de receptores de neurotransmisores: los canales iónicos activados por ligante, que permiten un flujo rápido de iones directamente a través de la membrana celular externa, y los receptores acoplados a proteína G, que inician eventos de señalización química en movimiento dentro de la célula. Se sabe que cientos de moléculas actúan como neurotransmisores en el cerebro.<sup>[65]</sup> La Figura 2.17 muestra la estructura química de algunos neurotransmisores.

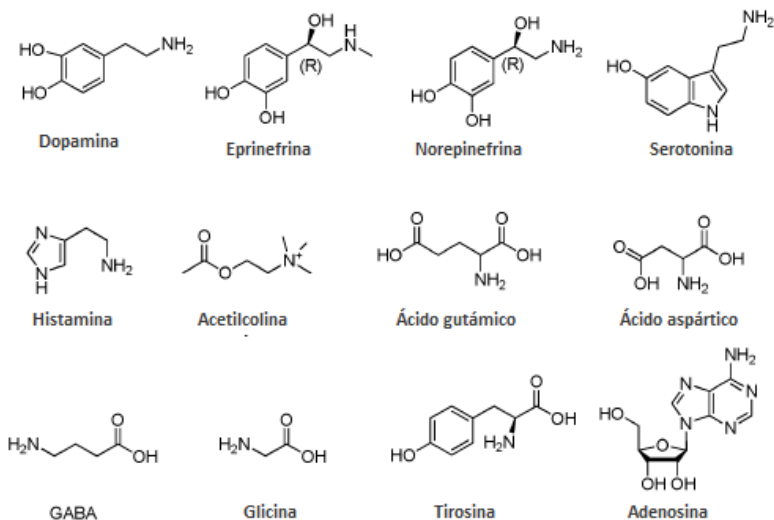


Figura 2.17 Estructura química de algunos neurotransmisores.

Las catecolaminas contienen en su estructura un grupo catecol, es decir, un benceno con dos grupos hidroxilo adyacentes, así como una cadena lateral de etilamina con un solo grupo amino que puede tener sustituciones adicionales. Las catecolaminas predominantes en el cerebro son dopamina, epinefrina y norepinefrina, estas moléculas ejercen el papel de neurotransmisores y desempeñan otro papel importante como hormonas, fueron encontrados por primera vez en el sistema nervioso autónomo, existen en concentraciones bajas en el cerebro respecto a neurotransmisores de aminoácidos como el glutamato; sin embargo, tienen una importancia considerable en la regulación de múltiples aspectos de la función del sistema nervioso central y son objetivos terapéuticos vitales.<sup>[66]</sup> Estas tres catecolaminas se sintetizan de manera similar con la participación de distintas enzimas, la Figura 2.18 presenta su biosíntesis.

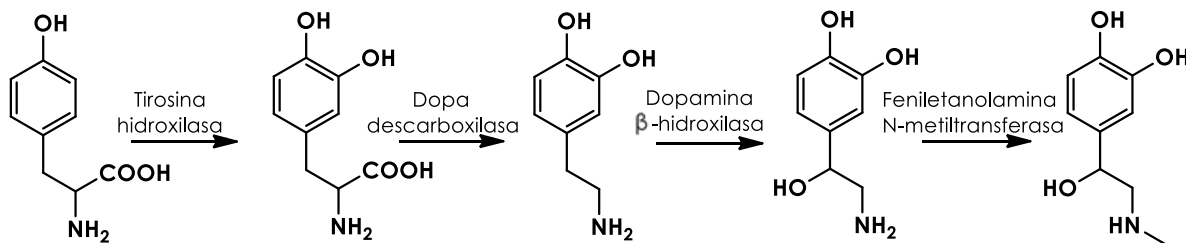


Figura 2.18 Biosíntesis de neurotransmisores derivados de catecolaminas.

Estos neurotransmisores juegan un papel importante en muchas funciones cerebrales incluyendo el comportamiento y la cognición, afectan y ajustan el tono muscular y ritmo cardiaco, regulan el sueño, memoria, conciencia, estado de ánimo y apetito. Cambios de sus concentraciones en

el sistema nervioso central se han asociado con muchos trastornos mentales y físicos (por ejemplo: Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, glaucoma, epilepsia, entre otros), de este modo, la detección cuantitativa del neurotransmisor en fluidos humanos adquiere importancia para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de dichas enfermedades.<sup>[67-69]</sup>

La Tabla 2.1 muestra las concentraciones normales de algunos neurotransmisores derivados de catecolaminas en plasma.<sup>[70,71]</sup>

Tabla 2.1 Concentraciones normales de algunas catecolaminas en plasma.

Neurotransmisor	Intervalo de concentración
Dopamina	0.04-4.50 nM
Epinefrina	0.02-0.46 nM
Norepinefrina	0.45-2.49 nM

Se han intentado diversos enfoques para la determinación confiable de catecolaminas *in vivo* e *in vitro*. Una estrategia analítica ampliamente adoptada es la separación y detección, mediante cromatografía líquida, electroforesis, inmunoensayo de flujo, entre otras; sin embargo, hay una creciente demanda de nuevos métodos experimentales que puedan superar las limitantes de los métodos actuales, así como sus altos costos. Para la detección, los métodos ópticos basados en fluorescencia pueden superar los puntos débiles de las otras técnicas, al poseer tiempos de respuesta rápidos, procedimientos simples y no destructivos.<sup>[72]</sup> Dentro de las técnicas fluorescentes desarrolladas hasta la fecha, muchas de ellas se centran en la identificación de estas moléculas a través de polímeros y nanomateriales funcionalizados como lo son: nanopartículas, quantum dots o nanotubos de carbono<sup>[67,68,72]</sup>, existen pocos sensores moleculares fluorescentes reportados y los que se han sintetizado se han centrado en la detección de dopamina o su precursor L-DOPA.

Akkaya y Coskun sintetizaron el receptor **20**, un derivado del colorante amarillo lucifer, el cual puede detectar selectivamente L-DOPA (precursor de la biosíntesis de dopamina *in vivo*) en medio acuoso a pH=7.2, mostrando una disminución de su emisión al adicionar L-DOPA.<sup>[73]</sup> Otro ejemplo de receptor fluorescente para L-DOPA se puede encontrar en la sección anterior (**17**, Figura 2.14).



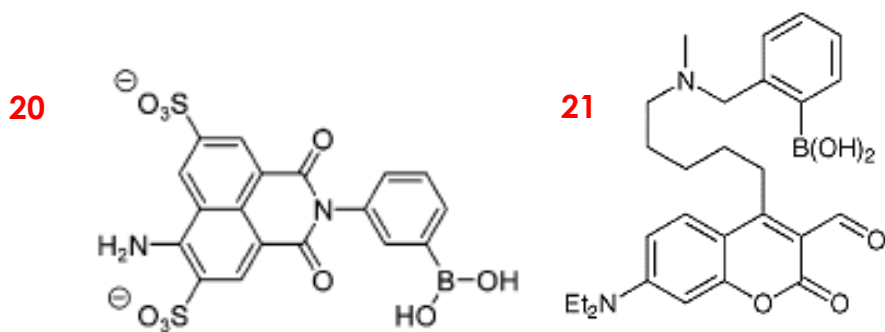


Figura 2.19 Receptores 19 y 20 selectivos a catecolaminas.

El receptor on-off **21**, mostró fuertes afinidades y respuestas colorimétricas selectivas a dopamina y norepinefrina bajo condiciones fisiológicas, en medio acuoso y pH=7, con  $\log K_{ass}=3.53$  y 3.81 respectivamente. El modelo de unión sensor-analito incluye la formación de un ion iminio con el grupo amina del neurotransmisor y un éster boronato con el catecol.<sup>[74]</sup>

En años más recientes se han sintetizado más receptores luminiscentes con fragmentos de ácido borónico para derivados de catecol. El receptor **22** derivado de 4-quinolina, presenta cambios significantes en sus propiedades fluorescentes tras la adición de catecoles en solución acuosa a pH=7.4, con  $\log K_{ass}=3.37$  para las pruebas con dopamina<sup>[75]</sup>. Por otra parte, el receptor **23** desarrollado por Jin Jun y colaboradores, es uno de los pocos ejemplos como receptor fluorescente para la detección del metabolito de la dopamina, DOPAC (ácido 3,4-dihidroxifenilacético), presentando selectividad sobre la interacción con otros derivados como el catecol, dopamina o L-DOPA, con  $\log K_{ass}=4.23$  en H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN (95:5 v/v) y pH=7.4<sup>[76]</sup>.

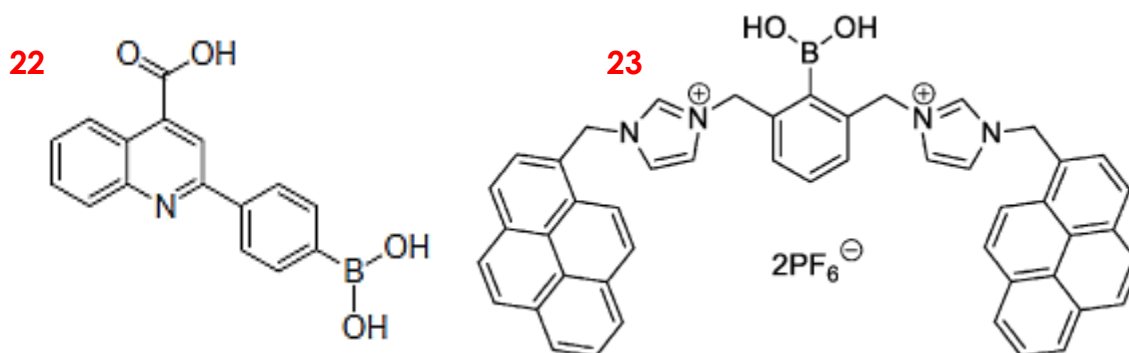


Figura 2.20 Receptores 22 y 23.

Como se ha mostrado en los ejemplos, un sitio de reconocimiento importante para la identificación de catecolaminas es el grupo ácido borónico, donde se aprovecha su interacción con el grupo diol que se encuentra presente en el anillo de catecol

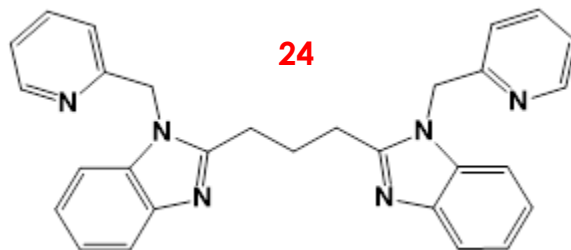


Figura 2.21 Receptor 24 derivado de benzimidazol.

Un receptor que usa otro tipo de sitio de unión es el **24**, sintetizado por Khattar y Mathur<sup>[77]</sup>, un derivado de bencimidazol que experimenta un apagamiento de su emisión tras la adición de dopamina con  $\log K_{\text{ass}}=3.99$  en DMF. En la Tabla 2.2 se presenta un resumen de los receptores mencionados para neurotransmisores derivados de catecolaminas:

Tabla 2.2 Constantes de asociación y características del medio para los receptores selectivos a catecolaminas.

Receptor	Huésped	Log $K_{\text{ass}}$	Medio
17	Éster L-DOPA	5.46	H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH 1:3 pH=9
19	Dopamina	3.46	1.5% H <sub>2</sub> O en CH <sub>3</sub> CN
20	L-DOPA	-	H <sub>2</sub> O pH=7.2
21	Dopamina	3.53	H <sub>2</sub> O pH=7
	Norepinefrina	3.81	
22	Dopamina	3.37	H <sub>2</sub> O pH=7.4
23	DOPAC	4.23	H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN 95:5 pH=7.4
24	Dopamina	3.99	DMF

Aunque el campo del desarrollo de receptores fluorescentes para estos analitos ha ido en aumento, no se han reportado moléculas de este tipo capaces de identificar epinefrina selectivamente, lo cual sigue siendo un área de oportunidad para el desarrollo de nuevos receptores.

Página intencionalmente en blanco

## HIPÓTESIS

Nuevos receptores artificiales conteniendo en su estructura química un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina y ácido fenilborónico unidos covalentemente al fluoróforo 4-isoquinolinio, pueden funcionar como quimiosensores fluorescentes heteroditópicos para neurotransmisores derivados de catecolaminas en un medio acuoso neutro.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Diseñar, sintetizar y evaluar dos nuevos receptores fluorescentes con dos potenciales sitios de asociación, basados en complejos terpiridina- $\text{Cu}^{2+}$  con sitios de coordinación abiertos y un fragmento ácido fenilborónico, para la unión selectiva con neurotransmisores derivados de catecolaminas.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar, purificar y caracterizar dos nuevos ligantes fluorescentes (**L-o** y **L-m**) que incluyan en su estructura química el fluoróforo 4-isoquinolina, un fragmento terpiridina y un ácido fenilborónico.
2. Sintetizar y caracterizar por técnicas espectroscópicas dos nuevos complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  (**CS-o** y **CS-m**) con los ligantes **L-o** y **L-m**. Realizar pruebas de cristalización con los ligantes y los complejos obtenidos.
3. Estudiar las propiedades fotofísicas de los ligantes y determinar las condiciones adecuadas para el análisis de sus propiedades fluorescentes.
4. Determinar las propiedades ácido-base de los ligantes mediante titulación fluorimétrica.
5. Realizar estudios de reconocimiento molecular de los ligantes fluorescentes con los bioanalitos (dopamina, epinefrina, L-DOPA, pirocatecol, tirosina (Tyr) y nucleósidos), mediante espectroscopía de fluorescencia y determinar sus constantes de asociación.
6. Realizar estudios de asociación de los ligantes con  $\text{CuBr}_2$  por espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia.
7. Realizar estudios de reconocimiento molecular de **CS-o** y **CS-m** con dopamina, epinefrina, L-DOPA, pirocatecol y tirosina, mediante titulaciones fluorimétricas y determinar sus constantes de asociación.
8. Estudiar la forma de asociación de los receptores con el analito con mayor constante de asociación a través de  $^{11}\text{B}$  RMN, EPR e IR-ATR.

## JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo explora uno de los retos modernos de la química supramolecular analítica, el cual se centra en el desarrollo y estudio de nuevos receptores con selectividad y afinidad a bioanalitos inspirándose en fenómenos de asociación en sistemas biológicos.

Algunos neurotransmisores, como la dopamina y epinefrina (catecolaminas), están relacionadas con el diagnóstico de trastornos mentales y físicos, por ejemplo, el Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, hipertensión, entre otros.<sup>[67-69,72]</sup> Actualmente, existen estrategias analíticas para la identificación de estas moléculas basadas en la separación y detección mediante técnicas como la cromatografía líquida y electroforesis; sin embargo, debido al alto costo y las limitantes que presentan, se siguen buscando nuevos métodos experimentales que ofrezcan la determinación confiable de neurotransmisores en condiciones fisiológicas. De este modo, se han desarrollado receptores ópticos para el reconocimiento de catecolaminas mediante espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia, que presentan un menor costo y procesos experimentales sencillos, los cuales ofrecen prometedoras aplicaciones *in vivo* e *in vitro*.

En este contexto, el objetivo central de este trabajo es la síntesis de nuevos complejos fluorescentes basados en sales de isoquinolinio unidas covalentemente a un complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina y derivados de ácidos fenilborónicos, además de su estudio como receptores ópticos de catecolaminas biológicas en medio acuoso neutro. El diseño de los receptores está basado en la introducción de dos potenciales sitios de asociación, tomando en cuenta que los derivados de catecolamina pueden unirse mediante la coordinación de grupos donadores al centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$  y la formación de enlaces diéster borónicos entre el fragmento de catecol y el ácido fenilborónico (Figura 2.22). La idea de generar dos puntos de contacto entre el receptor y el analito es incrementar la afinidad en medios competitivos como el agua.

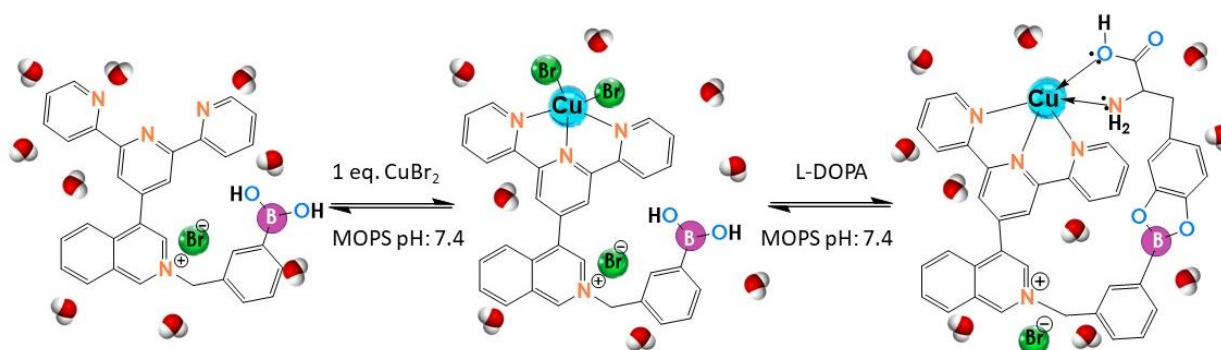


Figura 2.22 Idea central del diseño de los receptores desarrollados en el proyecto.

## Capítulo 3 Desarrollo experimental

### 1. Reactivos y disolventes

Los reactivos y disolventes empleados durante toda la experimentación en la que se incluye síntesis, purificación, caracterización y estudios de reconocimiento molecular en solución fueron adquiridos por medio de fuentes comerciales, en su mayoría Sigma-Aldrich y TecsiQuim (para el caso de los disolventes). Es importante mencionar que la pureza de los reactivos empleados fue mayor al 98 % y que se emplearon disolventes grado HPLC y agua desionizada (conductividad: 0.052 $\mu$ S/cm) para los estudios de reconocimiento molecular.

### 2. Instrumentación

Los espectros de **IR** se obtuvieron a través de un equipo Perkin-Elmer Attenuated Total Reflectance FT-Spectrometer (ATR), mostrando en el eje de las abscisas el número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) y el porcentaje de transmitancia en las ordenadas. Se realizaron estudios de **RMN** de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{11}\text{B}$  usando un equipo Bruker Advanced de 300MHz, utilizando TMS como referencia y empleando DMSO- $d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  y  $\text{CDCl}_3$  como disolventes, en los espectros obtenidos los desplazamientos se expresan en ppm. Los espectros de  $^{11}\text{B}$  se obtuvieron utilizando un pulso de  $90^\circ$ , un tiempo de adquisición de 0.5 s, un tiempo de relajación de 0.05 s y 2000 scans para cada muestra.

Se emplearon dos modos de ionización en espectrometría de masas, los espectros en modo de ionización **ESI+** se realizaron en un espectrómetro Bruker modelo micrOTOF II usando metanol grado cromatográfico como disolvente. Por otra parte, los espectros en modo de ionización **IE** se realizaron en un equipo marca Jeol modelo JMS AX-505 HA por medio de inyección directa.

Los estudios de **difracción de rayos X** se realizaron con un difractómetro marca Bruker APEX II CCD a 100K y radiación de Mo-K $\alpha$  ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) de micro Incoatec lmuS y monocromador con óptica Helios. Las estructuras fueron resueltas usando métodos directos (SHELXS-97) y refinadas por mínimos cuadrados en  $F^2$  usando shelXle GUI. Los átomos de hidrógeno de los enlaces C-H fueron colocados en posiciones idealizadas mientras que los átomos de hidrógeno de los enlaces O-H fueron localizados del mapa de densidad electrónica y sus posiciones fueron refinadas

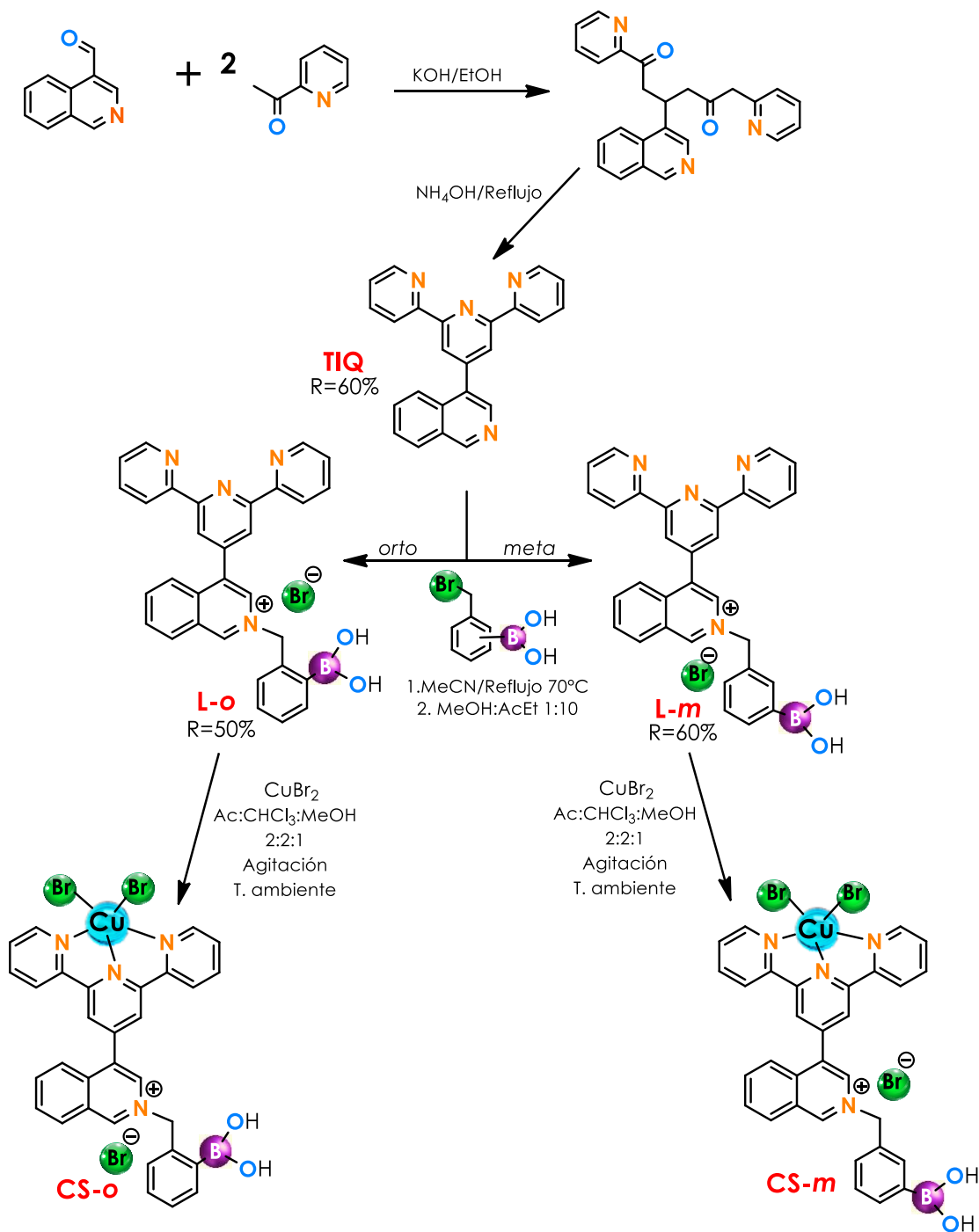
anisotrópicamente  $U_{iso}$  con dependencia al átomo directamente unido usando adicionalmente restricciones de distancia. Los grupos desordenados fueron refinados usando restricciones de geometría y distancia, junto con restricciones de los valores  $U_{ij}$  implementados en SHELXL, las ocupaciones fueron restringidas a valores unitarios. Las Figuras presentadas en la sección de análisis estructural fueron creadas con el software MERCURY.

Para los experimentos por **espectroscopía** de **UV-Vis** se empleó un espectrofotómetro de arreglo de diodos, Cary 100 Agilent, con resolución de 2nm con una precisión de longitud de onda  $\leq \pm 0.5\text{nm}$  y una precisión fotométrica  $\leq \pm 0.005\text{A}$  a 1.2, acoplados a un controlador de temperatura a 25°C. Se utilizaron celdas de cuarzo (Paso óptico [1cm], Volumen [3mL]). La **espectroscopía** de **fluorescencia** se realizó con un espectrómetro Varian modelo Cary Eclipse (ventana espectral de 200 a 800nm), con una exactitud de longitud de onda de  $\pm 0.5\text{ nm}$  y una relación señal ruido 550/1. Las celdas utilizadas son de cuarzo (Paso óptico [1cm], Volumen [3mL]).

También se realizaron estudios de **EPR** en un espectrómetro de resonancia paramagnética electrónica Jeol, JES-TE300, usando metanol como disolvente y a  $T=77\text{K}$ .

### 3. Síntesis

El esquema 3.1 resume la ruta sintética de los receptores empleados en el presente estudio, en los siguientes puntos se describen a detalle las reacciones químicas.

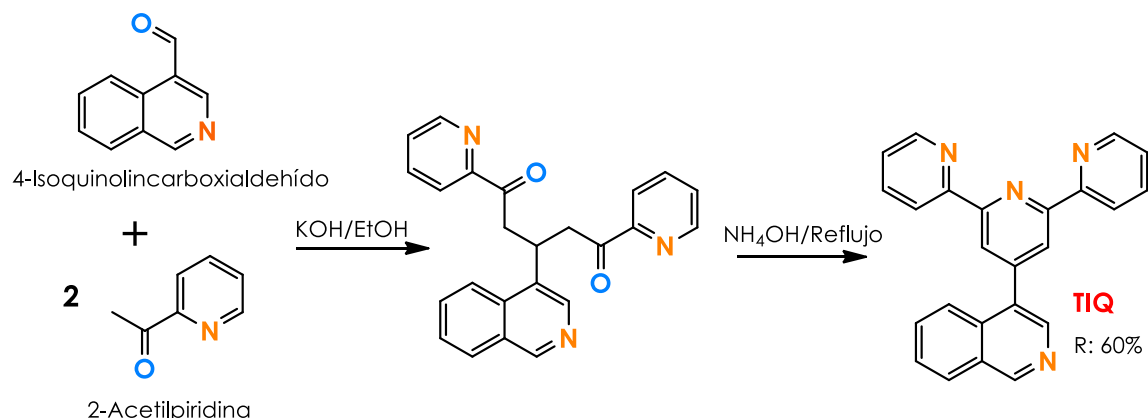


Esquema 3.1 Ruta de síntesis de los receptores CS-o y CS-m.



### 3.1 Síntesis del intermediario TIQ

Se siguió la metodología reportada por B. Laramée-Millette y colaboradores<sup>[78]</sup>, la cual se resume en el siguiente esquema:



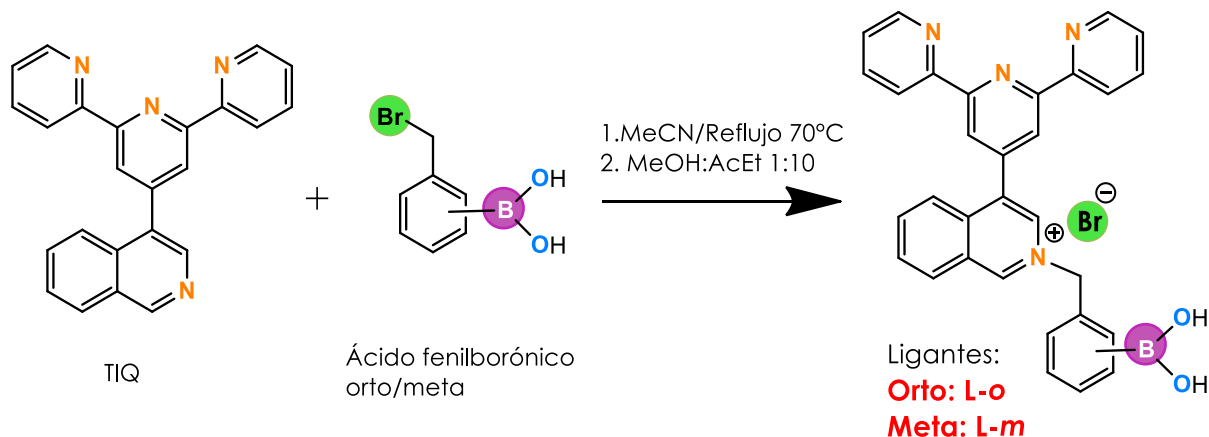
Esquema 3.2 Síntesis del intermediario TIQ.

En un matraz se colocaron 30 mL de etanol y un exceso de KOH, posteriormente se agregó 4-isoquinolincarboxialdehído (200 mg, 1.27mmol) previamente disuelto en 10 mL de etanol, la mezcla se agitó 10 minutos y se agregó gota a gota 2 equivalentes de 2-acetilpiridina (285  $\mu$ L, 2.54 mmol) previamente disuelta en 5 mL del etanol, la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se agregó un exceso de hidróxido de amonio concentrado (10 equivalentes) y la mezcla se colocó a reflujo durante 3 horas. Posteriormente, se redujo la cantidad de disolvente a un 20 % del total, se agregaron 30 mL de agua destilada para la precipitación del producto y se filtró a gravedad. El precipitado se recuperó y fue disuelto en 5 mL de acetona y se realizaron tres extracciones con 15 mL de hexano en cada una, se recuperaron las fracciones con el producto y se eliminó el disolvente en un rotavapor, obteniendo un sólido blanco-beige con un rendimiento de reacción del 60%.

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 9.33 (s, 1H), 8.72 (d, 2H,  $J$  = 8 Hz), 8.68 (d, 2H,  $J$  = 4.7 Hz), 8.66 (s, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.08 (d, 1H,  $J$  = 7.4 Hz), 7.97 (d, 1H,  $J$  = 8.1 Hz), 7.91 (td, 2H,  $J$  = 7.7, 1.8 Hz), 7.70 (m, 2H), 7.37 (m, 2H).  $\text{EM}$  (IE)  $m/z$  [ $M-1$ ] = 359.

### 3.2 Síntesis de los ligantes **L-o** y **L-m**

Una vez obtenido el intermediario **TIQ**, se realizó la reacción correspondiente a la cuaternización de la isoquinolina como se muestra a continuación:



Esquema 3.3 Síntesis de los ligantes **L-o** y **L-m**.

En un matraz se disolvió **TIQ** (100 mg, 0.28 mmol) en 15 mL de acetonitrilo anhidro y se agregó 1.2 eq. de ácido 2-bromometilfenilborónico (72 mg, 0.33 mmol), la mezcla se colocó en agitación y se calentó a reflujo a 70°C durante 72 horas. Se eliminó el disolvente en rotavapor, el producto se disolvió en 2 mL de MOH y posteriormente se agregaron 20 mL de acetato de etilo frío, el precipitado se filtró a vacío. El sólido café claro (**L-o**) se secó a vacío, el producto con 50% de rendimiento se sometió a experimentos de caracterización.

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ =10.08 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.77-8.71 (m, 4H), 8.66 (s, 2H), 8.45 (s, 2H), 8.3 (m, 1H), 8.18-8.06 (m, 5H), 7.81 (d, 1H, J= 6.7 Hz), 7.55 (dd, 2H, J= 7.4, 4.4 Hz), 7.45 (t, 2H, J= 5.8 Hz), 7.34 (m, 1H), 6.24 (s, 2H).  $^{11}\text{B-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ = 27.87.  $^{13}\text{C-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ =156.28 (C), 154.83 (C), 149.75, 148.88 (2CH), 143.38 (C), 138.08, 137.76 (2CH), 136.95, 135.58, 134.03, 133.94, 133.42, 133.36, 131.58, 131.31, 130.49, 128.99, 128.31, 124.99, 124.68 (2CH), 121.74 (2CH), 121.49 (2CH), 64.61 (CH<sub>2</sub>).  $\text{EM}$  (ESI+, CH<sub>3</sub>OH) m/z [M+222]= 717.

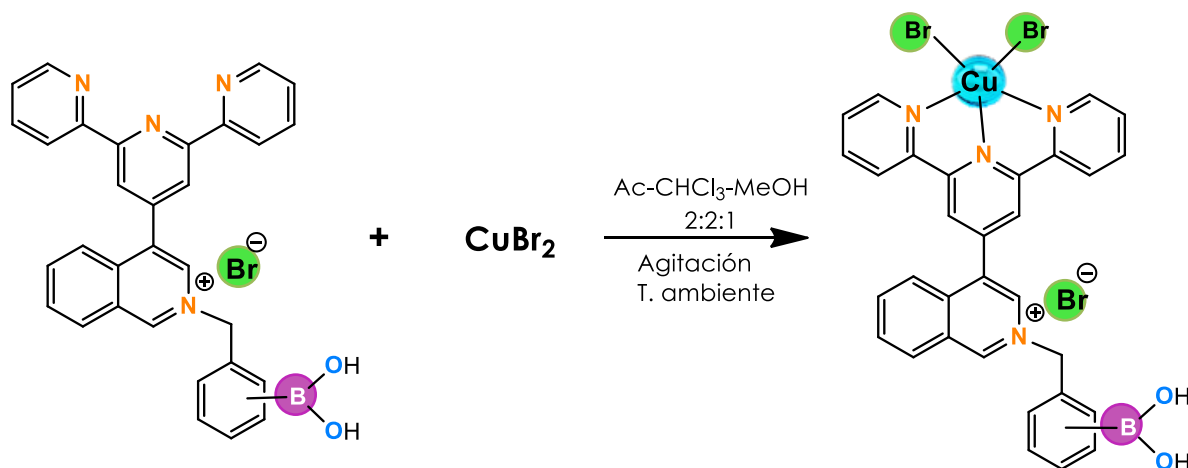
La síntesis de **L-m** se realizó siguiendo el mismo esquema de metodología anterior. Se disolvió **TIQ** (100 mg, 0.28 mmol) en 15 mL de acetonitrilo anhidro y se agregó ácido 3-bromometilfenilborónico (72 mg, 0.33 mmol), la mezcla se colocó en agitación constante y se calentó a reflujo a 70°C durante 96 horas. Se eliminó el disolvente en rotavapor y se disolvió el producto en 2 mL de metanol, posteriormente se agregaron 20 mL de acetato de etilo, el sólido

se filtró y se lavó con 10 mL de una mezcla de acetato de etilo y acetona 3:1. La mezcla se filtró a vacío y el sólido se secó a vacío. Un sólido beige (**L-m**) se obtuvo con un rendimiento del 60%.

$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ = 10.42 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.77-8.68 (m, 7H), 8.30 (d, 1H,  $J$ = 7.2 Hz), 8.19-8.17 (m, 4H), 8.10 (m, 1H), 7.99 (s, 2H), 7.83 (d, 1H,  $J$ = 7.3 Hz), 7.69 (d, 1H,  $J$ = 7.7 Hz), 7.56 (dd, 2H,  $J$ = 6.7, 4.98 Hz), 7.44 (t, 1H,  $J$ = 7.5 Hz), 6.09 (s, 2H).  $^{11}\text{B-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ = 28.14.  $^{13}\text{C-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ = 156.18 (2C), 154.82 (2C), 150.62 (CH), 149.91 (2CH), 143.73 (C), 138.56 (CH), 138.19 (2CH), 136.66 (C), 135.62 (C), 135.35 (CH), 134.99 (CH), 134.79 (2CH), 133.75 (C), 132.02 (CH), 131.91 (CH), 130.96 (CH), 128.71 (CH), 128.30 (C), 125.42 (2CH), 125.23 (CH), 122.06 (2CH), 121.62 (2CH), 64.17 ( $\text{CH}_2$ ).  $\text{EM}$ (ESI+,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $m/z$   $[M+28]$ = 523.

### 3.3 Obtención de los receptores **CS-o** y **CS-m**

La preparación de **CS-o** (**L-o**+ $\text{Cu}^{2+}$ ) y **CS-m** (**L-m**+ $\text{Cu}^{2+}$ ) se realizó de acuerdo con el siguiente esquema:



Esquema 3.4 Síntesis de **CS-o** y **CS-m**.

El ligante **L-o** (20 mg, 0.03 mmol) se disolvió en una mezcla acetona-cloroformo-metanol 2:2:1, la mezcla se calentó ( $50\text{ }^\circ\text{C}$ ) y agitó durante 10 minutos, posteriormente se dejó enfriar manteniendo la agitación y se agregó un equivalente de una solución concentrada de  $\text{CuBr}_2$  en metanol formándose inmediatamente una solución verde. La mezcla se agitó 10 minutos para después colocarse en refrigeración 30 minutos, el sólido verde (**CS-o**) fue recuperado y secado a vacío. Se repitió el mismo proceso con **L-m** para la obtención de **CS-m**. Los rendimientos en estas reacciones fueron del 95%.

**CS-o.**  $\text{EM}$ (ESI+,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $m/z$   $[M-21]$ = 698.

**CS-m.**  $\text{EM}$ (ESI+,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $m/z$   $[M+21]$ = 698.  $\text{IR}$ :  $3324\text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $1357\text{ cm}^{-1}$  (B-O),  $1083\text{ cm}^{-1}$  (C-B),  $433\text{ cm}^{-1}$  (Cu-N).

## 4. Obtención de monocristales

### 4.1 Cristalización de **L-o**

El ligante **L-o** (10 mg, 0.015 mmol) se disolvió en 3 mL de una mezcla de CD<sub>3</sub>CN y acetona 1:6, la mezcla se dejó en reposo durante 72 horas a temperatura ambiente y por evaporación lenta se obtuvieron cristales incoloros adecuados para su difracción.

### 4.2 Cristalización de **CS-m**

El ligante **L-m** (4 mg, 0.007 mmol) se disolvió en 1.4 mL de una mezcla de acetona, CHCl<sub>3</sub> y CH<sub>3</sub>OH 3:3:1, la mezcla se agitó y posteriormente se agregó un equivalente (150 µL) de una solución 30 mM de CuBr<sub>2</sub> en metanol, una vez añadido el metal, se suspendió la agitación. La solución verde translúcida obtenida se conservó a temperatura ambiente en un vial parcialmente abierto y por evaporación lenta se obtuvieron cristales verde oscuro adecuados para su difracción.

## 5. Propiedades ácido-base de **L-o** y **L-m**

Se determinaron los valores de las constantes de acidez ácido borónico-boronato de cada ligante por medio de perfiles de pH contra emisión de fluorescencia en solución acuosa. Lo cual consistió en preparar una solución 2x10<sup>-5</sup> M de **L-o**, en una solución amortiguada 20 mM de MOPS y MES. Se realizó lo mismo para **L-m**, teniendo un pH inicial de 5.

A cada mezcla se hicieron adiciones de una solución concentrada de KOH hasta observar un cambio en el pH (aproximadamente cada 0.5), registrando así cada pH y obteniendo el espectro de emisión tras cada adición ( $\lambda_{\text{ex}}$ : 330 nm y 700 V).

## 6. Estudios de reconocimiento molecular

Los estudios de reconocimiento molecular se siguieron mediante dos métodos: espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia. Dichos estudios se dividen en tres partes (ver Figura 3.1). La primera parte corresponde a las titulaciones hechas con cada analito usando solamente **L-o** y **L-m** por separado, la segunda a las titulaciones ligante-CuBr<sub>2</sub> y la última a las titulaciones de los receptores (**CS-o** y **CS-m**) con los analitos, a continuación, se describirán las condiciones empleadas para cada parte.

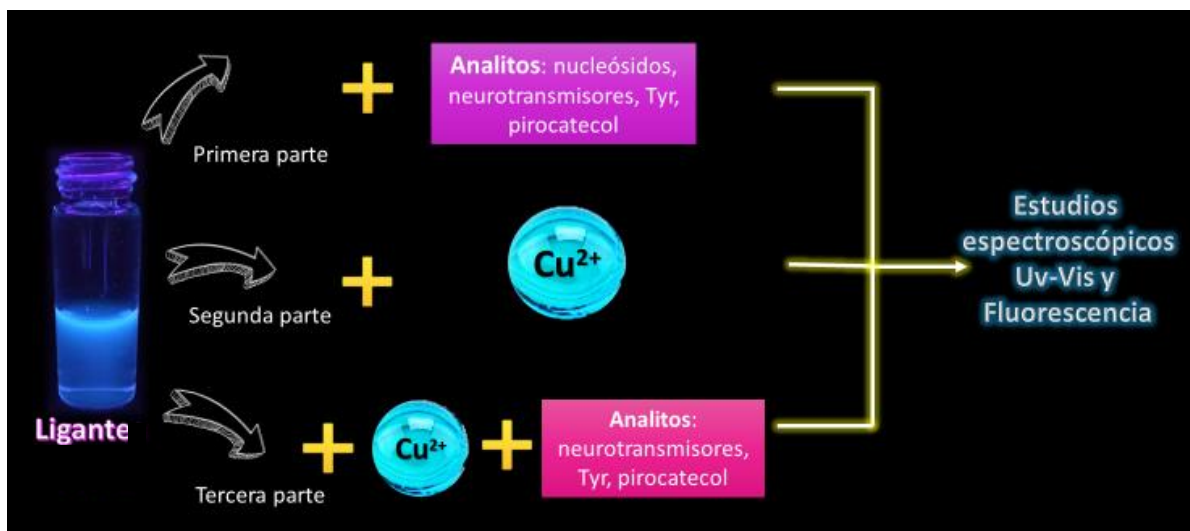


Figura 3.1 Resumen de los estudios de reconocimiento molecular.

En la siguiente Tabla se muestra la concentración de las soluciones usadas:

Tabla 3.1 Concentraciones de las soluciones empleadas en los estudios de reconocimiento molecular.

	Concentración Stock (M)	Concentración en celda (M)
<b>L-o</b>	$2 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-5}$
<b>L-m</b>	$2 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-5}$
CuBr <sub>2</sub>	$5 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-5}$
<b>Analitos</b>		
Pirocatecol	$13.6 \times 10^{-3}$	0 - $24 \times 10^{-5}$
Tirosina (HCl)	$10 \times 10^{-3}$	0 - $40 \times 10^{-5}$
Epinefrina HCl	$6.8 \times 10^{-3}$	0 - $13 \times 10^{-5}$
Dopamina (HCl)	$8.9 \times 10^{-3}$	0 - $17 \times 10^{-5}$
L-DOPA-HCl	$6.3 \times 10^{-3}$	0 - $24 \times 10^{-5}$
Adenosina	$2.3 \times 10^{-3}$	0 - $13 \times 10^{-5}$
Citidina	$2.5 \times 10^{-3}$	0 - $19 \times 10^{-5}$
Guanosina	$1.6 \times 10^{-3}$	0 - $3 \times 10^{-5}$
Uridina	$2.7 \times 10^{-3}$	0 - $20 \times 10^{-5}$

Todos los stocks fueron preparados en metanol para evitar la rápida oxidación en agua que sufren los derivados de catecol y así mismo lograr una mayor solubilidad de los compuestos usados. Es importante mencionar que se usaron diferentes concentraciones para los mismos debido a que la solubilidad de los compuestos es muy variable, resultando así soluciones más concentradas para los compuestos más solubles; estas soluciones fueron usadas en lapsos no mayores a dos

semanas tras su preparación para asegurar su estabilidad y fueron conservadas en refrigeración. Se preparó una solución amortiguadora en medio acuoso de MOPS 40 mM y con pH de 7.4, dicha solución se empleó en la preparación de todas las muestras analizadas, por tal motivo, esta solución se utilizó como blanco en los estudios UV-Vis.

## 6.1 Titulaciones ligante-analito

Se tomó una alícuota de 25  $\mu\text{L}$  de solución stock del ligante, la cual se colocó en una celda de cuarzo y a la que se le adicionaron 2475  $\mu\text{L}$  de la solución amortiguadora, obteniendo de este modo una concentración  $2 \times 10^{-5}\text{M}$  (20  $\mu\text{M}$ ), se obtuvo el espectro de absorción y emisión de esta solución, posteriormente se realizaron adiciones de 3 a 100  $\mu\text{L}$  de la solución stock del analito, tras cada adición se realizó la medición del espectro de absorción y emisión de la mezcla resultante, estos datos fueron guardados para su posterior análisis. Los espectros de emisión obtenidos se realizaron usando una longitud de excitación de 330 nm y 700 V. Esta metodología se siguió con ambos ligantes agregando cada uno de los analitos por separado, es decir, por cada analito se hizo la preparación de una solución de ligante nueva.

## 6.2 Titulaciones ligante-cobre

Se estudió la interacción ligante-cobre en solución realizando la titulación UV-Vis. Se prepararon soluciones 20  $\mu\text{M}$  de los ligantes (por separado) en la solución amortiguadora, se tomó el espectro inicial y posteriormente se realizaron adiciones de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 20 y 25  $\mu\text{L}$  de la solución stock 2.64 mM de  $\text{CuBr}_2$ , obteniendo el espectro tras cada adición, a través de estos espectros se determinó la longitud de excitación a la cual se realizarían los estudios por fluorescencia. Se realizó la misma metodología para las titulaciones por fluorescencia usando 700 V y una longitud de excitación de 314 y 312 nm para **L-o** y **L-m** respectivamente.

## 6.3 Titulaciones receptor-analito

Para estos estudios los receptores fueron preparados *in situ*, es decir, se agregaron a la celda de cuarzo 25  $\mu\text{L}$  de la solución de ligante, 10  $\mu\text{L}$  de la solución de  $\text{CuBr}_2$  5 mM y finalmente 2465  $\mu\text{L}$  de la solución amortiguadora, para tener una concentración del receptor en celda de 20  $\mu\text{M}$ , dichas mezclas se agitaron durante un minuto y se procedió a obtener los espectros iniciales de UV-Vis y fluorescencia, usando para estos últimos las longitudes de onda de excitación mencionadas en la sección anterior de acuerdo al ligante y 750 V. Consecuentemente se realizaron las adiciones de 2 a 100  $\mu\text{L}$  de la solución de analito, tras cada adición se realizó la medición del espectros de absorción y emisión. Del mismo modo se realizaron las titulaciones de ambos ligantes (por separado) con cada analito (todos a excepción de los nucleósidos).

Página intencionalmente en blanco

## Capítulo 4 Resultados y discusión

El capítulo describe los resultados más importantes de este trabajo, enfocados en la obtención de los quimiosensores, su caracterización espectroscópica, así como los estudios de reconocimiento molecular con neurotransmisores derivados de catecolaminas, pirocatecol y nucleósidos, empleando las técnicas espectroscópicas en disolución.

El capítulo se encuentra dividido en diferentes partes, en donde la primera describe la caracterización de **L-m** y las evidencias de la formación de **CS-o** y **CS-m** en estado sólido, mediante estudios de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{11}\text{B}$  y bidimensionales para la mejor asignación de señales, espectrometría de masas e Infrarrojo. La segunda parte incluye el estudio estructural en estado sólido de los monocristales obtenidos, en el cual se hace una descripción detallada de cada cristal de acuerdo con los resultados de difracción de rayos X. La tercera parte involucra los estudios de reconocimiento molecular, en donde se analizan los resultados de las titulaciones UV-Vis y fluorimétricas de **L-o** y **L-m** con los analitos, el comportamiento y las constantes de asociación de la coordinación de estos ligantes con  $\text{Cu}^{2+}$  y finalmente, las titulaciones de **CS-o** y **CS-m** con los analitos seleccionados, así como el efecto que el metal ejerce en el reconocimiento de estos.

### 1. Caracterización

Se llevaron a cabo estudios de caracterización del intermediario y los ligantes para asegurar que el proceso de síntesis seguía la ruta planteada.

En el caso del intermediario se realizaron estudios de RMN  $^1\text{H}$  y espectrometría de masas IE, dichos resultados se pueden consultar en los anexos 1 y 2, gracias a esto se pudieron llevar a cabo las reacciones de cuaternización para la obtención de los ligantes.

Por fines prácticos se presentarán a continuación los estudios de caracterización de sólo **L-m**, dado que la única diferencia en ambos es el cambio de posición del sustituyente  $-\text{B}(\text{OH})_2$  en el anillo bencílico, además de que fue posible obtener la estructura en estado sólido de **L-o** (en los anexos 3-6 se presentan los espectros realizados para la caracterización de este isómero).



## 1.1 L-m

En la Figura 4.1 se presenta el espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtenido para **L-m** en  $\text{DMSO-}d_6$ , el cual integra para 24 protones en total, siendo los más desplazados a campo bajo los H del fragmento isoquinolina aledaños al átomo de N cuaternizado, es notable que ambos protones experimentan una desprotección electrónica respecto a lo mostrado en el espectro de protón de TIQ (anexo 1), pasando de 9.33 y 8.64 a 10.42 y 9.21 ppm.

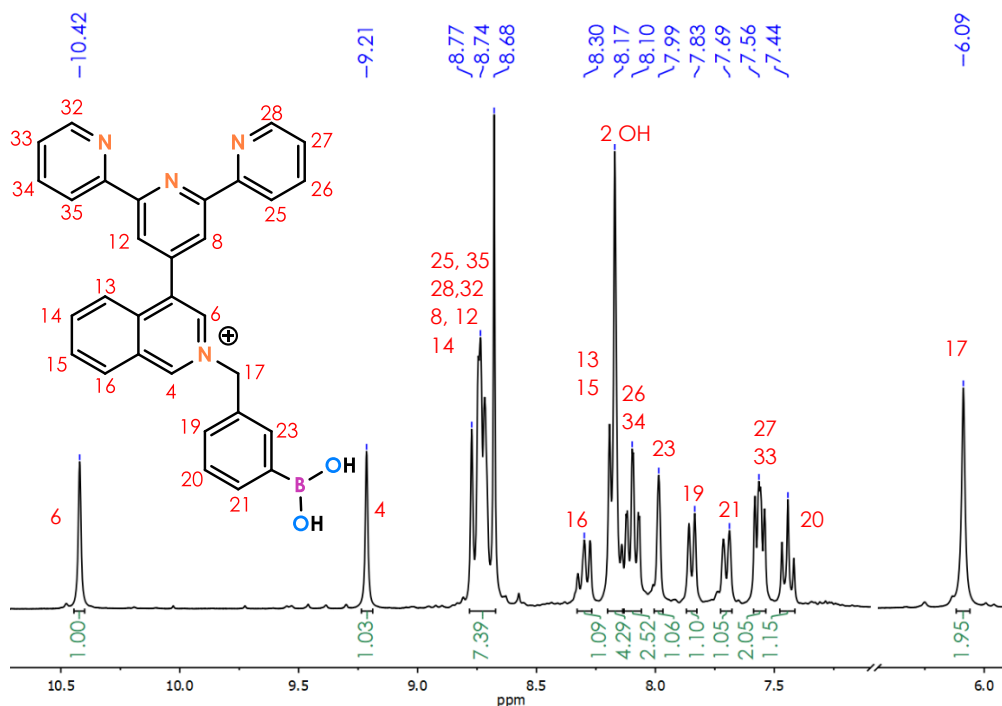


Figura 4.1 Espectro RMN  $^1\text{H}$  de **L-m** en  $\text{DMSO-}d_6$ .

Otro de los indicativos principales que muestra evidencia de la formación del ligante deseado es la aparición de un singulete a 6.09 ppm perteneciente al metileno adyacente al anillo del ácido borónico, de igual manera, esta señal se encuentra más desplazada a campo bajo por influencia del N cuaternizado.

Se obtuvo también el espectro del RMN de  $^{13}\text{C}$  para el ligante (anexo 8), el DEPT 135 y el DEPT 90 con el cual se pudieron identificar los carbonos cuaternarios, el metileno y simplificar el espectro para emplearlo en los experimentos 2D, con lo cual se facilitó la identificación de los protones en los sistemas aromáticos y sus respectivos carbonos.

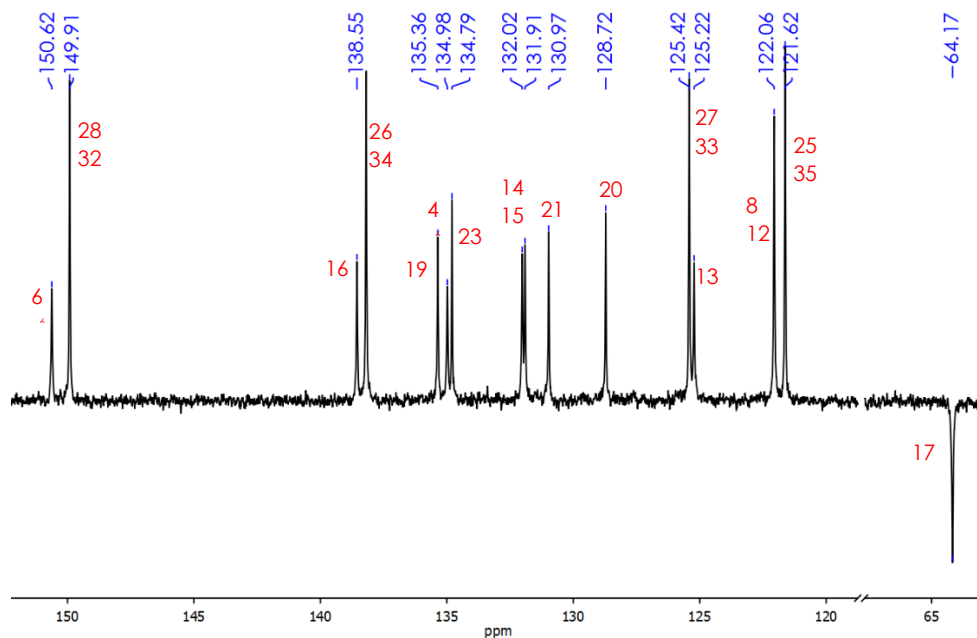


Figura 4.2 Espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135 de *L-m* en  $\text{DMSO-d}_6$ .

En el espectro de la Figura 4.2 se observan 5 señales grandes, cada una representa dos carbonos  $\text{sp}^2$  equivalentes, lo cual indica que estas señales son las pertenecientes al fragmento simétrico de terpiridina. Además, se observan 10 señales pequeñas para carbonos  $\text{sp}^2$  pertenecientes al fragmento isoquinolina y el sistema aromático del ácido fenilborónico.

El análisis del experimento COSY proporcionó información relevante para la asignación de las señales de protón en los sistemas aromáticos de los fragmentos mencionados en el párrafo anterior. La Figura 4.3 muestra dichos resultados, con líneas punteadas moradas se identifican los acoplamientos entre protones pertenecientes al anillo del ácido fenilborónico, a campo alto en 7.44 ppm se ubica el protón 20 que mantiene dos acoplamientos orto con los protones 19 y 21, mientras que la señal más desplazada a campo bajo de este sistema es el protón 23, el cual solo muestra un acoplamiento en posición meta con el H21. Con líneas punteadas amarillas se muestran los acoplamientos de los protones del fragmento terpiridina, en donde se observa que la mayor parte de las señales se encuentran desplazadas a alrededor de 8.84 ppm. También se identificó que el sigulete en 8.17 ppm que integra para dos H, corresponde a la señal de los hidroxilos del ácido borónico, ya que esta señal no se acopla con ninguna otra.

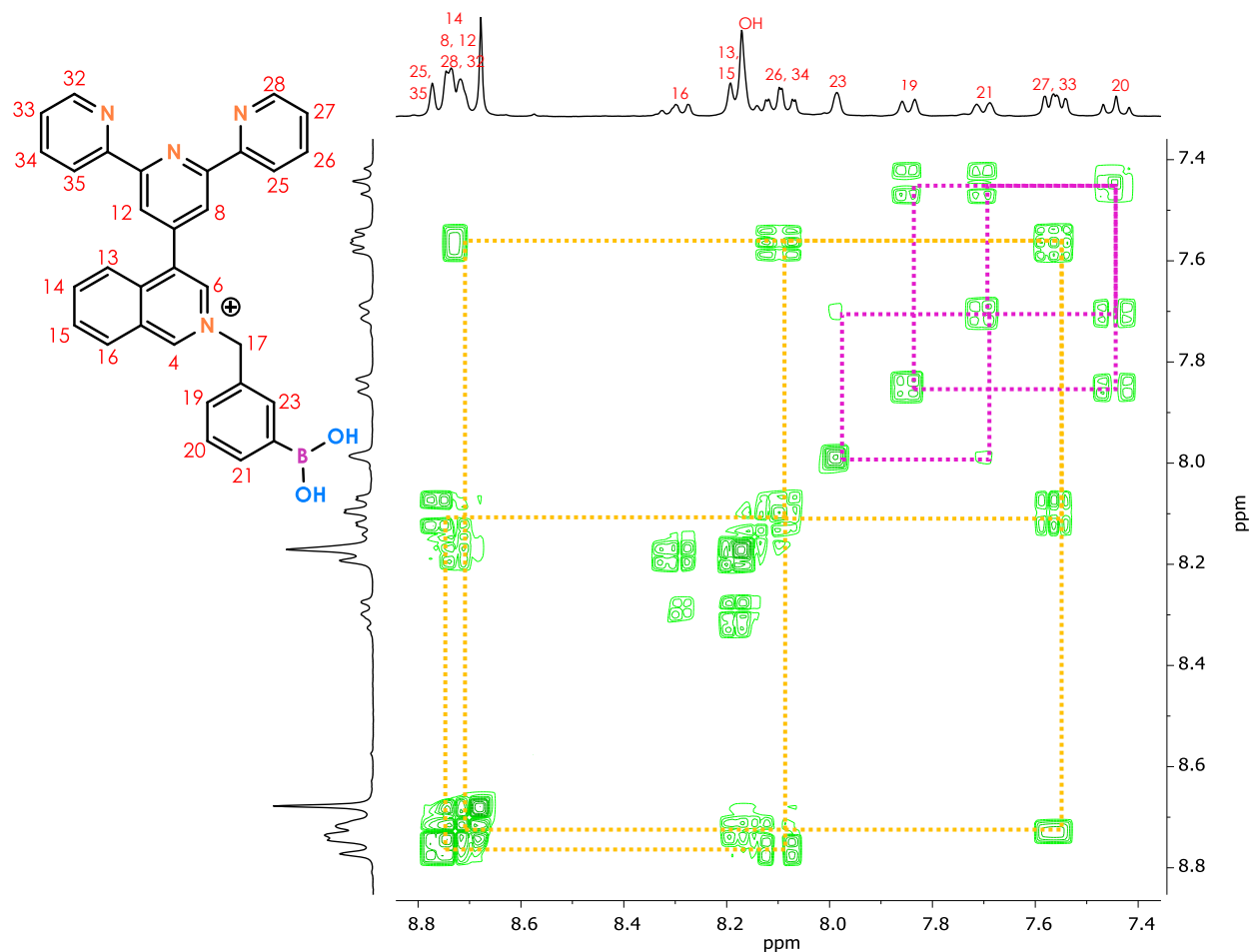


Figura 4.3 Espectro COSY de **L-m**, en morado se representa el sistema aromático del fragmento del ácido fenilborónico y en amarillo el de la terpiridina.

Tomando como referencia las asignaciones hechas en el espectro COSY, se realizó la asignación en el espectro HSQC, el cual se muestra en la Figura 4.4, teniendo en el eje de las abscisas el espectro de protón y en el de las ordenadas el DEPT 90 de  $^{13}\text{C}$ . En ambos espectros se muestra solamente la zona de los protones aromáticos, ya que es la que presenta mayor población de protones.

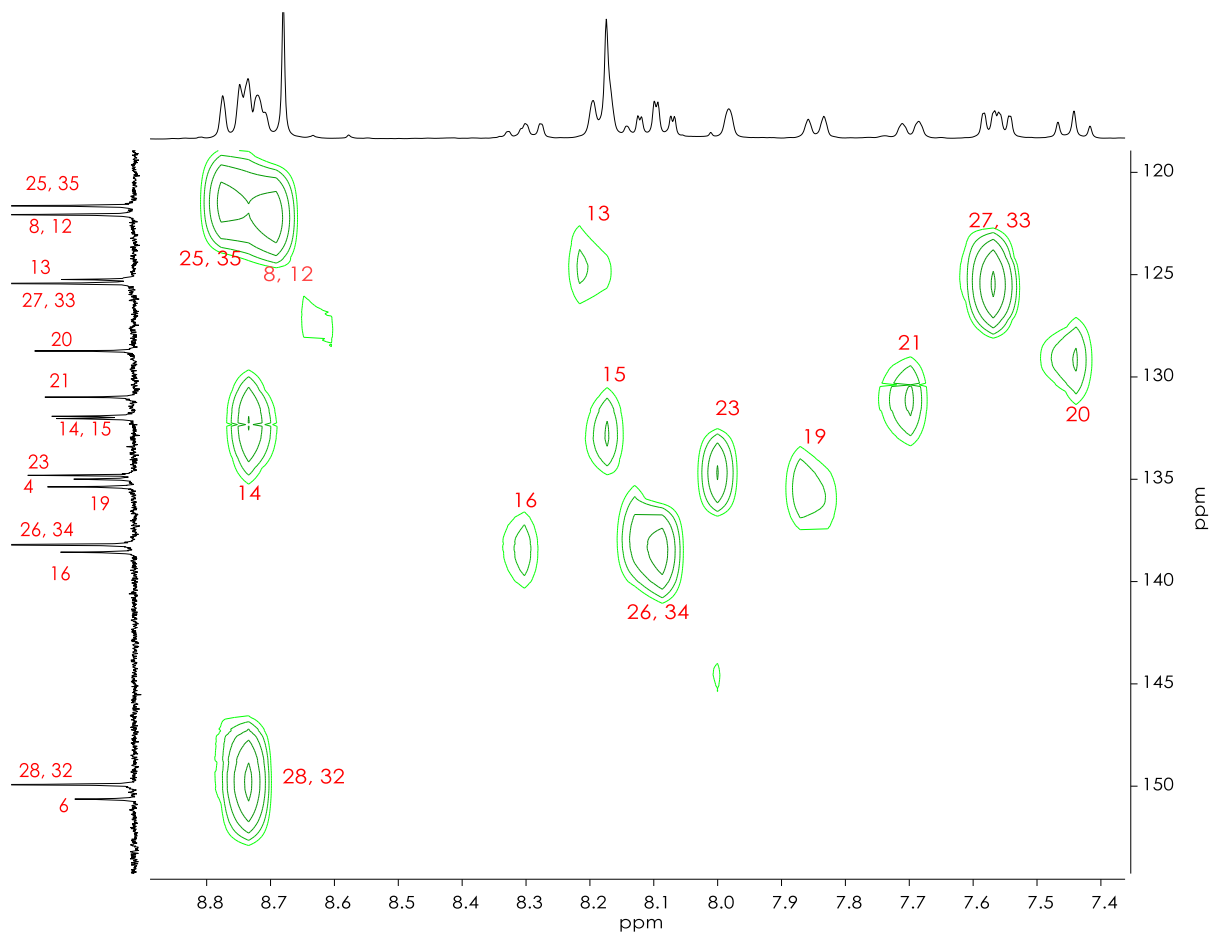


Figura 4.4 Espectro HSQC de *L-m* en  $DMSO-d_6$ .

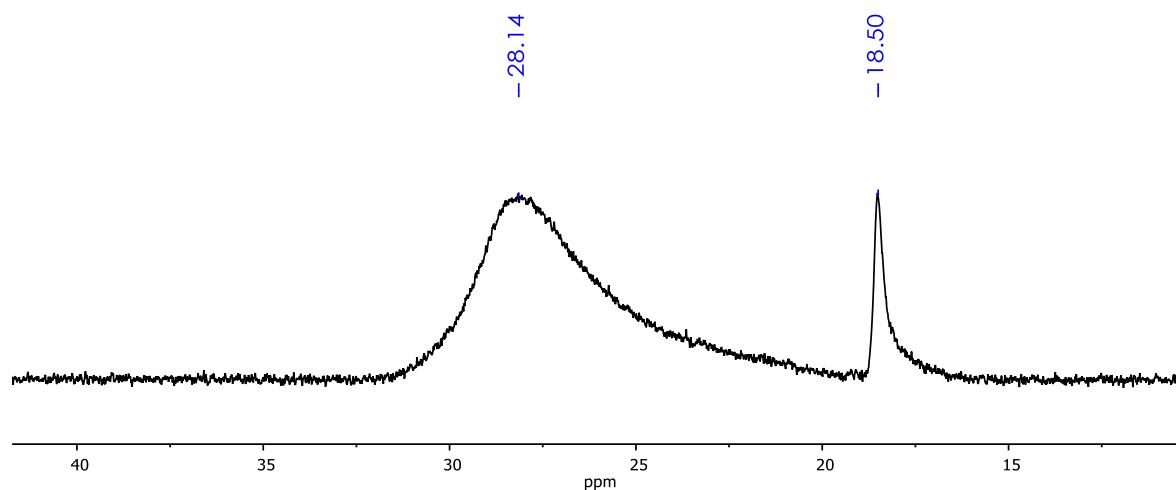


Figura 4.5 Espectro RMN  $^{11}B$  de *L-m* en MeOD. La señal en 28.14 ppm es atribuida al ácido borónico.

Del mismo modo se obtuvo el espectro RMN  $^{11}B$  en MeOD (Figura 4.5), en donde se muestran dos señales, una señal ancha en 28.14 ppm correspondiente a la del ácido fenilborónico<sup>[79]</sup> y la

segunda en 18.50 ppm que se atribuye a la interferencia del borosilicato de los tubos empleados o a la presencia de ácido bórico<sup>[80]</sup>.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el estudio de espectrometría de masas del ligante (Figura 4.6), la técnica empleada fue ESI+ debido a que al tratarse de una molécula iónica se requiere un modo de ionización más suave que IE para lograr ver picos  $m/z$  de la molécula completa.

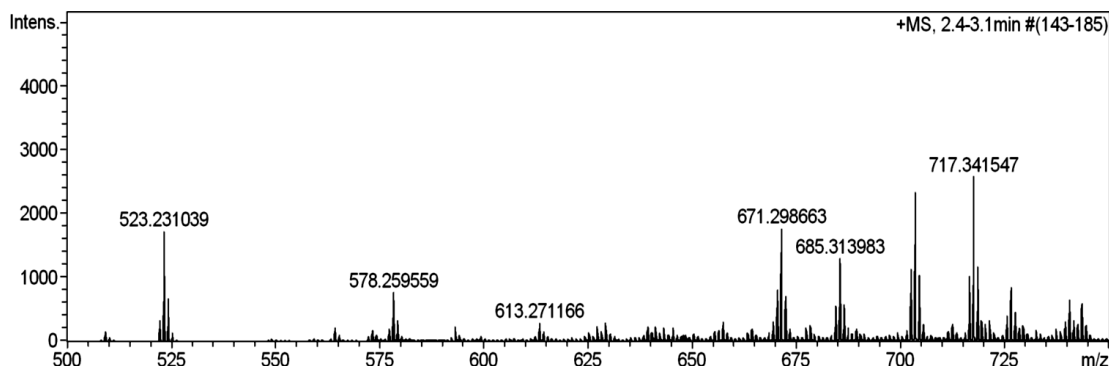


Figura 4.6 Espectro completo ESI+ de **L-m** en metanol.

De acuerdo con las señales observadas se propusieron algunas especies que corresponden con las relaciones  $m/z$  obtenidas en el espectro, a partir de la fórmula condensada de cada una se simuló los patrones de contribución isotópica y estos se compararon con los resultados experimentales.

La Figura 4.7 muestra tres de las especies detectadas en la técnica,  $m/z=523$  es la especie más sencilla en la cual los grupos que originalmente son hidroxilo se metilan, este cambio se debe a que el disolvente aplicado en la técnica fue metanol. Las otras especies son de una masa mucho mayor a la del ligante, éstas implican tener a más de un átomo de nitrógeno en su forma cuaternizada y consecuentemente también a otro átomo con una carga negativa que se encargue de estabilizar la carga neta de la especie detectada. Dicho efecto se puede observar en las otras dos propuestas, en  $m/z=671$  la carga negativa se localiza en uno de los oxígenos del ácido fenilborónico y en  $m/z=717$  el boro adquiere un cuarto ligante que le confiere la carga negativa, en ambas especies un nitrógeno de la terpiridina se cuaterniza. Al realizar una comparación de los patrones de contribución isotópica teóricos, se puede observar que, estos concuerdan en las  $m/z$  del pico de mayor abundancia experimentales reportados en cada especie. Estos resultados confirmaron que **L-m** fue obtenido con éxito mediante el proceso empleado.

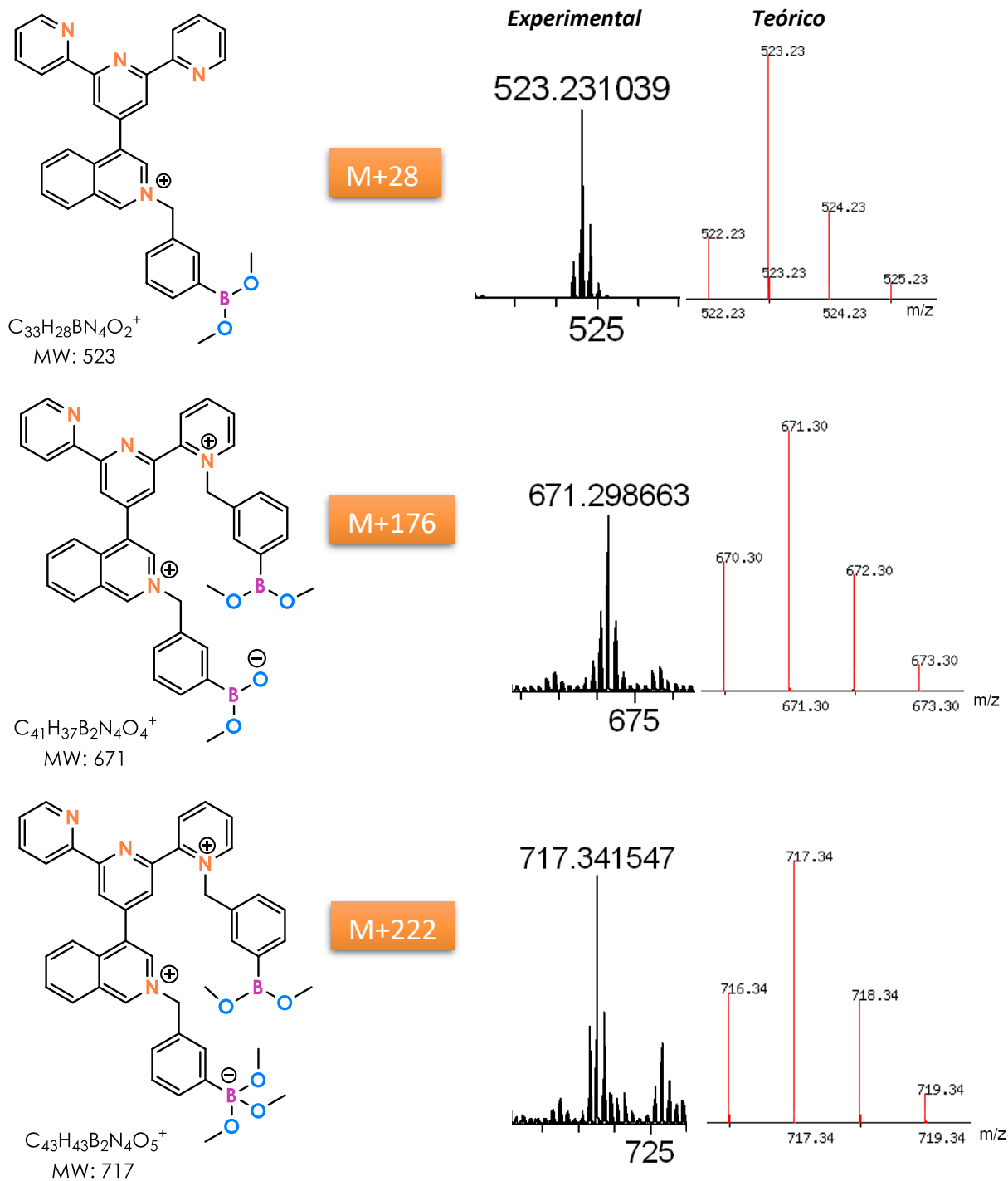


Figura 4.7 Propuestas de las especies detectadas en ESI+ para L-m y patrones de contribución isotópica experimentales y calculados.

## 1.2 Evidencias de la formación de **CS-o** y **CS-m**

Debido a la naturaleza paramagnética del centro metálico  $\text{Cu}^{2+}$ , no fue posible emplear estudios de RMN  $^1\text{H}$  como una técnica de caracterización para los productos **CS-o** y **CS-m**, por lo que sometieron a estudios de IR y ESI+, para mostrar evidencia de la formación de ambos complejos.

A continuación, se presenta el espectro ESI+ de **CS-o** (en metanol), en donde se observa un pico base en  $m/z = 698.08$ , dicha relación  $m/z$  se atribuye a la especie indicada en la Figura 4.8, en donde el fragmento terpiridina se encuentra coordinando al centro metálico, actuando como un quelante tridentado y a su vez el átomo de cobre se encuentra estableciendo un enlace con un átomo de bromo, que estabiliza una de sus cargas positivas. Además, el boro se encuentra en forma de boronato, con tres sustituyentes metoxi debido a la interacción de los grupos OH con el metanol empleado en la técnica, obteniendo así una especie con una carga total de  $1+$  capaz de ser identificada bajo esta técnica de ionización.

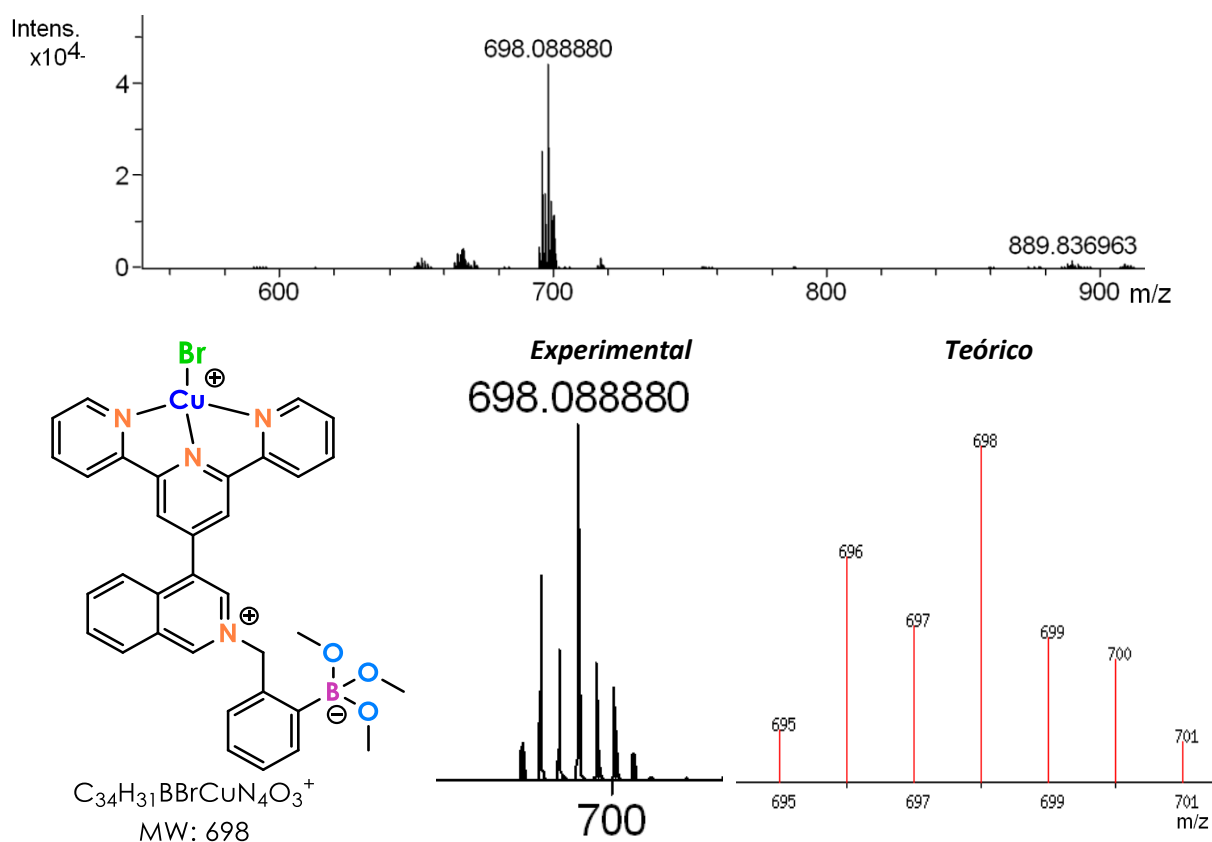


Figura 4.8 Arriba: espectro ESI+ de **CS-o**. Abajo: Propuesta de la especie del pico base y sus contribuciones isotópicas experimentales (izquierda) y teóricas (derecha).

Se obtuvo un resultado similar para **CS-m**, en la Figura 4.9 se observa que el pico base se encuentra en  $m/z = 698.091183$  y se atribuye a una especie análoga a la anterior, ya que presenta el mismo patrón de contribución isotópica. En ambos casos se presenta la comparación de las contribuciones isotópicas experimentales y teóricas, en el cual se aprecia que los resultados son congruentes para especies con dicha fórmula molecular.

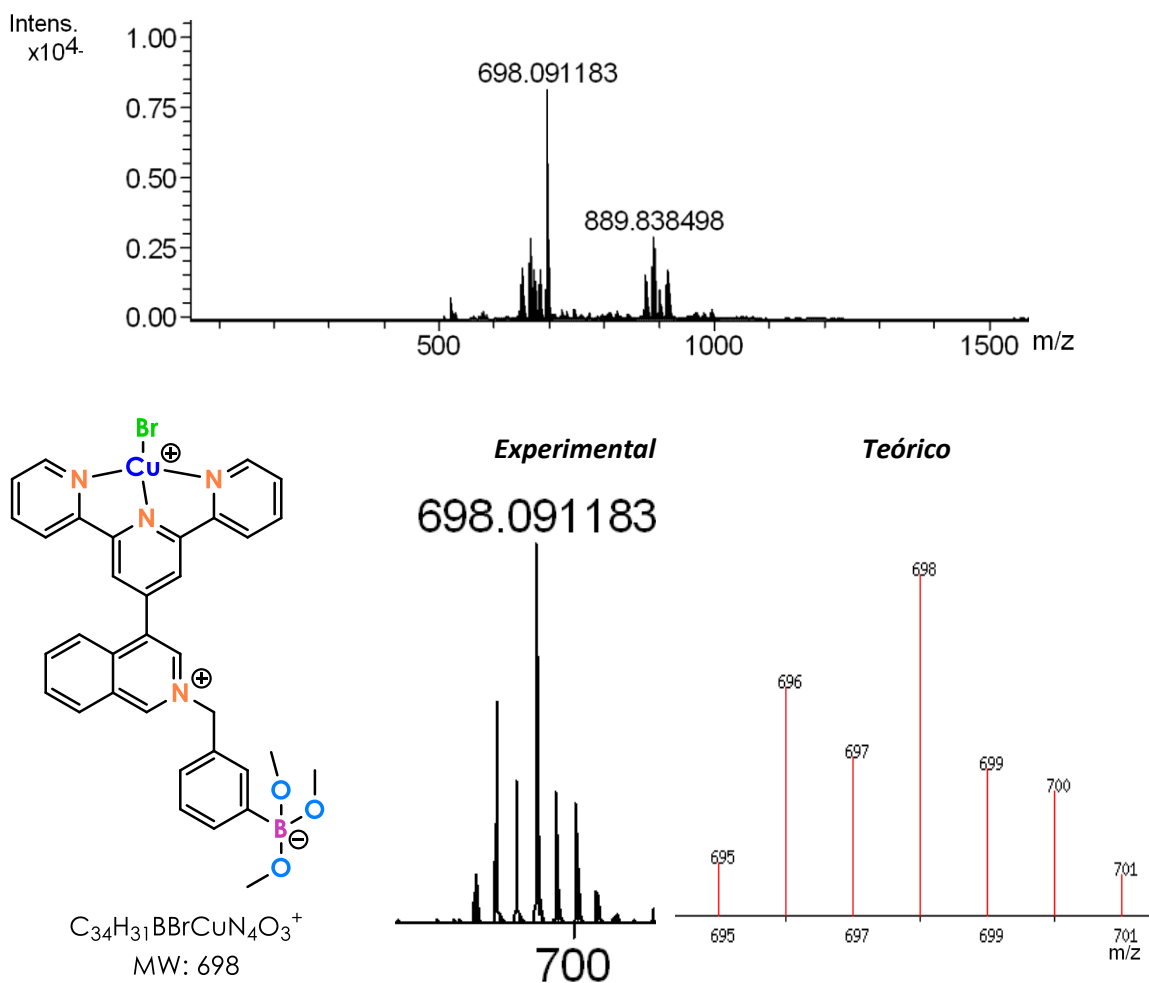


Figura 4.9 Arriba: espectro ESI+ de **CS-m**. Abajo: Propuesta de la especie del pico base y sus contribuciones isotópicas.

La Figura 4.10 muestra una comparación de los espectros IR de **L-m** (negro) y **CS-m** (rojo), en donde se destacan algunas de las señales características de las moléculas, correspondiendo éstas, a estiramientos asimétricos para los enlaces que involucran al átomo de boro y al grupo OH<sup>[81-83]</sup>. En el espectro de **CS-m** se observa la aparición de una señal medianamente fuerte en  $433\text{ cm}^{-1}$ , la cual se atribuye al estiramiento Cu-N<sup>[84]</sup>, dicha información indica una coordinación de la terpiridina al centro metálico, mediante esta técnica no fue posible observar más



estiramientos asociados al átomo de  $\text{Cu}^{2+}$ , ya que estos aparecen en números de onda más bajos, sin embargo, respalda parte de la información obtenida en los estudios de ESI+.

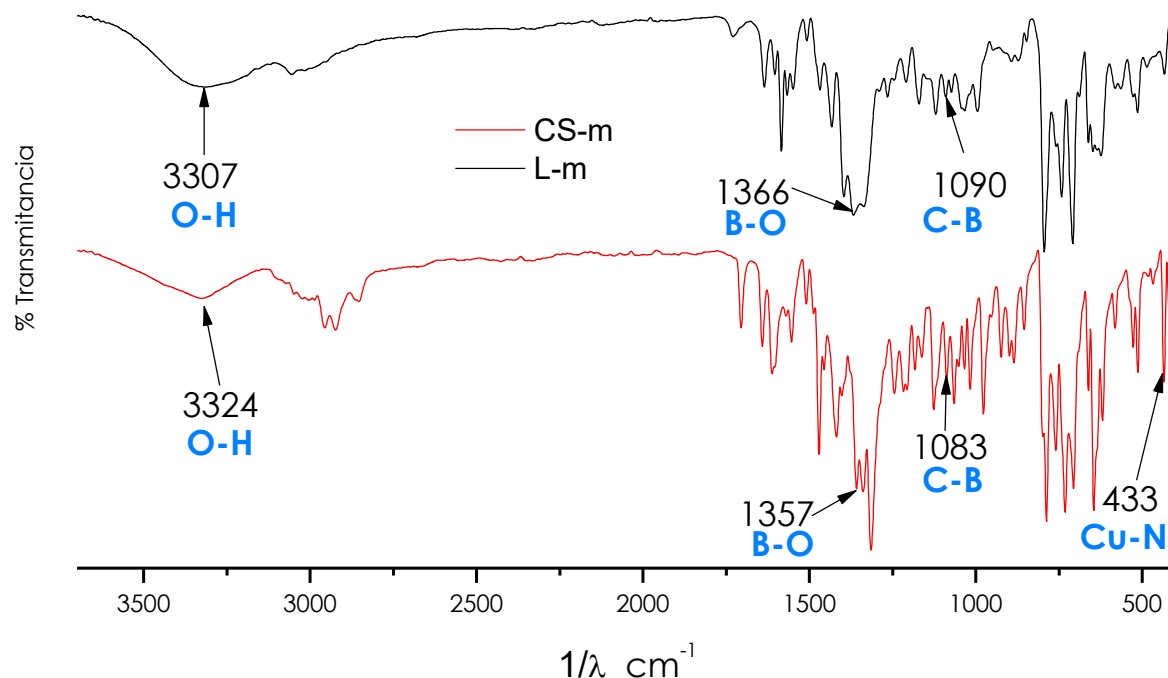


Figura 4.10 Espectros IR L-m (negro) y CS-m (rojo).

## 2. Análisis estructural en estado sólido

En esta sección se analizarán las estructuras cristalinas obtenidas por difracción de rayos X de monocristal del **L-o** y **CS-m**, se realizaron múltiples intentos para la cristalización de **L-m** y **CS-o** en donde se variaron los disolventes e incluso la técnica de cristalización, sin embargo, no fue posible obtener productos adecuados para este tipo de estudio. Cabe mencionar que se obtuvieron dos solvatomorfos del complejo **CS-m**, en donde la principal diferencia es la presencia de distintos disolventes de cristalización en la unidad asimétrica de cada una, por esa razón fueron nombradas **CS-m[cloroformo]** y **CS-m[acetona]**, la primera estructura fue obtenida mediante el proceso descrito en la parte experimental y la segunda mediante una variante de éste que se describirá más adelante.

En la siguiente tabla se presentan los datos cristalográficos y los parámetros geométricos obtenidos:

Tabla 4.1 Resumen de los datos cristalográficos.

	<b>L-o</b>	<b>CS-m[cloroformo]</b>	<b>CS-m[acetona]</b>
Fórmula	C <sub>34</sub> H <sub>32</sub> BN <sub>4</sub> O <sub>4</sub> Br	C <sub>33</sub> H <sub>27</sub> BN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> Br <sub>2.54</sub> Cl <sub>3.46</sub> Cu	C <sub>35</sub> H <sub>32</sub> BN <sub>4</sub> O <sub>3</sub> Br <sub>2.31</sub> Cl <sub>0.69</sub> Cu
PM (g/mol)	651.36	911.55	840.18
Temperatura (K)	100	100	100
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	Pbca	P2 <sub>1</sub> /n	P2 <sub>1</sub> /n
a (Å)	26.1551 (6)	10.4148 (2)	14.4400(3)
b (Å)	7.4526 (2)	13.5810 (12)	13.5916(3)
c (Å)	31.3005 (7)	25.1875 (5)	18.3264(4)
α (°)	90	90	90
β (°)	90	99.613 (1)	103.4419(9)
γ (°)	90	90	90
Volumen (Å <sup>3</sup> )	6101.2 (3)	3512.58 (12)	34998.26(13)
ρ (g/cm <sup>3</sup> )	1.418	1.724	1.595
Z	8	4	4
R	0.0428 (4781)	0.0489 (5876)	0.0294(6187)
μ (mm <sup>-1</sup> )	2.206	6.987	4.787
F000	2688	1803	1683
wR2	0.1228(5764)	0.1456 (6649)	0.0844(6535)
h, k, l max	31, 8, 37	12, 16, 31	17, 16, 22

## 2.1 L-o

**L-o** cristalizó en el sistema ortorrómbico y con grupo espacial *Pbca*, conteniendo así 8 unidades asimétricas en la celda unitaria.

La unidad asimétrica contiene el ligante catiónico **L-o** con fórmula C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, con bromuro como contraión, una molécula de agua y una de acetona, estas últimas como disolventes de cristalización. Cabe mencionar que no se utilizó agua como disolvente en el sistema de cristalización, sin embargo, es muy probable que la acetona empleada la contuviera.

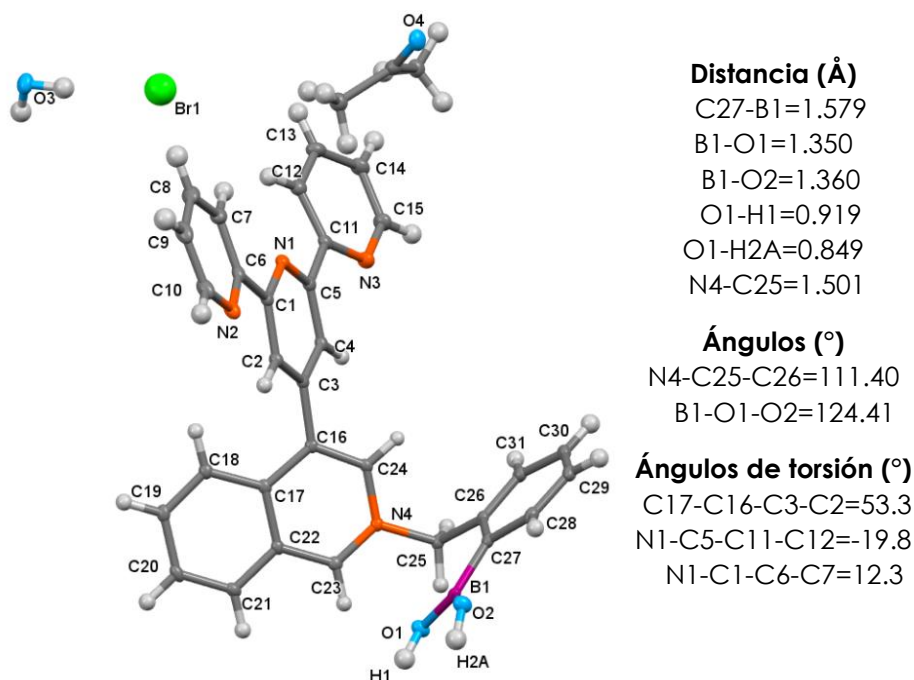


Figura 4.11 Estructura de rayos X de monocristal de **L-o**, longitudes de enlace, ángulos y ángulos de torsión destacados.

En la Figura 4.11 se muestra la unidad asimétrica del ligante y la numeración designada para los átomos, al igual que algunas de las distancias de enlace y ángulos destacados. Se puede observar en la estructura que en el fragmento terpiridina el anillo central no se encuentra alineado con la isoquinolina, dando como resultado un ángulo de torsión C17-C16-C3-C2 de 53.34°, así mismo, los otros dos anillos presentan una pequeña distorsión respecto al anillo central con ángulos de torsión de 12.32 y 19.76°.

La longitud promedio del enlace B-O en el cristal es 1.355 Å, que es menor que el reportado por Retting S. y Trotter J. en el ácido fenilborónico<sup>[85]</sup>, en la cual se obtuvieron longitudes de enlace B-O de 1.371 Å y O-H de 0.75 Å, tomando en cuenta este último valor, las longitudes de los enlace O-H en la estructura de **L-o** son mayores con medidas de 0.919 y 849 Å. En la Figura 4.12 se muestran dos moléculas (**25** y **26**)<sup>[86,87]</sup> con estructuras similares a **L-o**, en ambas el metileno vecino al anillo aromático (C7) se encuentra enlazado a un heteroátomo (O y N respectivamente).

Para la estructura **25** la longitud promedio B-O es 1.363 Å y para B 1.357Å, estas distancias y las reportadas en el ligante son menores a las del ácido fenilborónico, lo cual se atribuye a la presencia de los heteroátomos. Por otro lado, al comparar las medias de enlace de la estructura **26** y **L-o** (ver Tabla 4.2), resulta ligeramente menor la longitud promedio de enlace B-O en **L-o**, lo cual significa que este enlace se reduce debido a la cuaternización del nitrógeno vecino al

metileno, esto también se refleja en el enlace O-H, mientras que en la estructura **26** el enlace O-H de mayor magnitud es de 0.909 Å, en **L-o** es de 0.919 Å.

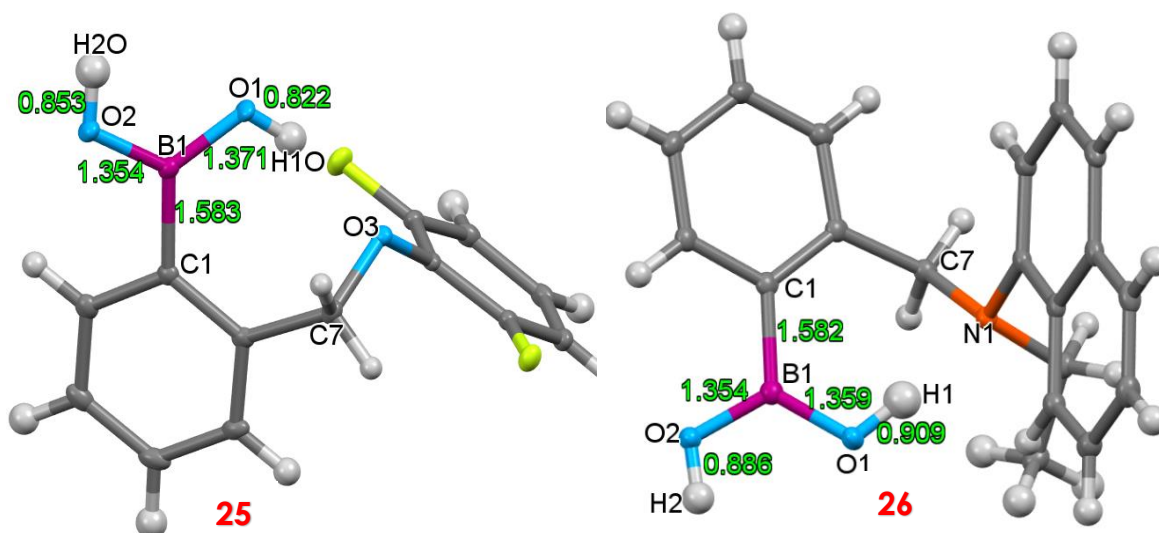


Figura 4.12 Estructuras cristalográficas de moléculas con el mismo fragmento de ácido fenilborónico que L-o.

Tabla 4.2 Longitud en Å de los enlaces aledaños al boro del ácido fenilborónico, estructura 25, 26 y L-o.

Enlace	Ácido			
	fenilborónico (Å)	25 (Å)	26 (Å)	L-o (Å)
C-B	1.568	1.583	1.581	1.579
B-O (1)	1.371	1.371	1.359	1.350
B-O (2)	1.373	1.354	1.354	1.360
O-H (1)	0.75	0.822	0.909	0.919
O-H (2)	0.75	0.853	0.886	0.841

La Figura 4.13 muestra los centroides designados en la estructura del ligante que resultan importantes en la descripción de las interacciones aromáticas, éstas se verán más adelante.

En la Figura 4.14 se observa el crecimiento del cristal a lo largo del eje b, este se encuentra dirigido principalmente por dos tipos de interacciones supramoleculares: los enlaces de hidrógeno y el apilamiento  $\pi$ .

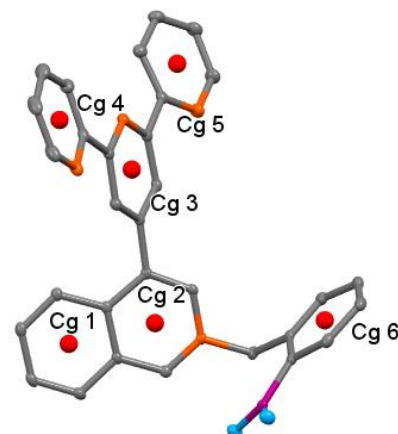


Figura 4.13 Designación de los centroides en la estructura cristalina.

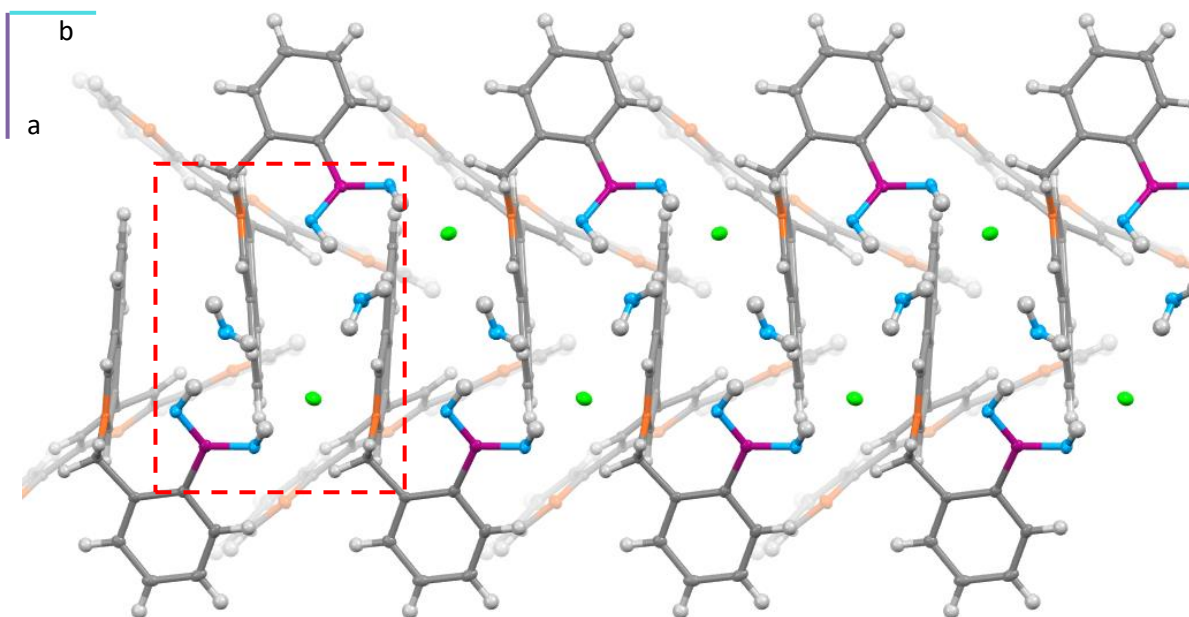


Figura 4.14 Empaquetamiento de la estructura cristalina L-o a lo largo del eje b.

La Figura 4.15 muestra una ampliación de la zona marcada en rojo en la imagen anterior, se observan los enlaces de hidrógeno establecidos en la estructura y las distancias  $H \cdots A$  (A=aceptor de H). Se distinguen 4 diferentes enlaces.

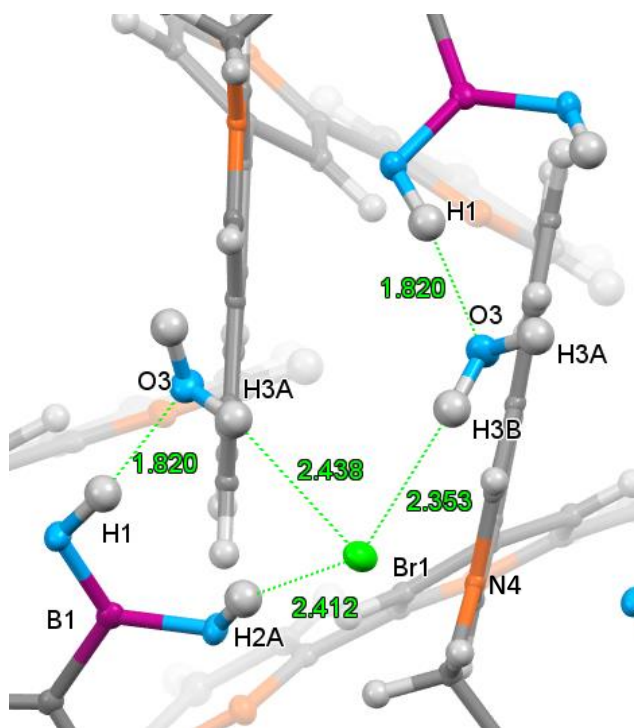


Figura 4.15 Enlaces de hidrógeno en la estructura cristalina de L-o.

Los hidrógenos H1 y H2A son los pertenecientes a los grupos hidroxilo del ácido borónico, uno de ellos establece una interacción con la molécula de agua de cristalización; por otra parte, las otras interacciones involucran la participación del contraion bromuro como aceptor, que establece tres enlaces de hidrógeno, uno con el segundo hidroxilo del ácido fenilborónico (H2A) y otros dos con hidrógenos de dos moléculas de agua distintas (H3A, H3B), además este anión se encuentra ubicado de manera cercana al N4 (con carga parcial positiva) que es el nitrógeno cuaternizado del fragmento isoquinolina.

En la Tabla 4.3 se resumen los parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en la red cristalina.

Tabla 4.3 Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno.

	Interacción	D...A (Å)	H...A (Å)	∠ DHA (°)
1	O1-H1...O3	2.715	1.822	164
2	O2-H2A...Br1	3.23	2.412	162
3	O3-H3A...Br1	3.276	2.441	152
4	O3-H3B...Br1	3.265	2.354	173

De acuerdo con la clasificación de los enlaces de hidrógeno hecha por Jeffrey<sup>[14]</sup>, los encontrados son del tipo moderado.

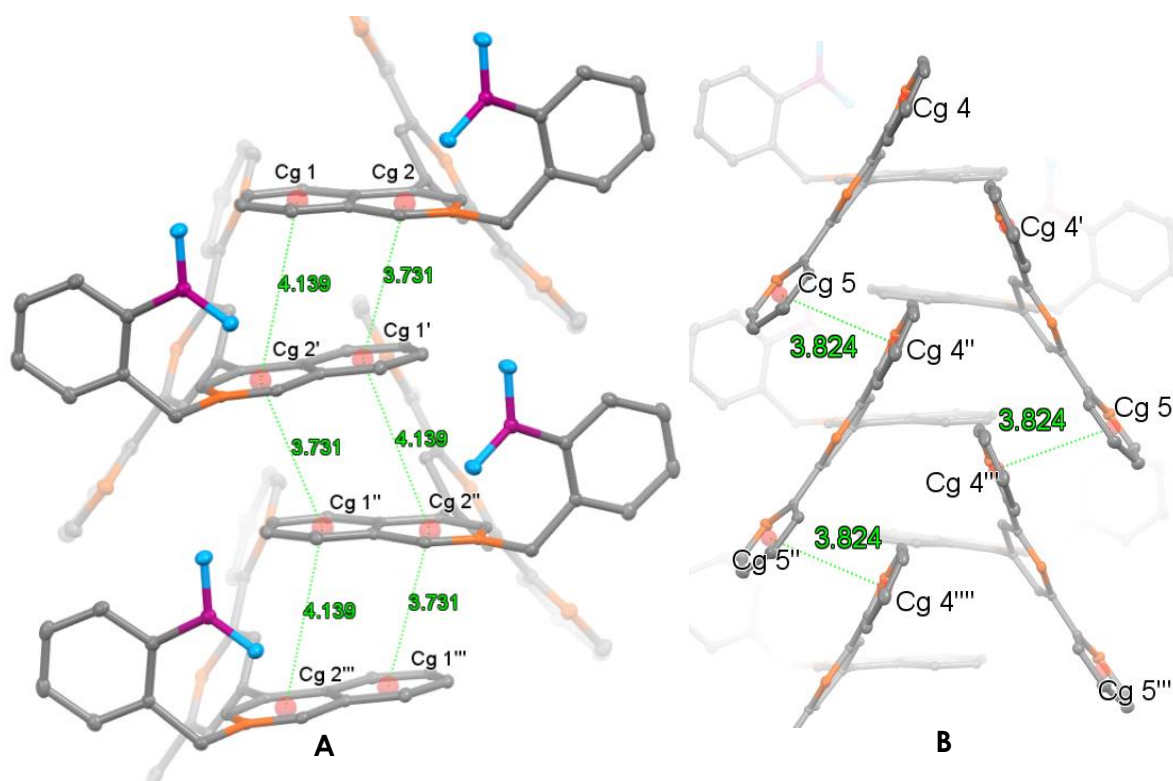


Figura 4.16 Interacciones aromáticas de la estructura cristalina del L-o, se omiten las moléculas de disolvente para claridad. A: Apilamiento  $\pi$  de los anillos de isoquinolina mediante la interacción de 3.73 Å. B: Interacción aromática entre los anillos de piridina.

Los anillos de la isoquinolina establecen un apilamiento  $\pi$  entre ellas con un orden intercalado (Figura 4.16 A), es decir, el Cg2 de la primera molécula muestra una interacción con el Cg1 de la segunda molécula (Cg1') con distancias de 3.731 Å, un desplazamiento de 0.852 Å y ángulo de inclinación entre planos de 9.16°. La connotación prima ('), biprima ('') y triprima ('''') se utiliza para referirse a la misma posición del ligante, pero de moléculas diferentes a la inicial numeradas como 2, 3 y 4 respectivamente. Se muestra la distancia de separación entre los centroides Cg1 y

Cg2', el valor de esta indica que no se establece una interacción aromática entre estos anillos aromáticos, ya que de acuerdo con referencias previas la distancia centroide-centroide en una interacción  $\pi$  se encuentra en el intervalo de 3.3 y 4 Å [88,89].

La segunda interacción aromática (Figura 4.16 B) se identificó entre los anillos que conforman el fragmento terpiridina, ésta se lleva entre el Cg5 de la primera molécula de ligante y el Cg4 de la tercera molécula, tiene una distancia centroide-centroide de 3.824 Å, desplazamiento de 0.724 Å y ángulo entre planos de 17.97°, se observa en ambos lados del apilamiento de los fragmentos isoquinolina.

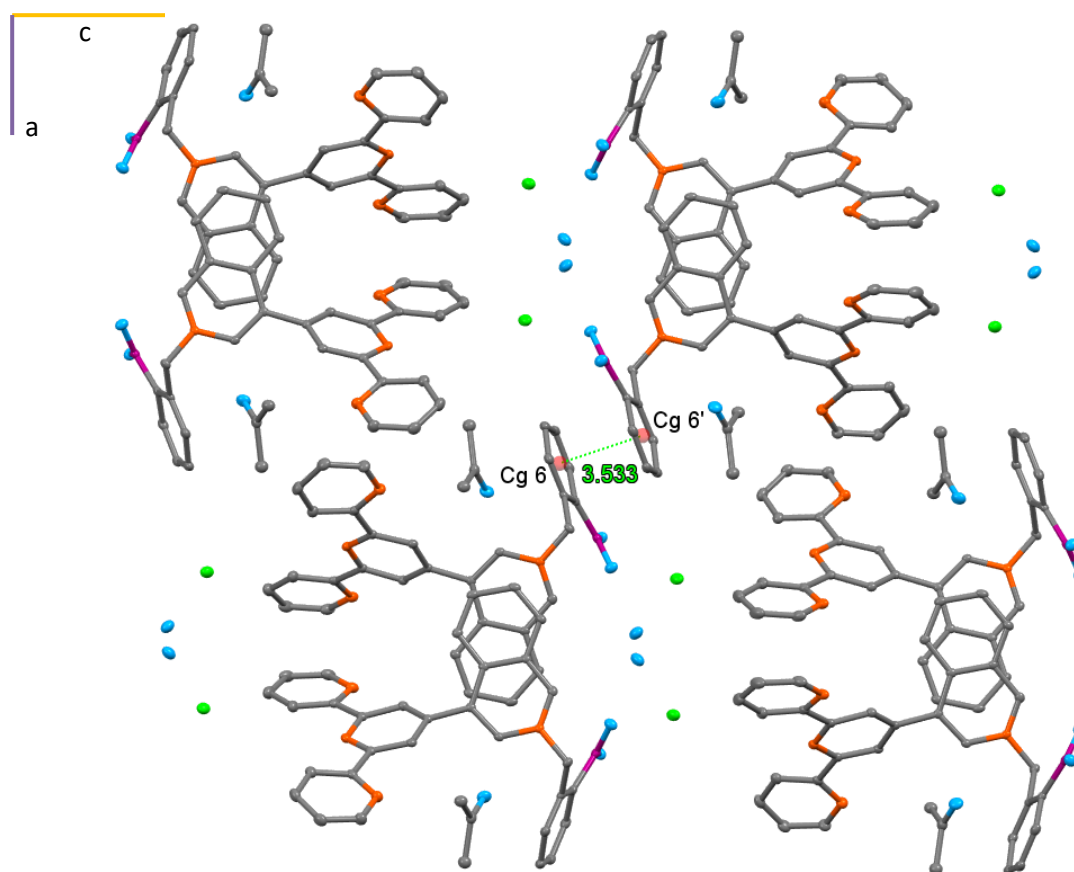


Figura 4.17 Identificación de la cuarta interacción aromática dentro de la celda unitaria.

La Figura 4.17 muestra el empaquetamiento en el plano ac de las ocho unidades asimétricas dentro de la celda unitaria, en este acomodo se puede identificar una tercera interacción de tipo aromático dado en el centro de la celda entre dos fragmentos fenilo del ligante. Dicha interacción presenta una longitud centroide-centroide de 3.533 Å.

## 2.2 CS-*m*[cloroformo]

**CS-*m*[cloroformo]** cristaliza en el sistema monoclinico y con grupo espacial  $P2_1/n$ , conteniendo 4 unidades asimétricas en la celda unitaria. La unidad asimétrica contiene el complejo entre el **L-*m*** y el ion metálico  $\text{Cu}^{2+}$ , dos átomos de bromo coordinados al metal, un átomo de bromuro como contraión y una molécula de cloroformo como disolvente de cristalización.

El ion  $\text{Cu}^{2+}$  presenta el número de coordinación 5, su esfera de coordinación está integrada por el fragmento terpiridina, unido como quelato tridentado [N1, N2 y N3] y dos átomos de bromo que neutralizan su carga (Figura 4.18).

La estructura cristalina muestra que en el ácido borónico uno de los grupos hidroxilo se encuentra metilado debido a que en el sistema de cristalización se empleó metanol como disolvente, es conocido que los ácidos borónicos en medio acuoso pueden establecer enlaces covalentes dinámicos con alcoholes y polioles formando ésteres borónicos<sup>[90]</sup>, en este caso, la formación de este enlace favoreció la cristalización del complejo.

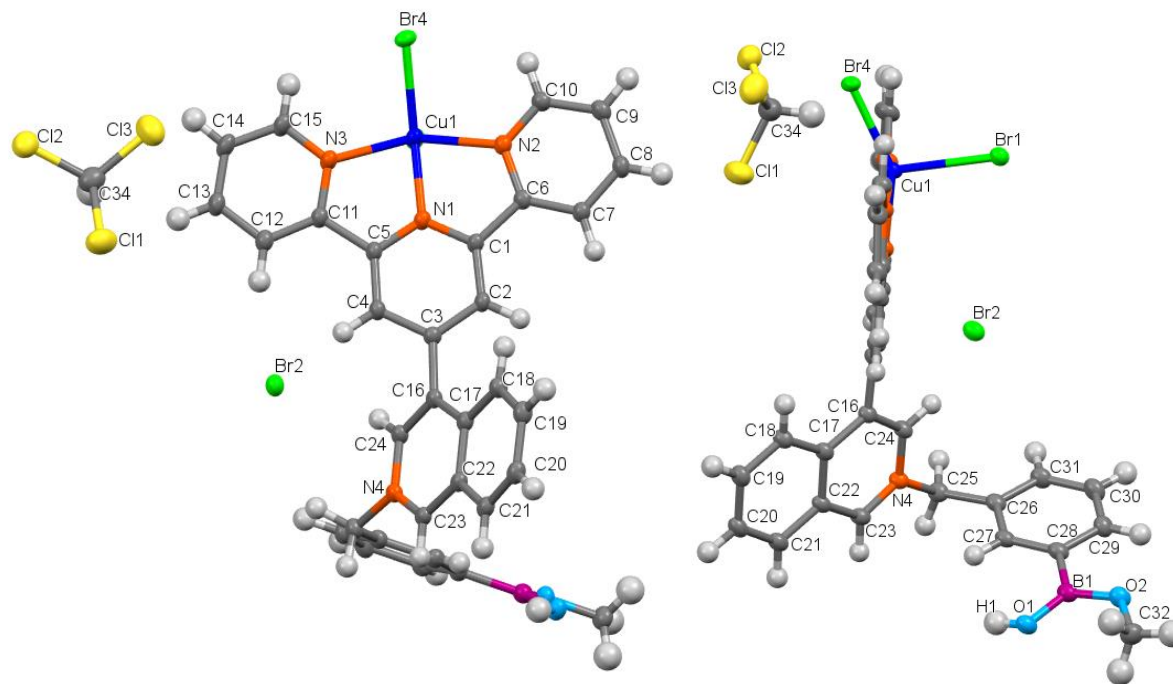


Figura 4.18 Perspectivas y numeración de los átomos de la unidad asimétrica de **CS-*m*[cloroformo]**.

La Figura 4.18 muestra la unidad asimétrica del complejo en dos distintas perspectivas para facilitar la identificación de los átomos en el mismo. Se observa que a diferencia de la estructura cristalina del **L-*o*** (ver Figura 4.18) en ésta, el fragmento terpiridina no muestra grandes torsiones y que los átomos de nitrógeno se encuentran orientados hacia el centro para poder coordinarse



al átomo metálico Cu<sup>2+</sup>. Las distancias y ángulos de enlace de la esfera de coordinación de Cu<sup>2+</sup> se presentan en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Distancias y ángulos de enlace de la esfera de coordinación de Cu<sup>2+</sup> en **CS-m[cloroformo]**.

Enlace	Distancia (Å)	Enlace	∠ (°)
<b>Cu1-N1</b>	1.956	N1-Cu1-N2	78.70
<b>Cu1-N2</b>	2.051	N1-Cu1-N3	79.63
<b>Cu1-N3</b>	2.042	N3-Cu1-Br4	97.74
<b>Cu1-Br1</b>	2.598	N2-Cu1-Br4	97.50
<b>Cu1-Br4</b>	2.375	N1-Cu1-Br1	103.37
		N2-Cu1-Br1	95.77
		N3-Cu1-Br1	95.86
		Br1-Cu1-Br4	95.77
		N1-Cu1-Br4	149.79
		N2-Cu1-N3	157.26

Estructuralmente, las geometrías para los complejos con número de coordinación 5 usualmente van desde pirámide de base cuadrada (SP) a bipirámide trigonal (TBP); sin embargo, la mayoría de los complejos no están dentro de los parámetros ideales de alguna de estas geometrías. En el caso de los complejos de Cu<sup>2+</sup> esto es muy común, debido a la distorsión de Jahn-Teller del centro d<sup>9</sup> del metal.<sup>[91]</sup>

En 1984, Addison Reedijk introdujeron un parámetro muy útil,  $\tau$ , que proporciona una medida del grado de geometría SP vs TBP adoptada por los complejos pentacoordinados. El parámetro  $\tau$  depende de dos ángulos,  $\alpha$  y  $\beta$ . Donde  $\beta > \alpha$  y son los ángulos de mayor tamaño entre los ligantes y el centro de coordinación, el parámetro es definido como  $(\beta - \alpha)/60$  y el valor varía de 0 (en SP)

1 (en TBP).<sup>[91]</sup> La Figura 4.19 muestra el valor de los ángulos de mayor magnitud en la esfera de coordinación del átomo de Cu<sup>2+</sup>, así mismo el cálculo hecho para determinar el parámetro  $\tau$ . El valor de 0.1245 para  $\tau$  indica que la geometría del centro metálico es más semejante a una pirámide de

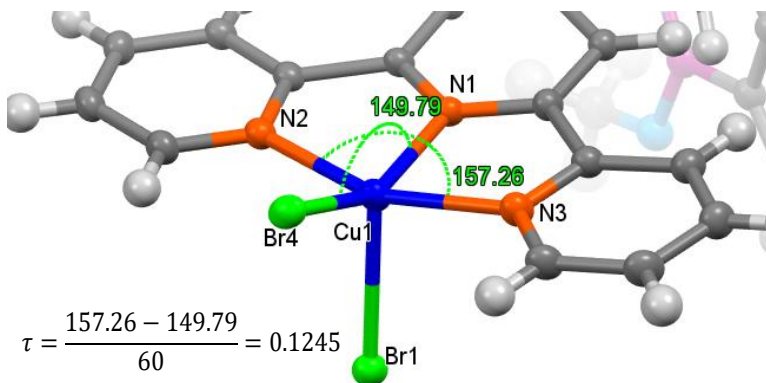


Figura 4.19 Ángulos de mayor tamaño en la esfera de coordinación del ion Cu<sup>2+</sup> y cálculo del parámetro  $\tau$ .

base cuadrada; por lo que se puede decir que se trata de una geometría de este tipo, pero distorsionada debido a la variación de las distancias y ángulos de enlace.

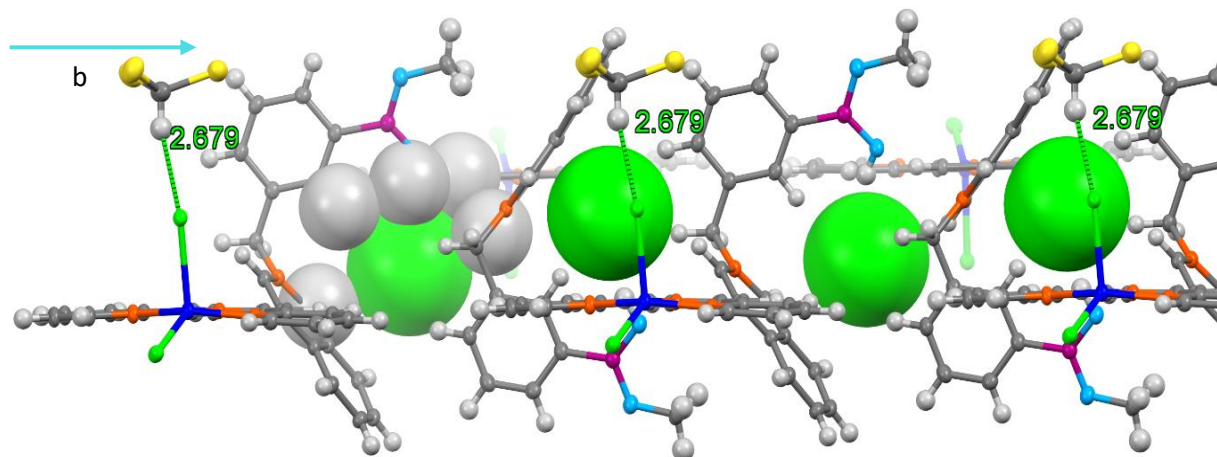


Figura 4.20 Crecimiento del cristal a lo largo del eje b, los átomos del anión bromuro y algunos hidrógenos se muestran como densidad electrónica.

En la Figura 4.20 se muestra el crecimiento del cristal a lo largo del eje b, éste se encuentra dirigido por enlaces de hidrógeno (mayoritariamente CH-halógeno) entre el contraión bromuro y dos moléculas del complejo, de igual manera se establece un puente de hidrógeno entre el cloroformo y el Br1 coordinado al Cu con una distancia  $H \cdots A$  de 2.679 Å.

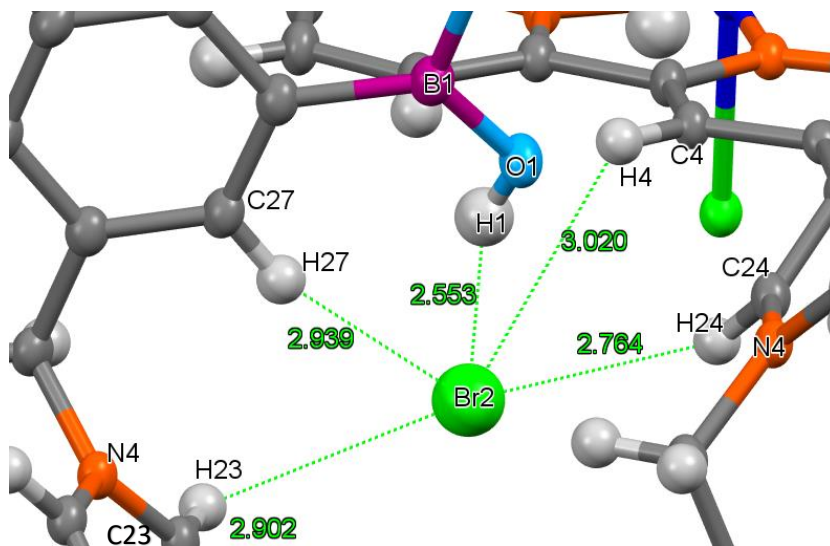


Figura 4.21 Interacciones  $H \cdots X$  del Br2 y sus longitudes.

La Figura 4.21 muestra un acercamiento de la Figura anterior y las longitudes de las interacciones  $H \cdots X$  ( $X =$  halógeno) presentes. Es importante mencionar que las interacciones con H24 y H4 se establecen entre la misma unidad asimétrica y el resto con una segunda unidad.

Excluyendo a la interacción de menor magnitud ( $H1 \cdots Br2$ ), en las demás el CH es del tipo  $sp^2$  aromático y las longitudes rondan alrededor de los 3 Å. Se puede observar claramente que estas interacciones forman una cavidad entre los complejos para albergar al bromuro, este acomodo se atribuye a que el C24 y C23 se encuentran adyacentes al

N4, que es el nitrógeno cuaternizado del fragmento isoquinolina y por lo tanto poseedor de una carga parcial positiva, la cual ejerce un efecto electroattractor hacia el anión.

Además del puente de H que el Br1 establece con el disolvente de cristalización, éste presenta otros con tres moléculas a la vez (Figura 4.22), las cuales son importantes para llevar a cabo el crecimiento de la red en el plano bc. Del mismo modo, el Br4 (Figura 4.23) mantiene interacciones de este tipo y provoca el crecimiento en el plano ac.

En estas últimas figuras se representa a las moléculas de un solo color para mejor apreciación de las interacciones intermoleculares presentes entre ellas.

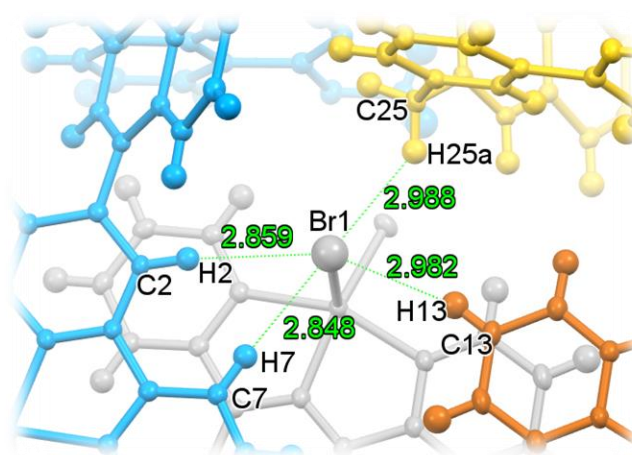


Figura 4.22 Interacciones CH...X del Br1 y sus longitudes. Se representa a una unidad asimétrica diferente con cada color.

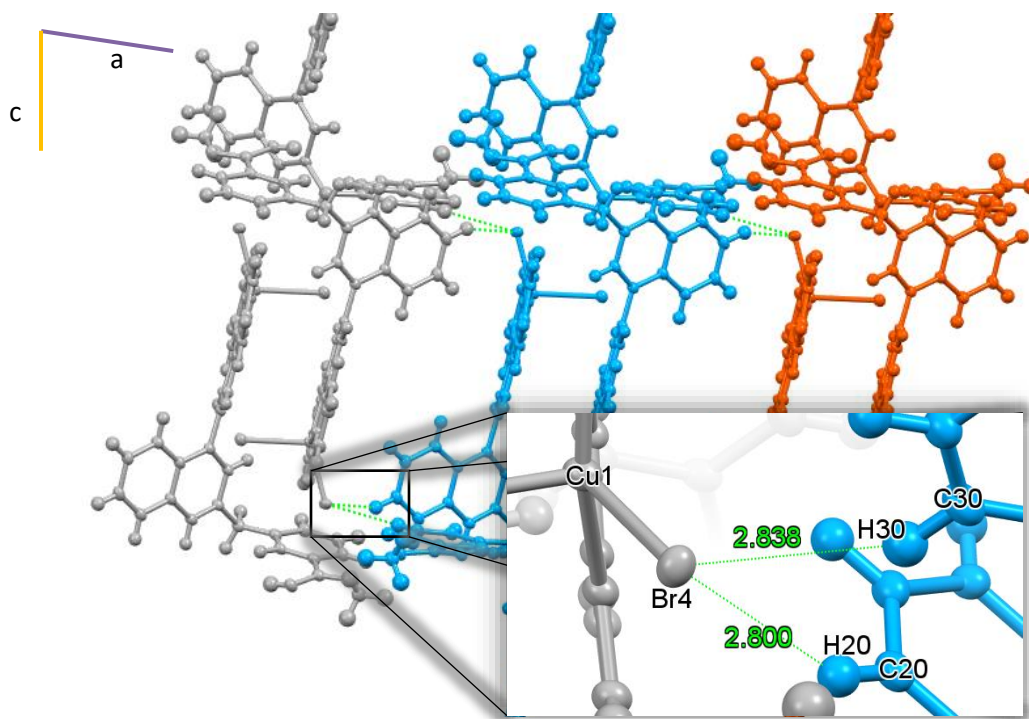


Figura 4.23 Crecimiento de la red cristalina en el plano ac a través de interacciones CH...X del Br4 y ampliación de las interacciones con sus longitudes.

En la Figura 4.23 se puede observar el crecimiento de la red cristalina en el plano ac a través de la propagación de la interacción mostrada en ampliación, al igual que las interacciones del Br2, la mayoría de los CH son del tipo  $sp^2$  aromático y tienen longitudes de 2.8 y 2.9 Å.

La Tabla 4.5 resume los parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en la estructura cristalina de **CS-m[cloroformo]**, cabe mencionar que solo algunos de ellos se describieron en los párrafos previos, en la Tabla se ordenan de menor a mayor longitud H...A.

De acuerdo con los parámetros mostrados y siguiendo la clasificación para los enlaces de hidrógeno<sup>[14]</sup>, solo los primeros dos son del tipo moderado y el resto son enlaces de H débiles.

Tabla 4.5 Parámetros geométricos para los enlaces de H presentes en la estructura cristalina de CS-m[cloroformo].

	Interacción	D...A (Å)	H...A (Å)	∠ DHA (°)
1	C4-H4...O1	3.327	2.453	152.87
2	O1-H1...Br2	3.358	2.553	157.83
3	C34-H34...Br1	3.630	2.679	158.60
4	C24-H24...Br2	3.615	2.764	149.63
5	C20-H20...Br4	3.634	2.800	147.08
6	C30-H30...Br4	3.670	2.838	146.79
7	C7-H7...Br1	3.781	2.848	167.66
8	C2-H2...Br1	3.785	2.859	164.66
9	C25-H25...Br4	3.503	2.864	123.05
10	C23-H23...Br2	3.426	2.902	115.98
11	C23-H23...Br4	3.313	2.913	106.70
12	C27-H27...Br2	3.827	2.939	155.98
13	C32-H32...Br4	3.803	2.975	142.80
14	C13-H13...Br1	3.892	2.982	160.67
15	C25-H25a...Br1	3.727	2.988	132.22
16	C4-H4...Br2	3.612	3.020	121.85

Otra fuerza intermolecular importante en el empaquetamiento es la presencia de interacciones  $\pi$ - $\pi$  dada por el fragmento terpiridina. En el cristal se identificaron dos interacciones de este tipo.

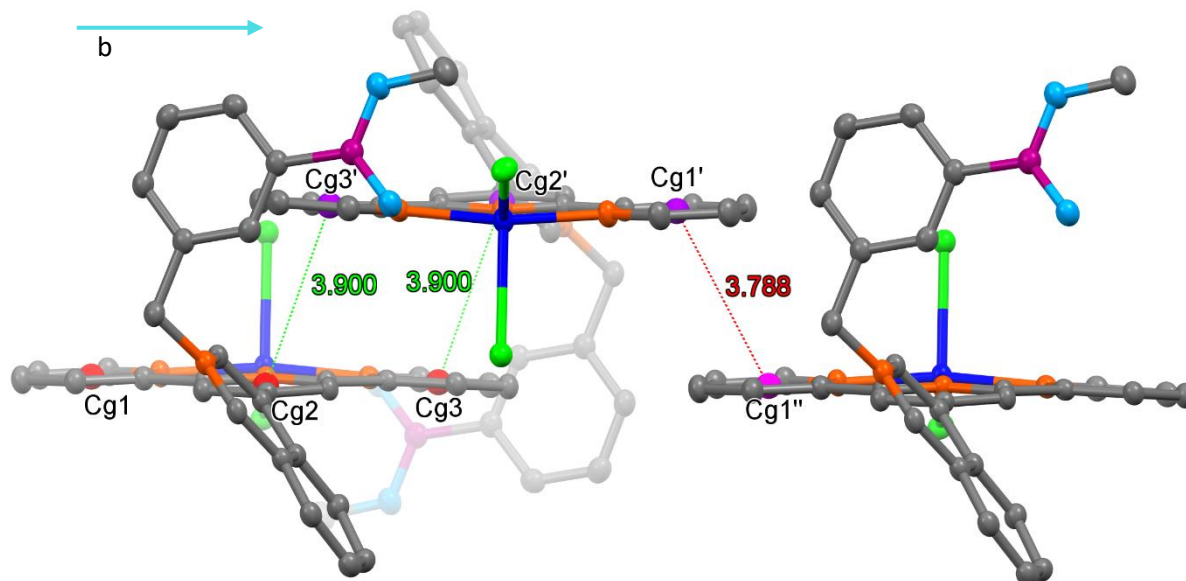


Figura 4.24 Identificación de las interacciones  $\pi$ - $\pi$  en la estructura cristalina **CS-m[cloroformo]** a lo largo del eje *b*.

La Figura 4.24 muestra las interacciones aromáticas identificadas a lo largo del eje *b*, se numeraron los centroides como Cg1, Cg2 y Cg3, se asignó la denominación prima (') y biprima (") a las posiciones equivalentes, pero de distinta unidad asimétrica. La interacción más fuerte se da entre los Cg1 de cada unidad con una separación de 3.788 Å, un desplazamiento entre ellos de 1.719 Å y un ángulo de inclinación entre los planos de cada ciclo aromático de 0°. La otra interacción es establecida por Cg2 y Cg3, con separación de 3.9 Å, desplazamiento de 1.575 Å y un ángulo entre planos de 6.403°.

### 2.3 CS-o[acetona]

**CS-m[acetona]** es un polimorfo de **CS-m**, al igual que el cristal descrito previamente, esta especie cristaliza en el sistema monoclinico y con el grupo espacial  $P2_1/n$ ; sin embargo, los parámetros *a*, *b* y *c* son distintos. La unidad asimétrica contiene el complejo entre el **L-m** y el ion metálico  $\text{Cu}^{2+}$ , un átomo de bromo y otro de cloro coordinados al metal, un átomo de bromuro como contraión y una molécula de acetona como disolvente de cristalización.

Esta estructura cristalina se obtuvo como consecuencia de un intento de cristalización entre el complejo **CS-m** y tres equivalentes de clorhidrato de epinefrina en  $\text{CHCl}_3:\text{CO}(\text{CH}_3)_2:\text{CH}_3\text{OH}$  3:3:1, que tenía como objetivo principal la asociación de ambas moléculas; sin embargo, el exceso de clorhidrato provocó la sustitución de un átomo de Br unido al metal por uno de Cl.

La Figura 4.25 muestra la unidad asimétrica del complejo y la numeración de los átomos a excepción de hidrógenos, la estructura cristalina es muy similar a la descrita anteriormente

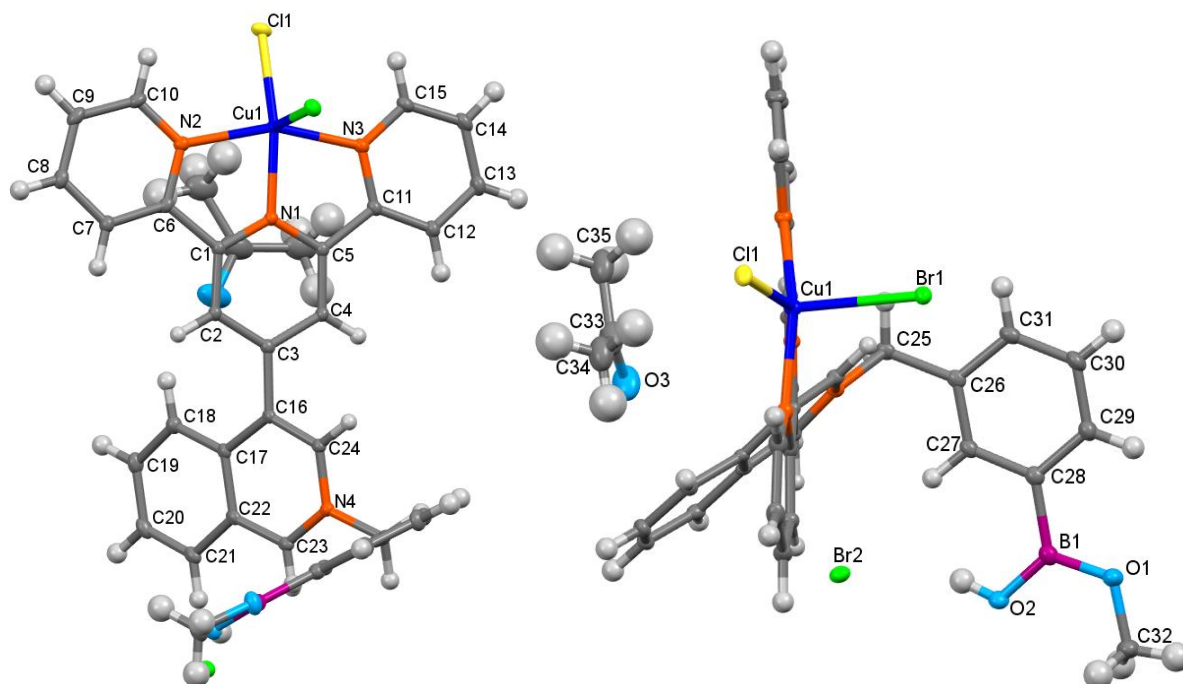


Figura 4.25 Numeración de los átomos de la unidad asimétrica de **CS-m[acetona]**.

A continuación, se presenta en la Tabla 4.6 las longitudes y ángulos de enlace de la esfera de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$ .

Tabla 4.6 Distancias y ángulos de enlace de la esfera de coordinación de  $\text{Cu}^{2+}$  en **CS-m[acetona]**.

Enlace	Longitud (Å)	Enlace	$\angle$ (°)
Cu1-N1	1.959	N1-Cu1-N2	78.52
Cu1-N2	2.052	N1-Cu1-N3	79.32
Cu1-N3	2.058	N3-Cu1-Cl1	98.6
Cu1-Br1	2.591	N2-Cu1-Cl1	97.0
Cu1-Cl1	2.248	N1-Cu1-Br1	102.31
		N2-Cu1-Br1	98.02
		N3-Cu1-Br1	95.85
		Br1-Cu1-Cl1	104.0
		N1-Cu1-Cl1	153.69
		N2-Cu1-N3	155.89

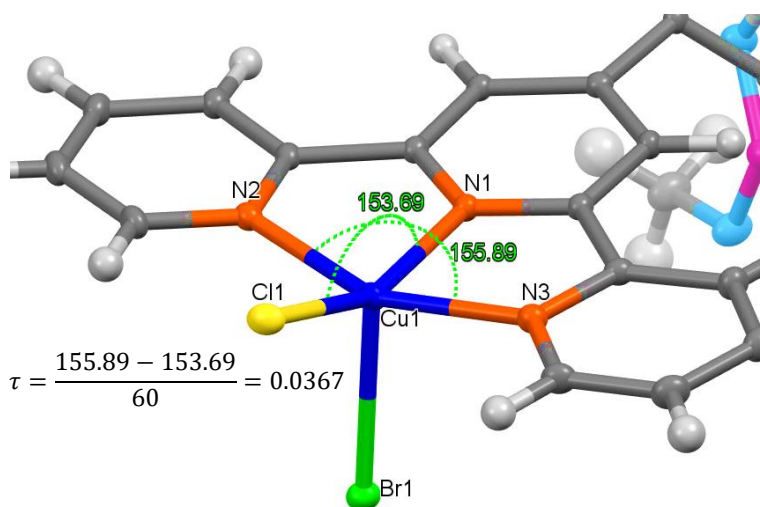


Figura 4.26 Ángulos de mayor tamaño en la esfera de coordinación del ión  $\text{Cu}^{2+}$  y cálculo del parámetro  $\tau$ .

La Figura 4.26 muestra los ángulos considerados para el cálculo de  $\tau$ , el cual es de 0.0367, este valor indica que en la estructura cristalina la geometría de  $\text{Cu}^{2+}$  es prácticamente una pirámide de base cuadrada, ya que la distorsión que presenta es pequeña. Este valor es significativamente más pequeño que el encontrado en **CS-**

**m[cloroformo]**, lo cual se puede atribuir al tamaño del átomo de cloro, que es menor al de bromo y en consecuencia se presenta una mayor facilidad para el acomodo de éste en la base de la pirámide.

Al igual que la estructura cristalina anterior, en ésta el crecimiento del cristal a lo largo del eje b se encuentra dirigido por enlaces de hidrógeno establecidos con el contraión bromuro ( $\text{Br}^-$ ). En la Figura 4.27 se puede observar que se forma una cavidad entre dos moléculas de complejo, en la cual se sitúa el anión bromuro. Las interacciones establecidas se muestran con detalle en la Figura 3.28.

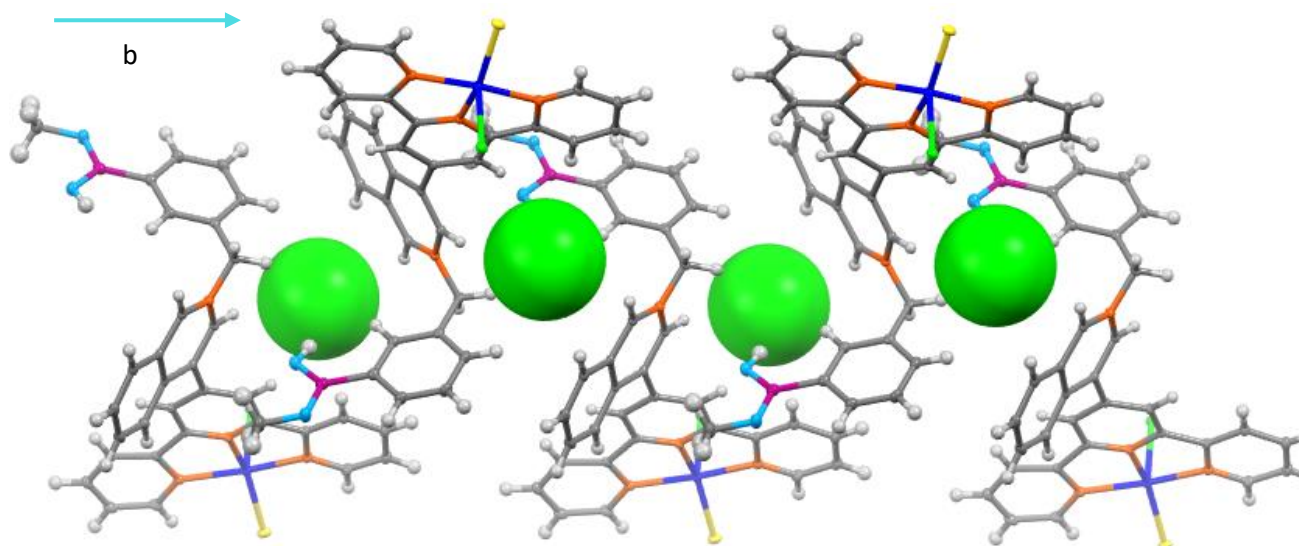


Figura 4.27 Crecimiento del cristal **CS-m[acetona]** a lo largo del eje b, se muestra el átomo  $\text{Br}^-$  en forma de densidad electrónica.

La Figura 4.28 muestra las longitudes de las interacciones  $H\cdots Br_2$ , se observa que el anión se sitúa de forma cercana a los N4 cuaternizados de ambas moléculas, los cuales ejercen un efecto electroattractor hacia el anión. La interacción con menor distancia es la establecida con H2A, protón perteneciente al ácido borónico.

En la Figura 4.29 se representa a las unidades asimétricas con colores distintos para mejor apreciación de las interacciones, ambas imágenes muestran los enlaces de H establecidos para el crecimiento del cristal en el plano ac, las longitudes  $H\cdots X$  van de entre 2.7 a 3 Å e involucran a 4 moléculas del complejo, estas interacciones se establecen en su mayoría con carbonos  $sp^2$  a excepción de C25 que es  $sp^3$ , de los protones mostrados en la imagen, el H25 de este carbono es el único que establece interacción con ambos halógenos (Cl1 y Br1).

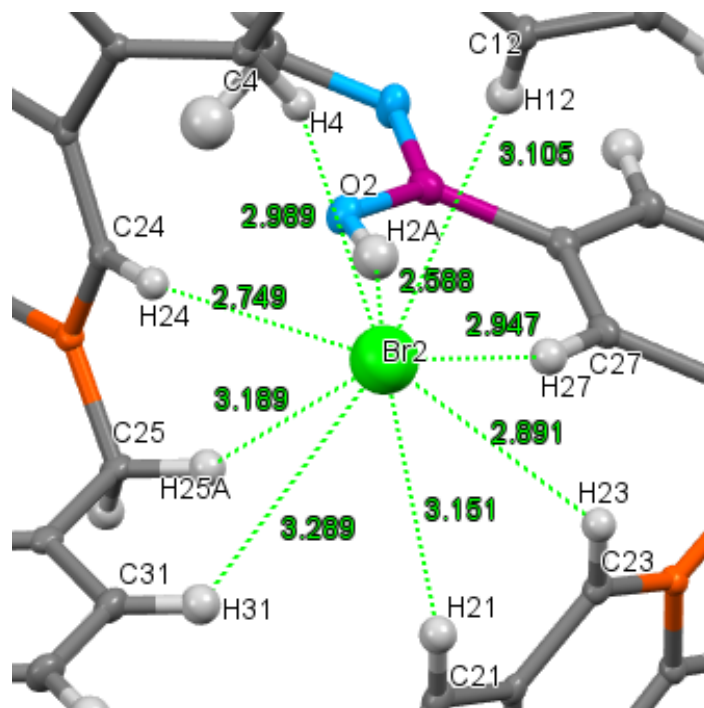


Figura 4.28 Interacciones  $H\cdots Br_2$  y sus longitudes.

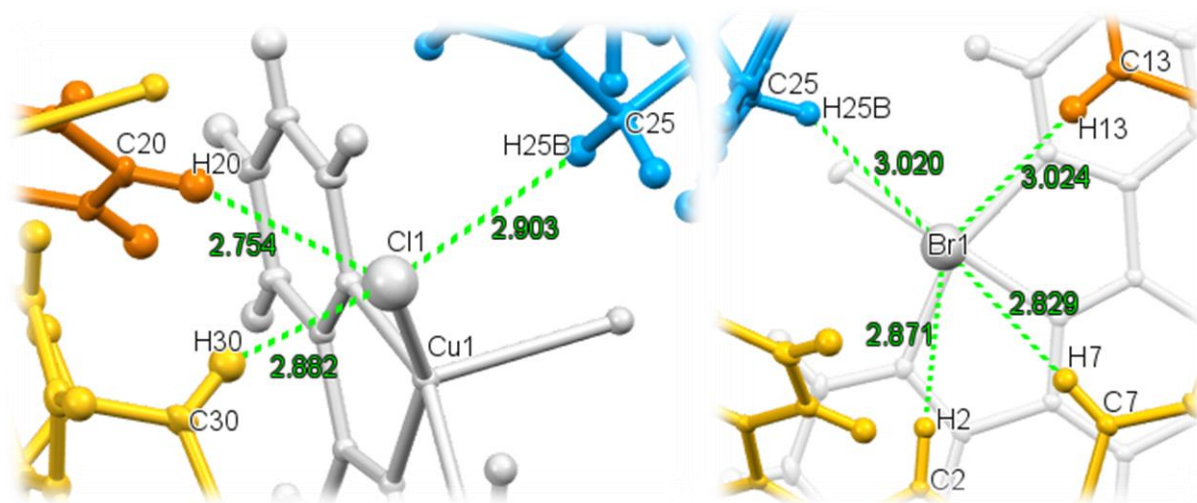


Figura 4.29 Longitudes de  $H\cdots X$  de Cl1 (izquierda) y Br1 (derecha). Se representa a una unidad asimétrica diferente con cada color.

La presencia de la molécula de disolvente también presenta un papel importante para la propagación del cristal en el plano ac, estableciendo enlaces de H débiles con Br1 que se



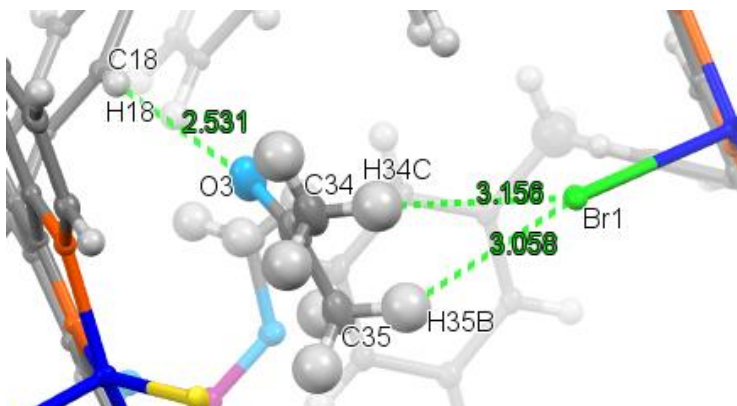


Figura 4.30 Interacciones intermoleculares de la molécula de acetona en el cristal **CS-m[acetona]**.

encuentra coordinado al metal (Figura 4.30), a su vez el átomo O3 de la acetona establece un puente de H moderado con H18, que es un protón aromático del fragmento isoquinolina.

La Tabla 4.7 resume los parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en la estructura cristalina de **CS-m**, se

ordenan de menor a mayor longitud H...A. De acuerdo con estos parámetros, los enlaces de H 1 y 2 son moderados y el resto se puede clasificar como débiles.

Tabla 4.7 Parámetros geométricos para los enlaces de H presentes en la estructura cristalina de **CS-m[acetona]**.

	Interacción	D...A (Å)	H...A (Å)	∠ DHA (°)
1	C18-H18...O3	3.214	2.531	128.91
2	O2-H2A...Br2	3.362	2.588	155.44
3	C24-H24...Br2	3.588	2.749	147.64
4	C20-H20...Cl1	3.592	2.754	147.52
5	C7-H7...Br1	3.767	2.829	169.67
6	C2-H2...Br1	3.802	2.871	166.64
7	C30-H30...Cl1	3.735	2.882	149.95
8	C23-H23...Br2	3.449	2.891	118.68
9	C25-H25B...Cl1	3.574	2.903	125.78
10	C27-H27...Br2	3.868	2.947	163.63
11	C4-H4...Br2	3.621	2.989	125.14
12	C25-H25B...Br1	3.801	3.020	136.57
13	C13-H13...Br1	3.940	3.024	162.50
14	C35-H35B...Br1	3.933	3.058	149.18
15	C12-H12...Br2	3.802	3.105	131.45
16	C21-H21...Br2	3.677	3.151	116.72
17	C34-H34C...Br1	4.006	3.156	145.90
18	C25-H25A...Br2	3.977	3.189	137.67
19	C31-H31...Br2	3.939	3.289	127.36

La Figura 4.31 muestra las interacciones  $\pi$ - $\pi$  a lo largo del eje b, al igual que con **CS-m[cloroformo]**, se numeraron los centroides como Cg1, Cg2 y Cg3, se asignó la denominación prima (') y biprima (') a las posiciones equivalentes, pero de distinta unidad asimétrica. Se identificaron dos interacciones de este tipo, la más corta es entre los Cg1 de dos unidades asimétricas, con una separación de 3.83 Å, un desplazamiento entre ellos de 1.732 Å y un ángulo de inclinación entre los planos de cada ciclo aromático de 0°. La otra interacción es establecida por Cg2 y Cg3, con separación de 3.895 Å, desplazamiento de 1.614 Å y un ángulo entre planos de 7.482°.

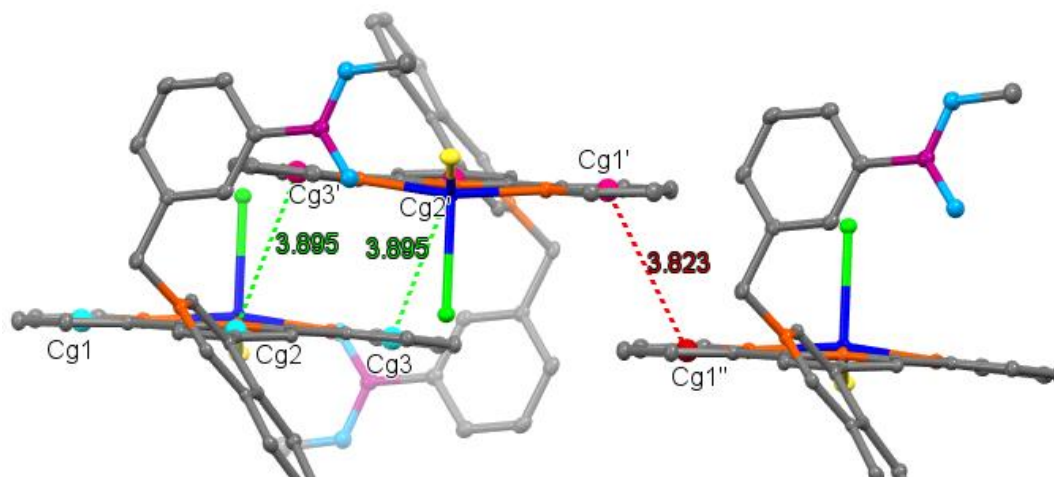


Figura 4.31 Identificación de las interacciones  $\pi$ - $\pi$  en la estructura cristalina **CS-m[acetona]** a lo largo del eje b.

Tabla 4.8 Comparación de la magnitud de los enlaces aledaños a boro en las estructuras obtenidas.

Enlace	L-o	CS-m[cloroformo]	CS-m[acetona]
C-B	1.579	1.570	1.576
B-O (1)	1.350	1.357	1.351
B-O (2)	1.360	1.361	1.360
O-H (1)	0.919	0.852	0.833
O-H (2)	0.841		
O-CH <sub>3</sub>		1.422	1.431

Finalmente, la Tabla 4.8, presenta las longitudes de los enlaces que incluye el ácido borónico en cada estructura obtenida, se puede observar que las magnitudes de los enlaces C-B, B-O (1) y B-O (2) son muy parecidas entre sí y la que presenta la mayor variación entre ellos es O-H (1), la cual disminuye tras coordinarse el metal, esto no se atribuye directamente a la coordinación, sino a la asociación de una molécula de metanol con el segundo grupo hidroxilo, en donde la acidez de éste permitió la formación de un enlace covalente dinámico B-OCH<sub>3</sub> que favoreció la cristalización.

### 3. Propiedades ácido-base de los ligantes

Se determinaron las constantes de acidez,  $pK_a$  de ambos ligantes por medio de titulaciones fluorimétricas en función del pH, para lo cual se obtuvieron previamente sus espectros de absorción, mediante los cuales se definió que la longitud de onda de excitación adecuada para la realización de las mediciones de fluorescencia sería 330 nm, que corresponde al máximo con mayor longitud de onda en un medio acuoso neutro. La Figura 4.32 muestra dichos espectros, en donde se observa que ambos son muy similares, con una banda intensa de absorbancia en el intervalo entre 236 y 275 nm; sin embargo, se prefiere usar una longitud de onda mayor (330 nm) para evitar posibles interferencias de señal con otros compuestos.

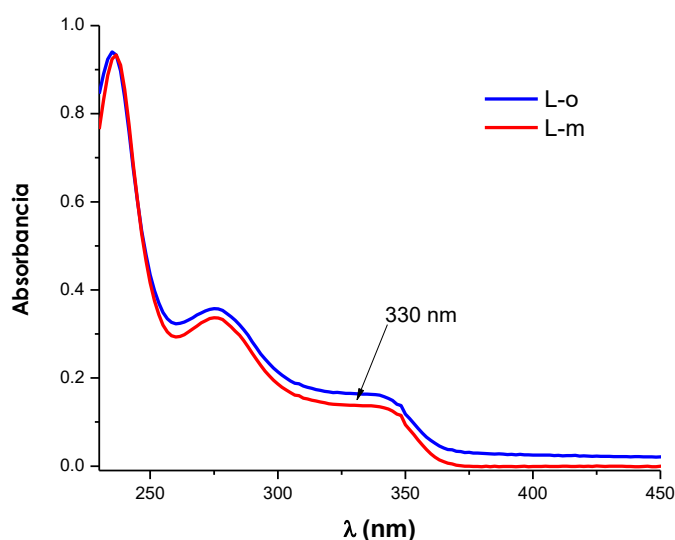


Figura 4.32 Espectros de absorción de soluciones 20  $\mu\text{M}$  de los ligantes **L-o** (azul) y **L-m** (rojo) en agua a pH 7.4.

Para determinar las constantes de acidez se empleó la siguiente ecuación:

$$I = \frac{P1 + P2 \times 10^{(pka-pH)}}{1 + 10^{(pka-pH)}} \dots\dots (\text{ecuación 1})$$

Donde P1 es la intensidad fluorescente de la especie protonada, P2 la de la especie desprotonada e I la intensidad de fluorescente observada total.

Mediante estas titulaciones se observó una extinción de la emisión azul ( $\lambda_{em} = 410 \text{ nm}$ ) para ambos ligantes al ir aumentando la concentración de base en el medio, lo cual se atribuye al fenómeno de transferencia fotoelectrónica inducida por la formación del grupo aniónico boronato. Los cambios en el espectro de fluorescencia de **L-o** y **L-m** se muestran en la Figuras 4.33 y 4.34, en el

recuadro se muestran los perfiles de intensidad fluorescente a 410 nm en función del pH en un intervalo de 5.5 a 10 y la línea sólida corresponde al ajuste de los datos experimentales con la ecuación 1.

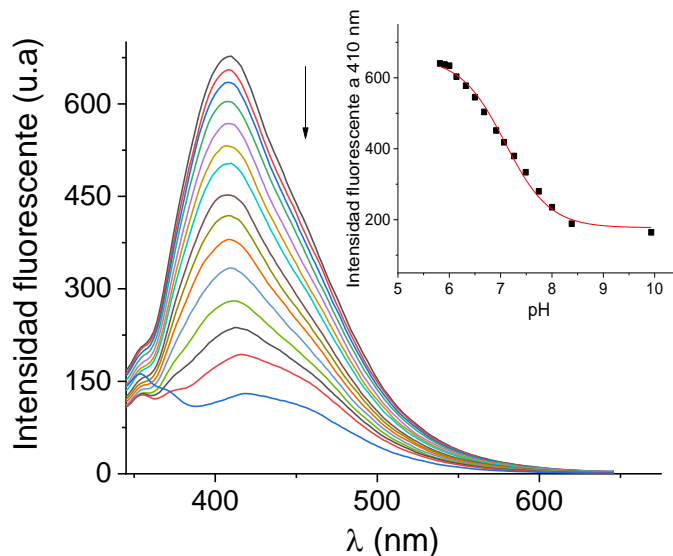


Figura 4.33 Espectros de emisión de la titulación fluorescencia-pH de una solución acuosa amortiguada (20 mM MOPS y MES) y L-o (0.02 mM)  $\lambda_{ex}$ :330 nm. Cambios de emisión a 410 nm de L-o al aumentar el pH.

En ambas gráficas de pH vs intensidad fluorescente se observa un cambio drástico en la emisión de los ligantes cuando el pH se encuentra entre 6.5 y 9, observándose un único punto de inflexión a un pH alrededor de 7, lo cual en primer instancia, aproxima a los valores de  $pK_a$  de los ligantes ácido borónico-boronato como se muestra en el Esquema 4.1.

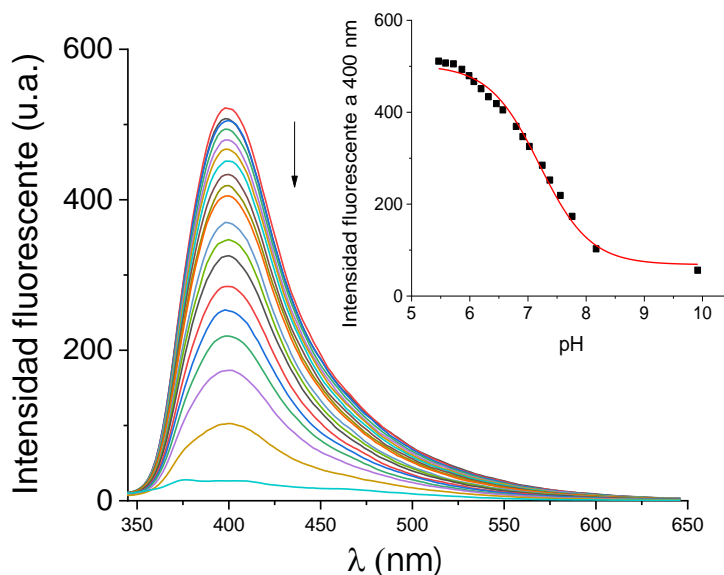
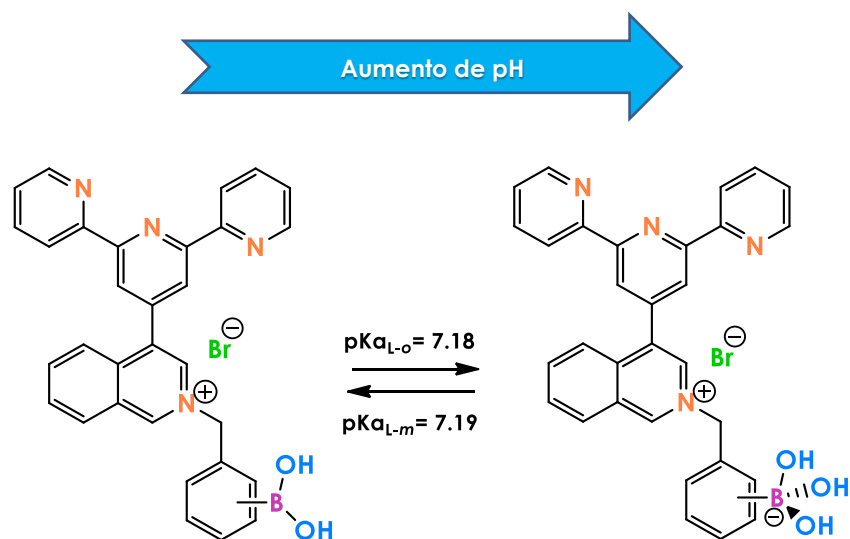


Figura 4.34 Espectros de emisión de la titulación fluorescencia-pH de una solución acuosa amortiguada (20 mM MOPS y MES) y L-m (0.02 mM)  $\lambda_{ex}$ :330 nm. Cambios de emisión a 410 nm de L-m al aumentar el pH.

Tras el tratamiento matemático de los resultados experimentales, se obtuvieron valores de  $pK_a$  de 7.18 y 7.19, para **L-o** y **L-m** respectivamente (Esquema 4.1). Estos valores de  $pK_a$  sugieren una fuerte influencia del nitrógeno cuaternizado aledaño al ácido fenilborónico, que actúa como un grupo electroattractor fuerte de influencia similar al grupo  $NO_2^-$  en el ácido 4-nitrofenil borónico, el cual posee un  $pK_a$  de 7.1<sup>[50]</sup>. Los valores de  $pK_a$  de los ligantes **L-o** y **L-m** son aproximadamente dos órdenes de magnitud más bajos comparados con el ácido fenilborónico neutro ( $pK_a \sim 9.0$ , Figura 2.8).



Esquema 4.1 Equilibrio de ionización de los ligantes **L-o** y **L-m**.

Dado que la química de los ácidos borónicos en agua depende mucho del pH, los valores de  $pK_a$  obtenidos para ambos ligantes indican que a pH de 7.4 (empleado en los estudios de reconocimiento molecular), la especie tetraédrica boronato será la predominante, que de acuerdo con la literatura, ésta favorece su asociación con grupos diol<sup>[54,92,93]</sup>.

La fuerte acidificación del ácidos borónico, atribuida a la inserción de una carga positiva en el fragmento de 4-isoquinolina, favorece la interacción con dioles y catecoles en intervalos de pH fisiológicos y como resultado, lo cual es relevante e interesante para el objetivo central del proyecto y para lograr una mayor afinidad receptor-analito y sensibilidad del sistema. Adicionalmente, la cuaternización de los ligantes aumenta la solubilidad en medios acuosos y enciende la fluorescencia debido a la inhibición del proceso PET.

## 4. Estudios de reconocimiento molecular

### 4.1 Titulaciones ligante-analito

La primera evidencia de la afinidad del fragmento del ácido borónico de los ligantes por derivados de catecol fue obtenida por  $^{11}\text{B}$  RMN en  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Las Figuras 4.35 y 4.36 muestran los espectros de  $^{11}\text{B}$  en ausencia y presencia de un exceso de pirocatecol (3.0 eq.). Para ambos ligantes se observa un desplazamiento químico considerable ( $\Delta\delta = 22\text{--}23$  ppm) que se atribuye al cambio de hibridación  $\text{sp}^2$  de geometría trigonal del fragmento del ácido borónico a  $\text{sp}^3$  de geometría tetraédrica como resultado de la formación del grupo boronato. El ácido fenilborónico en forma neutra,  $\text{sp}^2$  muestra un desplazamiento químico  $\sim 30$  ppm y al incrementar la conversión a su forma aniónica  $\text{sp}^3$ , la señal se desplaza a campo alto al redor de 10 ppm. La formación del boronato con este tipo de desplazamiento espectroscópico se puede llevarse a cabo por: 1) La adición de una base por ejemplo hidróxido, lo cual es usado comúnmente para determinar valores de  $\text{pK}_a$  en función del desplazamiento de la señal<sup>[94]</sup> y 2) La formación de esteres diborónicos con dioles o catecoles,<sup>[95]</sup> lo cual se atribuye directamente a la complejación del grupo diol al átomo de boro.

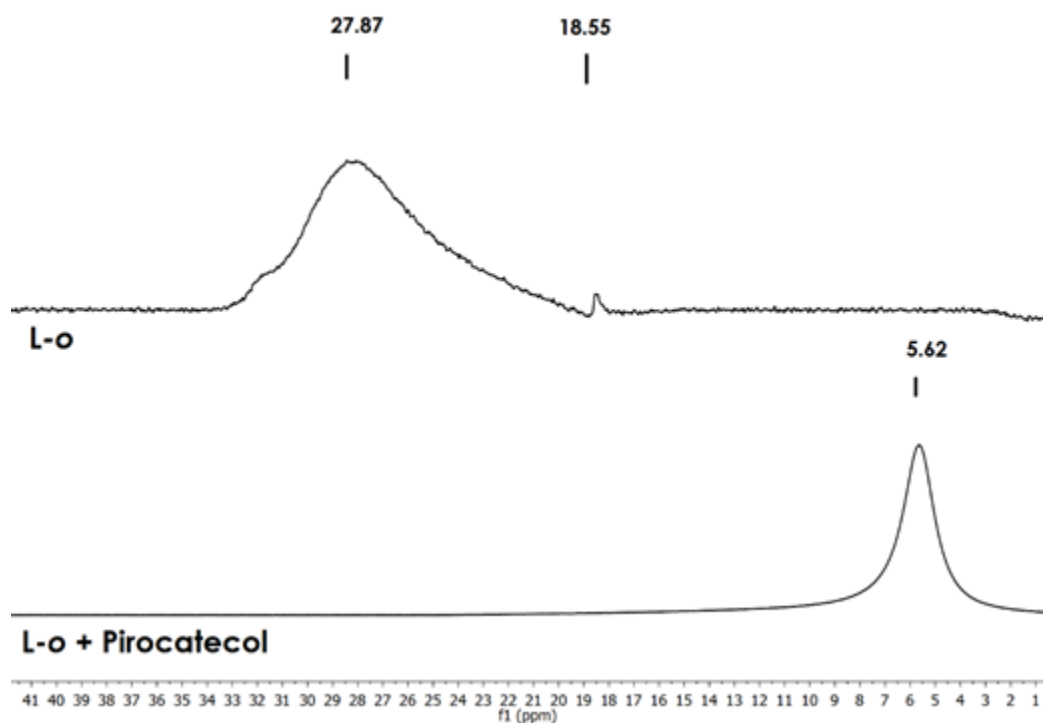


Figura 4.35 Cambio en  $^{11}\text{B}$  RMN de L-o en MeOD en ausencia y presencia de 3.0 eq. de pirocatecol. La señal de baja intensidad a 18.55 ppm es atribuida a ácido bórico.

La señales  $^{11}\text{B}$  RMN tanto para el ácido borónico neutro (libre) y del boronato (complejado) aniónico en los ligantes **L-o** y **L-m** se encuentran desplazados a campos más bajos comparados con el ácido borónico libre (30 ppm) y el boronato (10 ppm). Este desplazamiento puede atribuirse a la mayor acidez del átomo de boro como resultado de la inserción de una carga positiva en la molécula. El aumento de acidez es relevante para nuestros estudios debido a que se puede incrementar la afinidad por los catecoles.

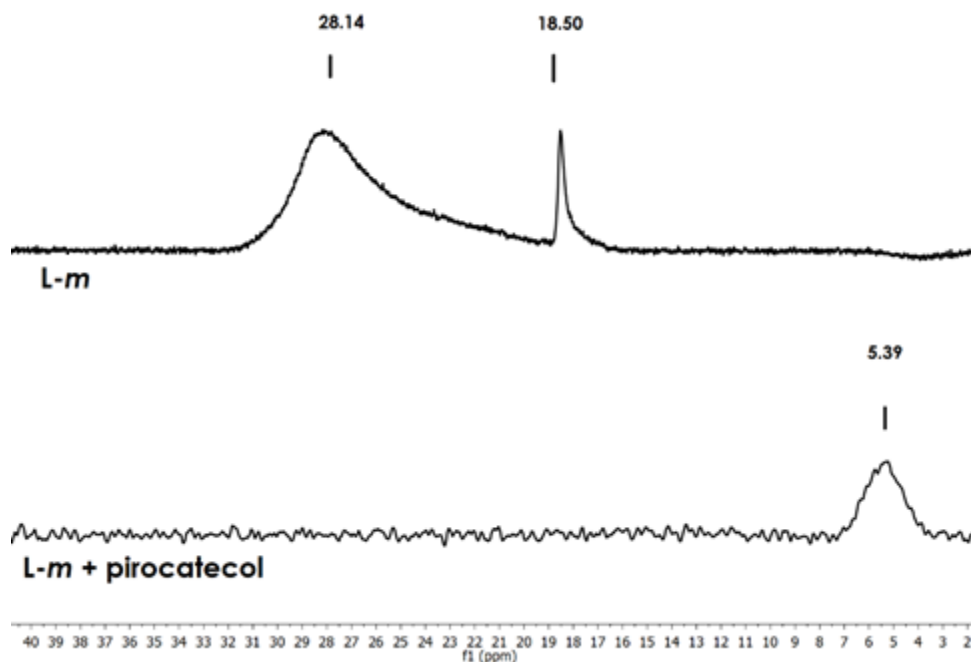


Figura 4.36 Cambio en  $^{11}\text{B}$  RMN de **L-o** en MeOD en ausencia y presencia de 3.0 eq. de pirocatecol. La señal a 18.55 pm es atribuida a ácido bórico.

Las constantes de complejación entre los analitos propuestos (L-DOPA, dopamina y epinefrina, pirocatecol y tirosina) y los ligantes catiónicos **L-o** y **L-m** libres de  $\text{Cu}^{2+}$ , fueron medidas a través de titulaciones fluorimétricas en medios acuosos neutros. Adicionalmente, se estudió la interacción de los ligantes sintetizados con los nucleósidos mostrados en la Figura 4.37 (adenosina, guanosina, citidina y uridina), ya que estos últimos también poseen en su estructura un grupo diol.

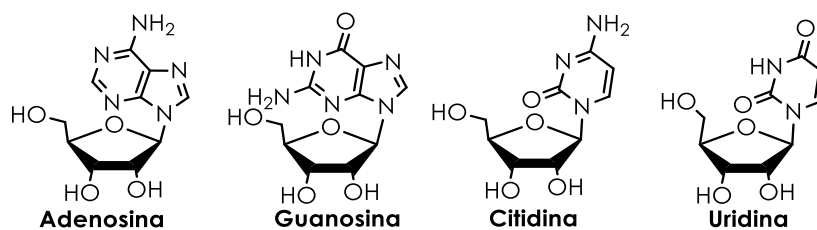


Figura 4.37 Estructura química de los nucleósidos.

En general, la adición de alícuotas de cada analito extingue la fluorescencia de soluciones acuosas de **L-o** y **L-m** a pH=7.4 (MOPS 40 mM). La relación  $I_0/I$ , donde  $I_0$  es la intensidad fluorescente del ligante e  $I$  la intensidad fluorescente tras la adición del analito, proporciona información referente a la selectividad relativa<sup>[96]</sup>.

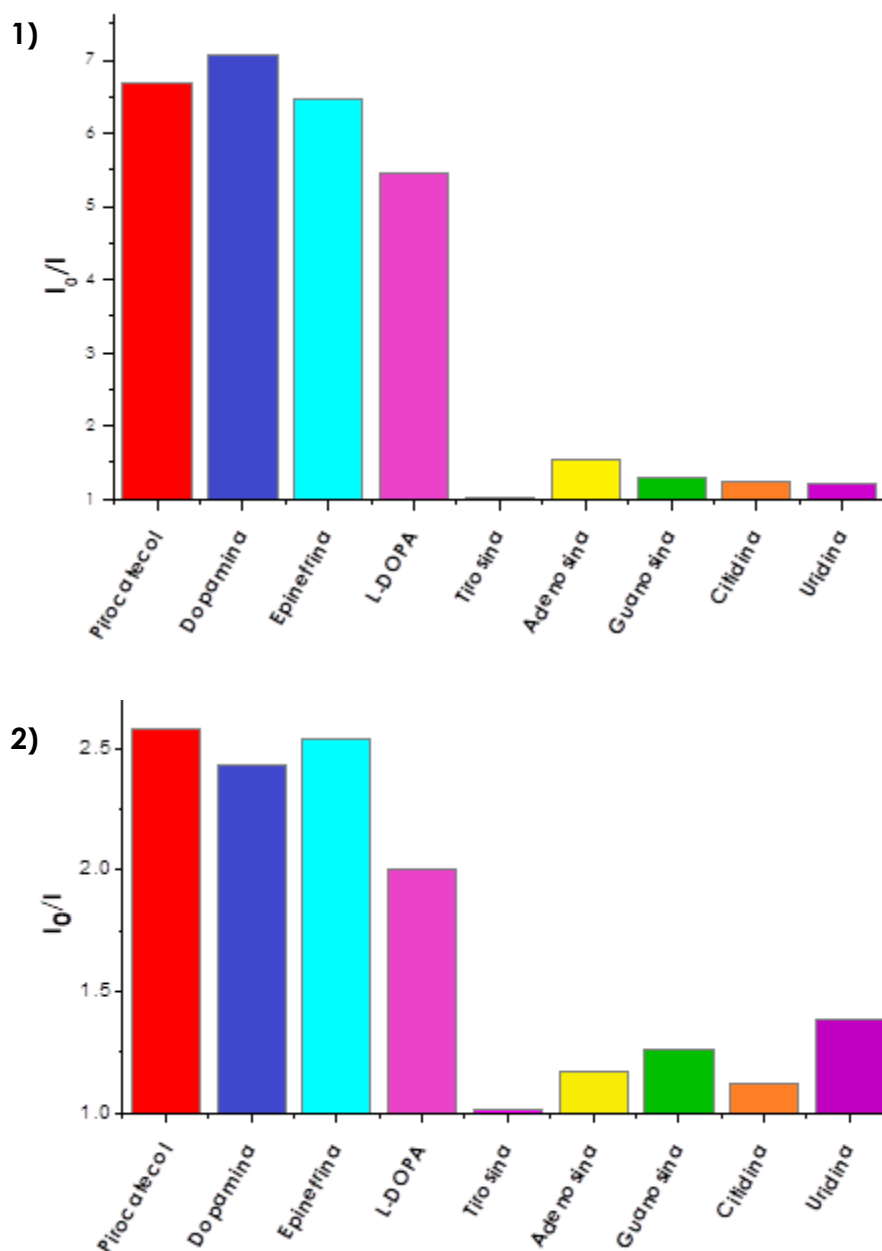


Figura 4.38 Intensidad relativa de emisión fluorescente tras la adición de 5 equivalentes de analito a soluciones acuosas  $20 \mu\text{M}$  de **L-o** (1) y **L-m** (2) a pH=7.4.

La Figura 4.38 muestra las gráficas de barra **analitos vs  $I_0/I$** , donde se pueden observar los cambios de emisión de los ligantes tras la adición de 5 equivalentes de analito. Los cambios más notorios



en ambos casos se presentan con la adición de pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA, mientras que la adición de nucleósidos provoca un cambio modesto comparado con los neurotransmisores derivados de catecol y con tirosina prácticamente no se observa cambio. Comparando los cambios de emisión presentados en los ligantes, es notable que **L-o** es más sensible en la identificación de dichos analitos, debido a que presenta valores altos en la relación  $I_0/I$ .

La familia de espectros de emisión fluorescente de las titulaciones de **L-o** con pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA se presentan en la Figura 4.39.

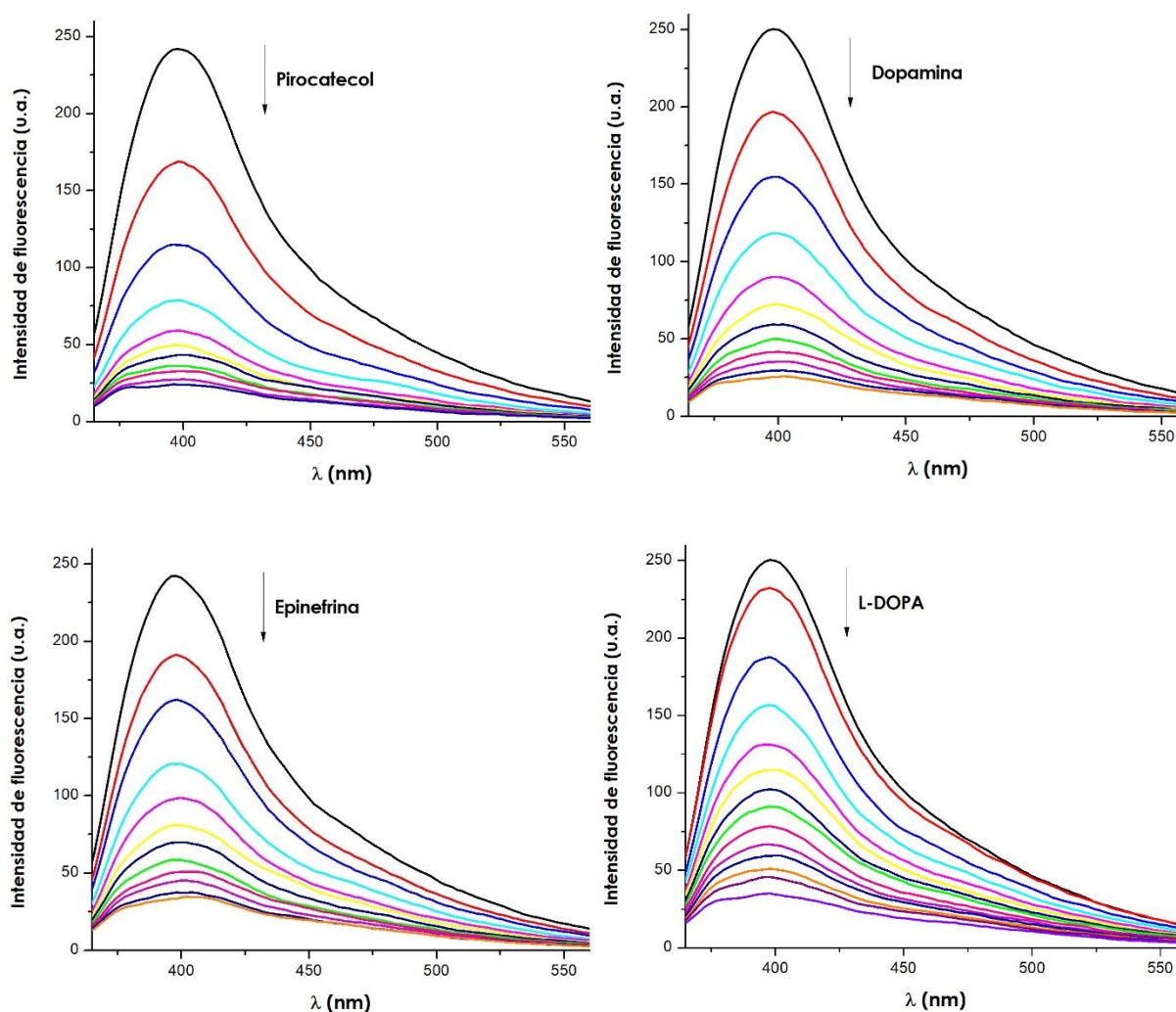


Figura 4.39 Titulaciones fluorimétricas ( $\lambda_{ex}=330$  nm) de **L-o** (20  $\mu$ M) a pH de 7.4 con adiciones de pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA.

Una solución 20  $\mu$ M de **L-o** en agua a pH 7.4 (MOPS 40 mM) presenta un máximo de emisión azul en 400 nm al emplear una longitud de excitación de 330 nm y 700 V, esta emisión disminuye tras

el aumento de la concentración de derivados de catecol en el medio, lo cual se atribuye al fenómeno PET por complejación del ácido borónico al centro de boro (Figura 4.39), el mismo efecto fue observado en las titulaciones de **L-m**, que presenta un máximo de emisión azul en 398 nm empleando las mismas condiciones (Figura 4.40); sin embargo, no se observa una extinción completa de la emisión del ligante.

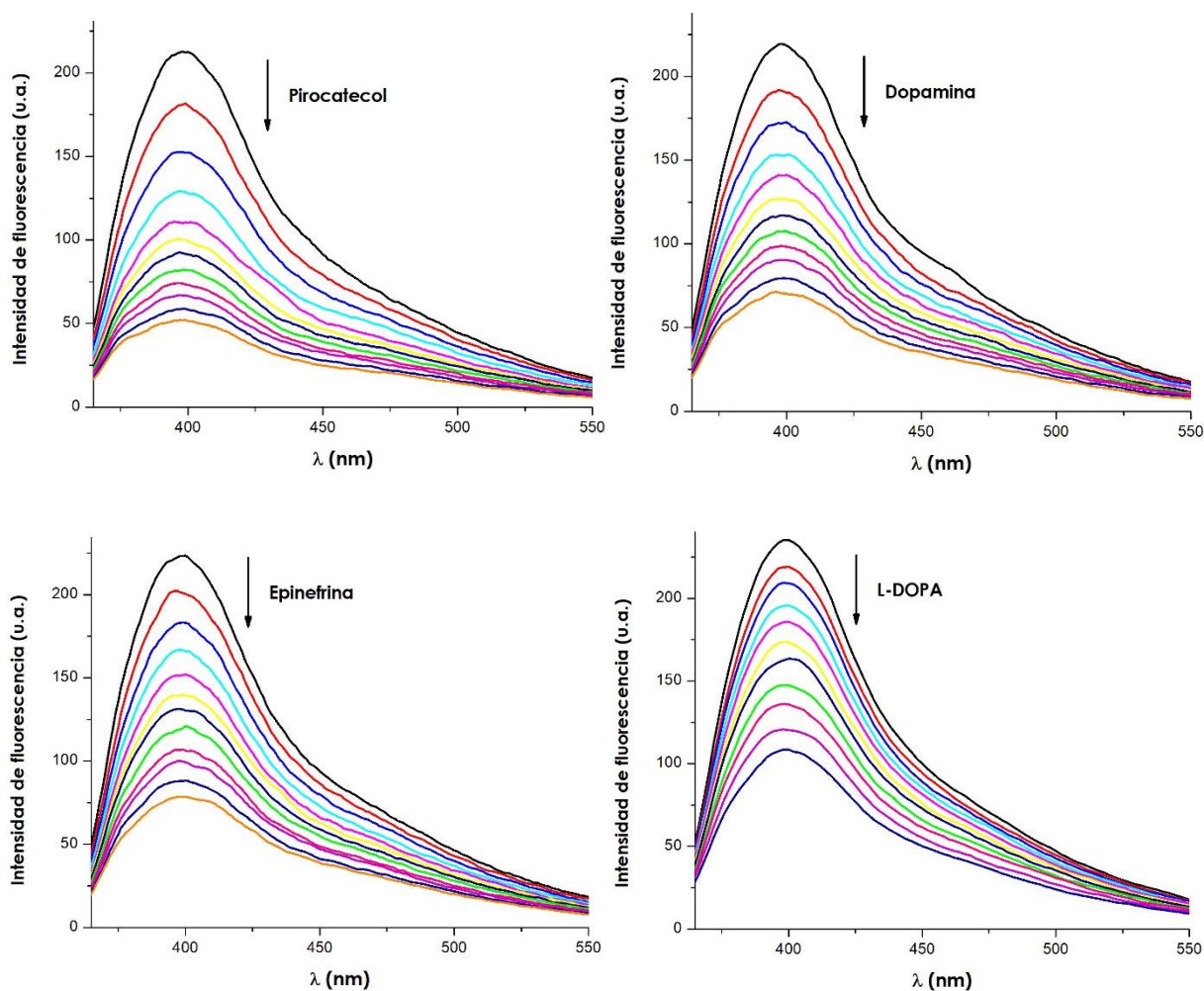


Figura 4.40 Titulaciones fluorimétricas ( $\lambda_{ex}=330$  nm) de **L-m** ( $20 \mu\text{M}$ ) a pH de 7.4 con adiciones de pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA.

La Figura 4.41 muestra el gráfico correspondiente a los perfiles de titulación de **L-o** obtenido con las intensidades a 400 nm, **L-m** presentó la misma tendencia.

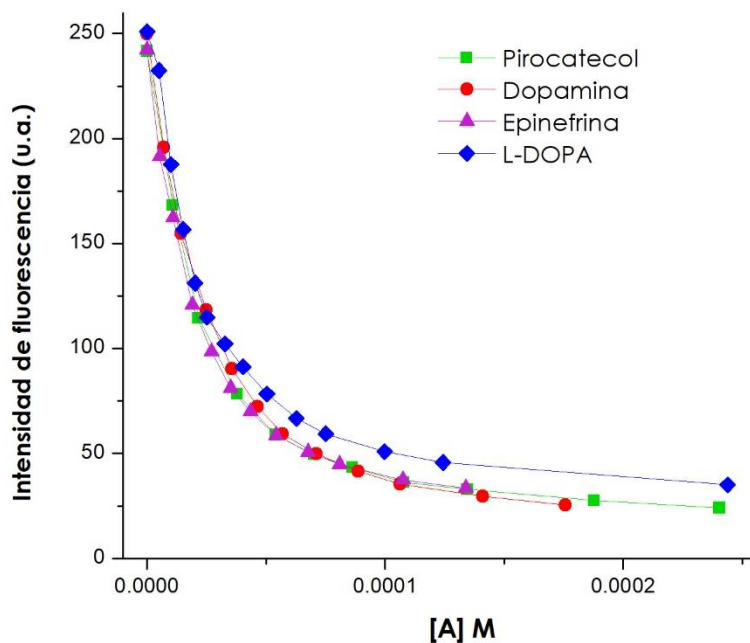


Figura 4.41 Perfiles de las titulaciones fluorimétricas ([A] vs I) de L-o con pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA.

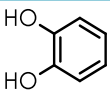
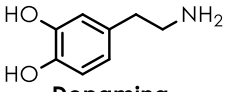
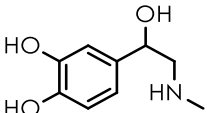
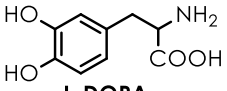
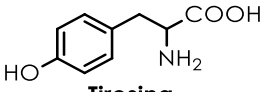
Todas las curvas obtenidas se ajustan de manera adecuada con la siguiente ecuación:

$$I_{obs} = I_0 + \frac{(I_{\infty} - I_0) \left\{ [R]_0 + [A] + \frac{1}{K_{ass}} - \left[ \left( [R]_0 + [A] + \frac{1}{K_{ass}} \right)^2 - 4[R]_0[A] \right]^{0.5} \right\}}{2 [R]_0} \dots\dots (ecuación 2)$$

La ecuación 2 se basa en un equilibrio 1:1, donde  $I_{obs}$  representa el cambio observado en la fluorescencia en función de la concentración del analito  $[A]$ ,  $I_0$  corresponde a la emisión inicial del receptor,  $I_{\infty}$  es la emisión cuando existe saturación del analito,  $[R]_0$  la concentración del receptor y  $K_{ass}$  es la constante de asociación.

El logaritmo de las constantes obtenidas se muestra en la Tabla 4.9, en donde también se incluye al analito tirosina con fines comparativos. Los valores calculados son similares para todos los analitos, lo cual indica que ambos ligantes no muestran selectividad específica por alguno de ellos.

Tabla 4.9 Logaritmo de la constantes de asociación ( $K_{ass}$ ) de L-o y L-m obtenidas para cada analito en un equilibrio 1:1.

Analito	L-o Log $K_{ass}$ ( $M^{-1}$ )	L-m Log $K_{ass}$ ( $M^{-1}$ )
 <b>Pirocatecol</b>	5.08±0.03	4.46±0.02
 <b>Dopamina</b>	4.95±0.02	4.48±0.01
 <b>Epinefrina</b>	5.11±0.01	4.47±0.01
 <b>L-DOPA</b>	5.18±0.02	4.41±0.01
 <b>Tirosina</b>	ND	ND

Al no observarse cambios en la emisión de los ligantes tras la adición de tirosina, este analito no pudo ser detectado, lo cual puede atribuirse a que solo posee un grupo hidroxilo directamente unido al anillo aromático. Lo anterior indica que el grupo diol en el resto de los analitos juega un papel importante para su reconocimiento, dado que la única diferencia en la estructura química de la molécula de tirosina y L-DOPA es un grupo hidroxilo, que hace que L-DOPA pueda ser detectada y presente una constante de asociación alta.

## 4.2 Titulaciones ligante- $Cu^{2+}$

Se realizaron estudios sobre las constantes de complejación de los ligantes para la formación de los complejos **CS-o** y **CS-m** en medio acuoso amortiguado (MOPS 40 mM) a pH 7.4, mediante titulaciones de **L-o** y **L-m** con  $CuBr_2$  que se siguieron por espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia.

Las variaciones del espectro de absorción de **L-o** al aumentar la concentración de  $Cu^{2+}$  en el medio se observan en a Figura 4.42 (arriba), con línea negra se identifica el espectro inicial del ligante. La adición de  $Cu^{2+}$  provoca el aumento de absorbancia más significativo a entre 370 y 314 nm, seguida de un descenso de absorbancia en 300 nm y otro incremento en 360 nm, observándose claramente la formación de dos puntos isobésticos en 314 y 270 nm, que indican que en la disolución coexisten dos o más especies en equilibrio, lo cual corrobora la formación del complejo con  $Cu^{2+}$ . Para la titulación fluorimétrica se empleó una longitud de excitación de

314 nm, valor del punto isobéptico encontrado en la titulación previa (UV-vis). La figura 4.40 (abajo) muestra que el aumento de la concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  causa un fuerte apagamiento de la fluorescencia de **L-o**, también se observa que tras la adición de un equivalente de  $\text{CuBr}_2$ , la emisión ya no presenta cambios tan significativos si se añade más solución de  $\text{Cu}^{2+}$ .

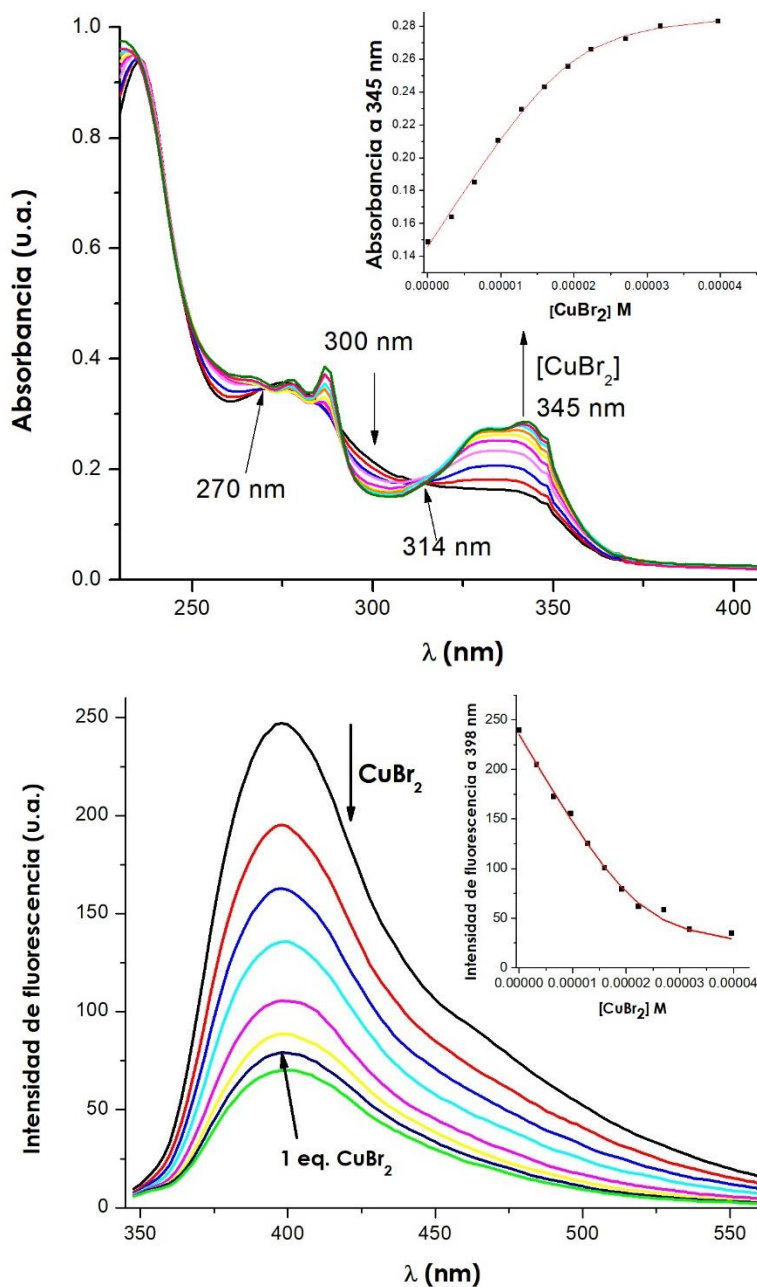


Figura 4.42 Titulaciones por UV-Vis (arriba) y por emisión de fluorescencia  $\lambda_{ex}$ : 314nm 700 V (abajo) de una solución amortiguada a pH 7.4 de **L-o** 20  $\mu\text{M}$  con  $\text{CuBr}_2$  y sus perfiles de titulación a 345 y 398 nm respectivamente.

Las titulaciones de **L-m** se presentan en la Figura 4.43, las cuales presentan un comportamiento similar a las obtenidas con **L-o**. En la titulación por UV-Vis se observan dos puntos isobépticos en

312 y 269 nm, indicando que dos especies están en el equilibrio, ligante libre y complejo de  $\text{Cu}^{2+}$ . Para la titulación fluorimétrica se utilizó una longitud de excitación de 312 nm y se observa un apagamiento muy fuerte de la emisión hasta llegar a un equivalente de  $\text{CuBr}_2$  añadido, las adiciones posteriores no muestran un cambio significativo, quedando un remanente de fluorescencia de aproximadamente 50 unidades. La fuerte saturación a un equivalente en espectrofotometría, junto con la estructura cristalina y el ajuste de los datos experimentales en la titulación fluorimétrica con un modelo 1:1, soportan la formación un complejo estable en medios acuoso, lo cual es bien conocido para ligantes de terpiridina con sales de  $\text{Cu}^{2+}$ .

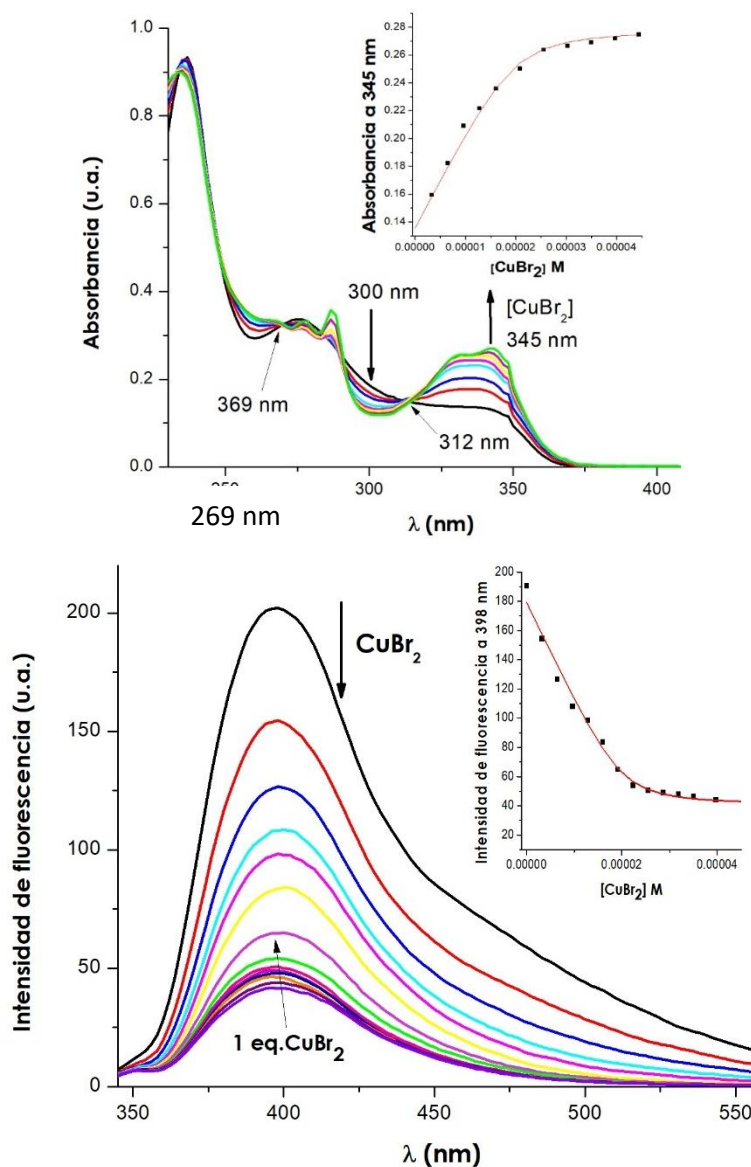


Figura 4.43 Titulaciones por UV-Vis (arriba) y por emisión de fluorescencia  $\lambda_{ex}$ : 312nm 700V (abajo) de una solución amortiguada a pH 7.4 de L-m 20  $\mu\text{M}$  con  $\text{CuBr}_2$  y sus perfiles de titulación a 345 y 398 nm respectivamente.

Las figuras 4.42 y 4.43 también muestran los perfiles de titulación obtenidos, que se ajustan de manera adecuada a un equilibrio 1:1, utilizando la ecuación 2 se calcularon las constantes de complejación ligante-Cu<sup>2+</sup>, los logaritmos de las constantes obtenidas se presentan en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10 Logaritmo de las constantes de complejación ( $K_c$ ) de **L-o** y **L-m** con CuBr<sub>2</sub>.

	UV-Vis	Fluorescencia
	Log $K_c$ (M <sup>-1</sup> )	
<b>L-o</b>	5.91±0.03	5.81±0.01
<b>L-m</b>	6.18±0.02	6.18±0.01

Con el objetivo de estudiar la estabilidad el ácido fenilborónico de los ligantes después de la coordinación del centro metálico al fragmento de terpiridina, se midió y compararon los espectros de <sup>11</sup>B RMN en CD<sub>3</sub>OD, del ligante libre y del compuesto sintetizado **CS-m** en concentraciones micromolares. La Figura 4.44 muestra los espectros, el desplazamiento de las señales de <sup>11</sup>B son prácticamente idénticas lo cual puede atribuirse a que el ácido borónico se mantiene en forma neutra, sp<sup>2</sup> después de la coordinación. Por otra parte, la señal del complejo **CS-m** es ligeramente más ancha y de menor intensidad comparada con el ligante libre, lo cual es resultado de la inserción de un centro paramagnético a la molécula.

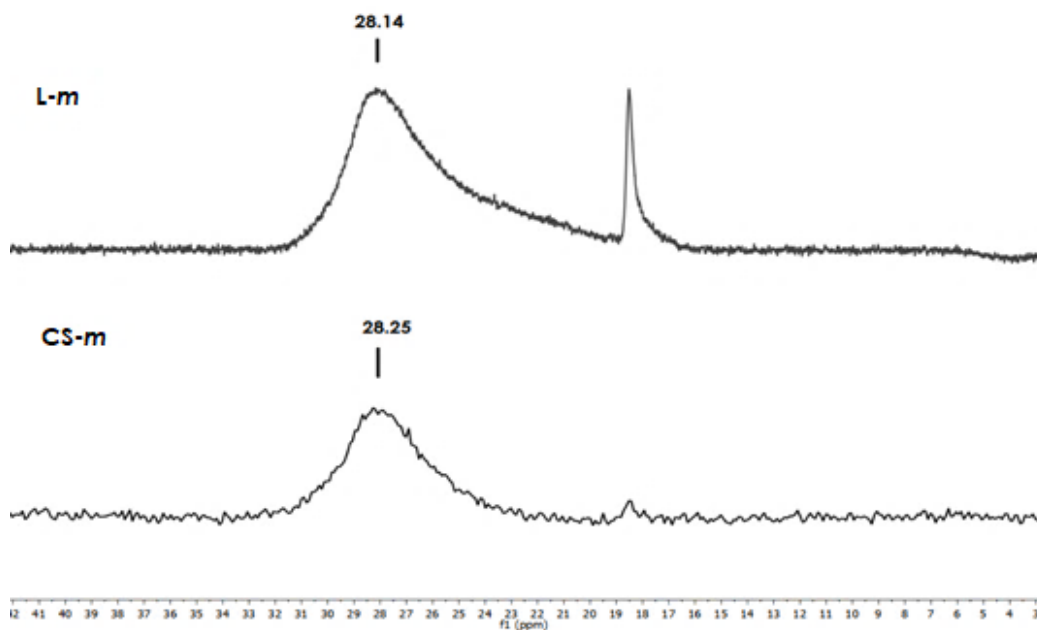


Figura 4.44 Espectros de <sup>11</sup>B RMN de **L-m** y **CS-m** en CD<sub>3</sub>OD. El señal a 18.55 ppm es atribuida a ácido bórico.

### 4.3 Titulaciones receptor-analito

Con fundamento en los resultados obtenidos en las titulaciones ligante-analito, se realizaron titulaciones fluorimétricas de los receptores **CS-o** y **CS-m** con los analitos que mostraron mayor selectividad relativa con ambos ligantes (ver Figura 4.36), siendo estos: pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA, adicionalmente se incluyó en la serie de analitos a tirosina, con la finalidad de observar si se obtendrían resultados similares (no asociación) a los de las titulaciones anteriores.

Los estudios de asociación ligante-Cu<sup>2+</sup> mostraron que la adición de un equivalente de CuBr<sub>2</sub> a una solución 20 μM de ligante provoca un apagamiento de su fluorescencia; sin embargo, no hay un apagamiento completo, observándose una intensidad de fluorescencia restante tras la adición del metal, la cual fue aprovechada para la detección directa de los analitos. En los experimentos se emplearon las mismas longitudes de excitación usadas en los estudios de complejación ligante-Cu<sup>2+</sup>, 314 nm para **CS-o** y 312 nm para **CS-m**, se utilizaron 750 V en el fluorímetro.

La Figura 4.45 muestra las titulaciones de **CS-o** con los analitos. Una solución 0.02 M del receptor **CS-o** a pH 7.4 posee un máximo de emisión ( $\lambda_{ex}$ : 314 nm) en 396 nm, la emisión del receptor disminuye tras la adición de pirocatecol, dopamina, epinefrina y L-DOPA. Se observa que adiciones de tirosina promueven un incremento modesto en la emisión del receptor.

El receptor **CS-m** posee un máximo de emisión ( $\lambda_{ex}$ : 312 nm) en 397 nm y una intensidad de fluorescencia mayor que **CS-o**. Las titulaciones del receptor **CS-m** se muestran en la Figura 4.46. Las titulaciones con pirocatecol y dopamina muestran un apagamiento casi completo, mientras que tras saturación con epinefrina y L-DOPA se observa un remanente de emisión, la titulación con tirosina muestra un ligero incremento de la fluorescencia del receptor.



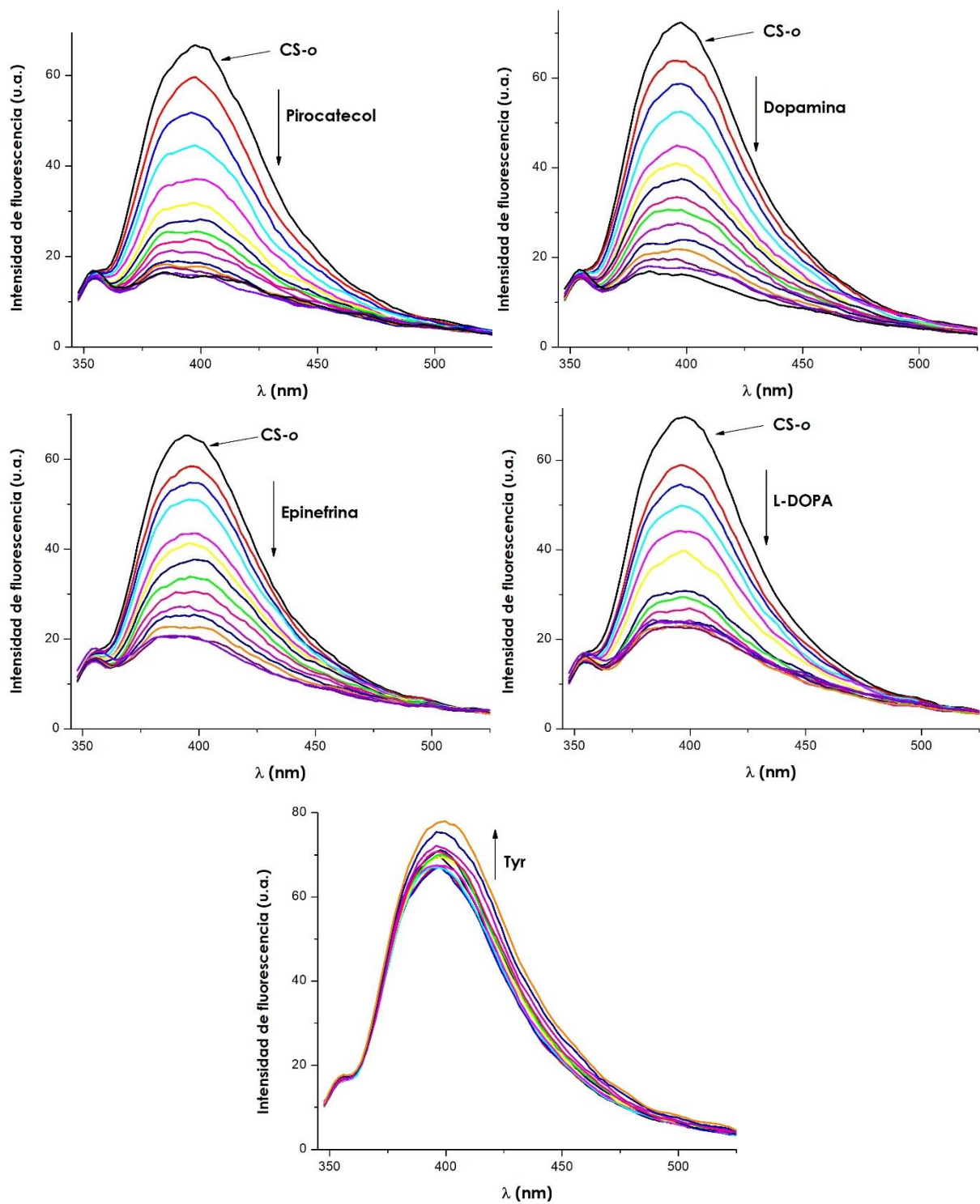


Figura 4.45 Titulaciones fluorimétricas ( $\lambda_{ex}$ : 312 nm, 750V) del receptor CS-o (20  $\mu$ M, MOPS 40 mM pH 7.4) con soluciones de pirocatecol, dopamina, epinefrina, L-DOPA y tirosina.

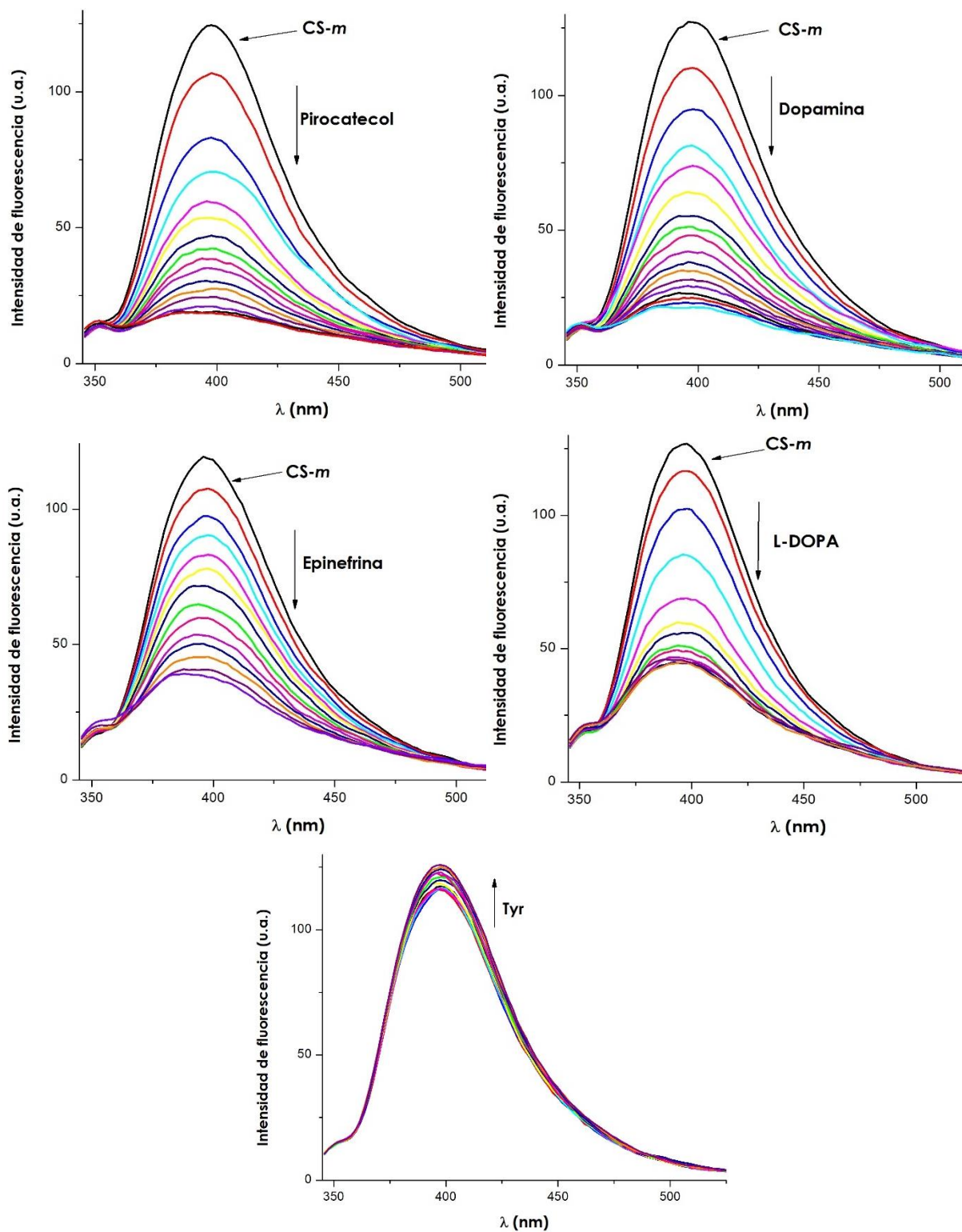


Figura 4.46 Titulaciones fluorimétricas ( $\lambda_{ex}$ : 314 nm, 750V) del receptor **CS-m** (20  $\mu$ M, MOPS 40 mM pH 7.4) con soluciones de pirocatecol, dopamina, epinefrina, L-DOPA y tirosina.

Los perfiles de titulación para el cálculo de las constantes de asociación se muestran en la Figura 4.47, las intensidades de fluorescencia fueron tomadas a 398 nm.

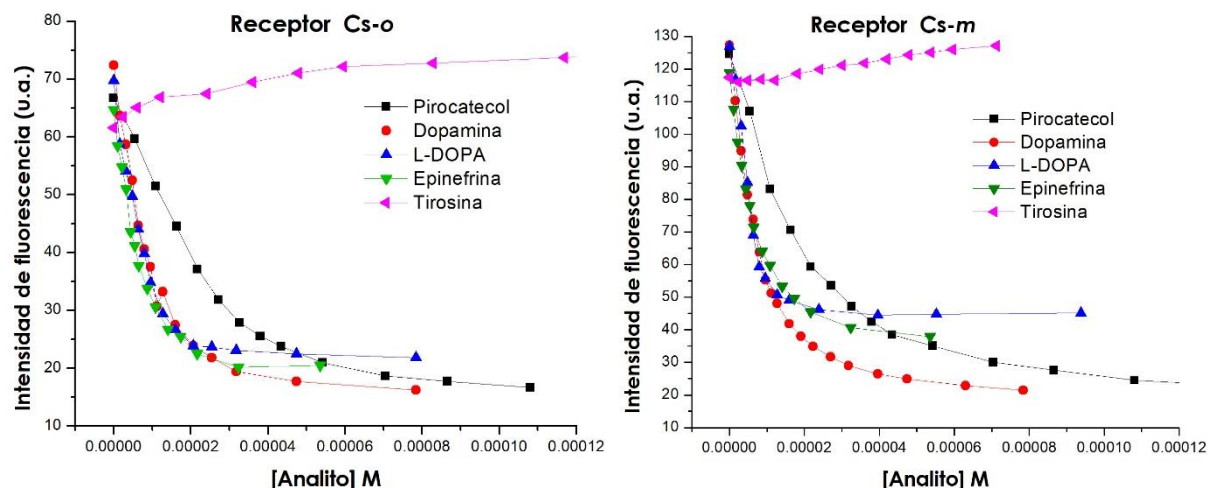
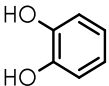
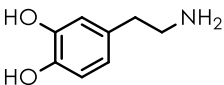
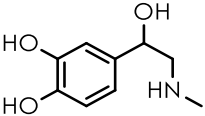
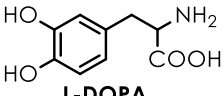
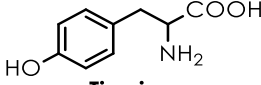


Figura 4.47 Perfiles de las titulaciones fluorimétricas (a 398 nm) de CS-o y CS-m con pirocatecol, dopamina, L-DOPA, Epinefrina y tirosina.

Los perfiles de titulación de ambos receptores ajustan de manera adecuada a un equilibrio 1:1, utilizando la ecuación 2 se calcularon las constantes de asociación ( $M^{-1}$ ), los logaritmos de las constantes obtenidas se presentan en la Tabla 4.11.

Las constantes de asociación obtenidas muestran que **CS-o** mantiene una asociación parecida con epinefrina, dopamina y L-DOPA; mientras que **CS-m** muestra una fuerte asociación con L-DOPA, presentando una  $K_{ass}$  mayor que con las otras dos catecolaminas. De forma general, la complejación de  $Cu^{2+}$  a los ligantes promueve un aumento en las constantes de asociación para los derivados de catecolaminas (Tabla 4.9, página 83), que sugiere una contribución del centro metálico para la detección de estos analitos. En el caso de pirocatecol,  $K_{ass}$  no presenta una mejoría, que se atribuye a la presencia de un solo sitio de unión (diol) en su estructura química. Por otra parte, contrario a los resultados de las titulaciones ligante-tirosina, en donde tirosina no pudo ser detectada, la presencia del centro metálico  $Cu^{2+}$  promueve la asociación de tirosina al receptor, que es atribuido a que este analito posee en su estructura grupos amina y carboxilo capaces de interactuar con el metal, esto muestra indicios de que efectivamente el complejo  $Cu^{2+}$ -terpiridina actúa como segundo sitio de contacto en el receptor.

Tabla 4.11 Logaritmo de las constantes de asociación de **CS-o** y **CS-m** con catecolaminas, pirocatecol y tirosina.

<b>Análito</b>	<b>CS-o</b> <b>log K<sub>ass</sub></b>	<b>CS-m</b> <b>log K<sub>ass</sub></b>
 <b>Pirocatecol</b>	4.89±0.01	4.95±0.01
 <b>Dopamina</b>	5.66±0.01	5.83±0.01
 <b>Epinefrina</b>	6±0.02	5.88±0.01
 <b>L-DOPA</b>	5.97±0.01	7.15±0.01
 <b>Tirosina</b>	4.15±0.01	3.32±0.01

Es importante destacar que las constantes de asociación obtenidas son mayores que las reportadas para receptores de catecolaminas encontrados en la literatura (Tabla 2.2, página 34), estos resultados solo son comparables con el receptor **17** (página 29), que reconoce al éster de L-DOPA, el cual también posee dos sitios de reconocimiento, sin embargo, su alta constante de asociación se obtiene a pH básico.

Finalmente, se realizaron estudios para la comprobación del segundo punto de contacto (coordinación de la catecolamina al centro metálico Cu<sup>2+</sup>, para lo cual se realizaron estudios de EPR comparativos, con la finalidad de observar el ambiente de coordinación alrededor del átomo de Cu<sup>2+</sup> en los complejos y tras la adición del analito con mayor afinidad. Estos espectros fueron obtenidos en CH<sub>3</sub>OH y a temperatura de 77 K.

La figura 4.48 muestra los espectros de **CS-m** (verde) y **CS-m** + L-DOPA (azul) y los parámetros de EPR para cada caso. Ambos espectros son del tipo anisotrópico axial, típicos para Cu<sup>2+</sup> monomérico que corresponde a un centro del metal con una geometría de base cuadrada donde  $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2.0023$ .<sup>[97–102]</sup>

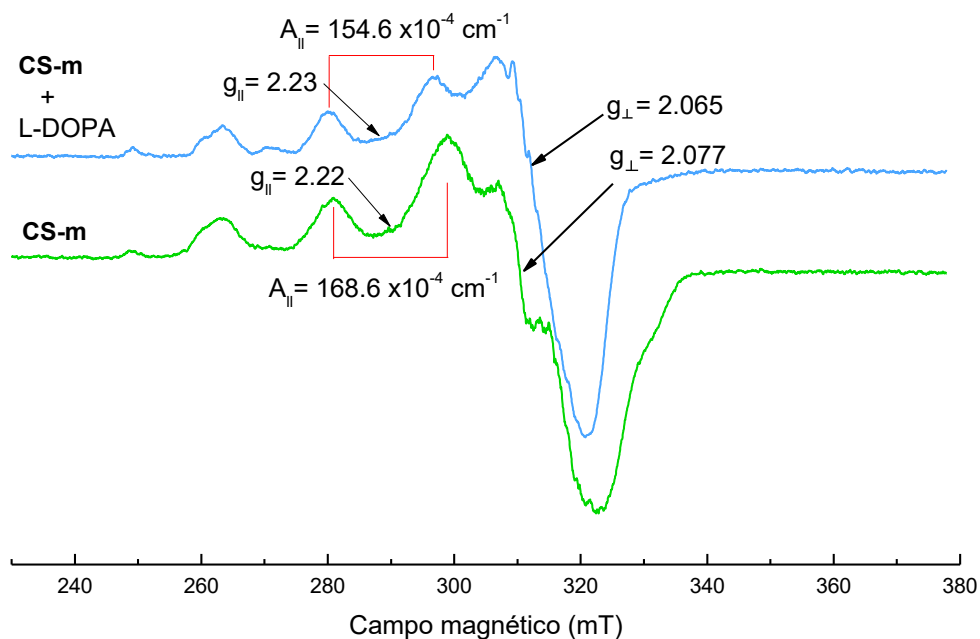


Figura 4.48 Espectros EPR tomados a 77 K de una solución 0.002 M de **CS-m** (verde) en metanol y tras la adición de 1.5 eq. de L-DOPA (azul), frecuencia= 9.04 GHz.

De acuerdo con Marlin y colaboradores<sup>[91]</sup>, en complejos pentacoordinados de  $\text{Cu}^{2+}$ , valores de  $A_{||}$  en el intervalo de  $140 \times 10^{-4}$  y  $180 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  indican una geometría pirámide de base cuadrada, presentándose un menor grado de distorsión en valores cercanos a  $168 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ . Los valores de  $A_{||}$  obtenidos indican que en ambos casos el centro metálico  $\text{Cu}^{2+}$  presenta una geometría pirámide de base cuadrada, lo cual concuerda con la estructura cristalina obtenida para **CS-m**; sin embargo, la interacción de L-DOPA con el complejo sugiere una distorsión geométrica más fuerte comparada con el complejo libre, lo cual se puede atribuir a la rigidez que el sistema experimenta debido a que el grupo diol de L-DOPA se encuentra también interaccionando con el ácido borónico presente en el complejo, que provoca una restricción de movimiento.

Los cambios mostrados en el espectro tras la adición de L-DOPA, demuestran que el fragmento amino del neurotransmisor interacciona con el centro metálico, ya que en la región perpendicular del espectro se observan líneas superhiperfinas, que surgen del acoplamiento de espín del electrón con el espín nuclear de cuatro átomos de nitrógeno coordinantes<sup>[103]</sup>, en donde tres de ellos pertenecen al fragmento de terpiridina.

Un comportamiento similar se observa en los espectros de EPR del receptor **CS-o**. La Figura 4.49 muestra los espectros de **CS-o** (azul) y **CS-o** + epinefrina (violeta), en ambos casos el centro metálico  $\text{Cu}^{2+}$  presenta una geometría pirámide de base cuadrada ya que  $g_{||} > g_{\perp} > 2.0023$  y los

valores de  $A_{\parallel}$  se encuentran comprendidos en el intervalo de  $140 \times 10^{-4}$  y  $180 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ . La adición de dos eq. de epinefrina provoca un cambio notable en la región perpendicular del espectro inicial, lo cual sugiere que  $\text{Cu}^{2+}$  establece una interacción adicional con el átomo del nitrógeno de la molécula de epinefrina.

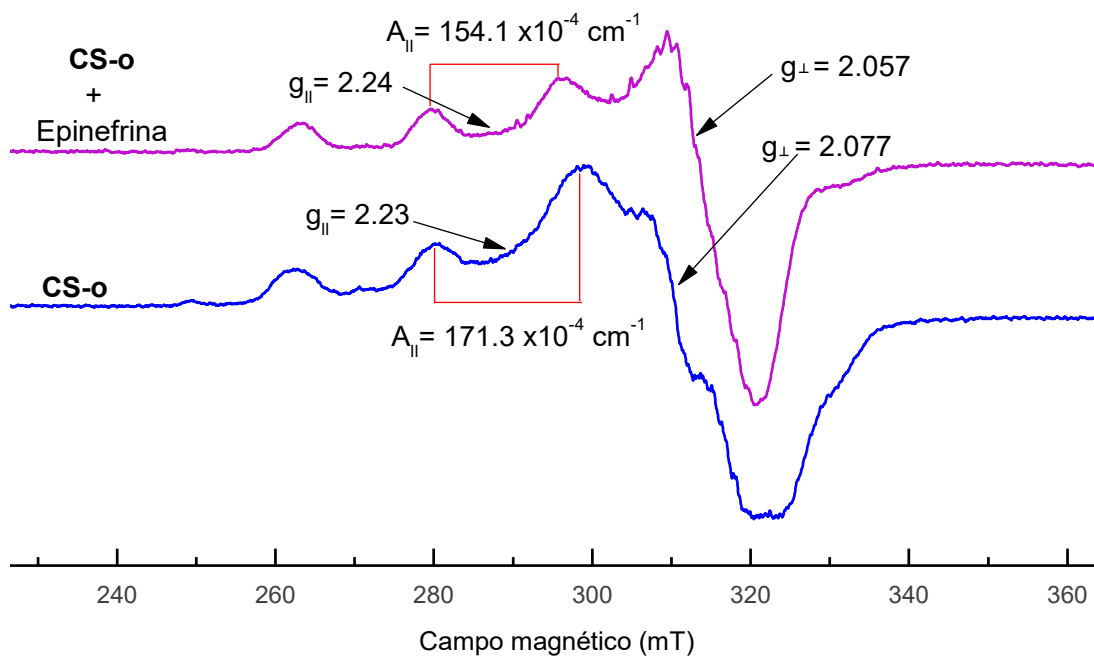


Figura 4.49 Espectros EPR tomados a 77 K de una solución 0.004 M de **CS-o** (azul) en metanol y tras la adición de 2 eq. de epinefrina (violeta), frecuencia= 9.04 GHz.

La Tabla 4.12 resume los parámetros obtenidos en los espectros de EPR realizados.

Tabla 4.12 Parámetros de EPR obtenidos.

	<b>CS-m</b>	<b>CS-m + L-DOPA</b>	<b>CS-o</b>	<b>CS-o + epinefrina</b>
$g_{\perp}$	2.077	2.065	2.077	2.057
$g_{\parallel}$	2.22	2.23	2.23	2.24
$A_{\parallel} (\text{cm}^{-1})$	$168.6 \times 10^{-4}$	$154.6 \times 10^{-4}$	$171.3 \times 10^{-4}$	$154.1 \times 10^{-4}$

Adicionalmente se obtuvieron los espectros IR-ATR de L-DOPA libre y de **CS-m**+L-DOPA (2 eq.) en estado sólido, la Figura 4.50 muestra los espectros obtenidos, donde se destacan algunas señales de estiramientos asimétricos de importancia<sup>[104]</sup>. Los resultados muestran que el grupo carboxilo, al igual que el grupo amino, se encuentra implicado en la coordinación al átomo de  $\text{Cu}^{2+}$ , dado que la señal de estiramiento del carbonilo en L-DOPA aparece en  $1642 \text{ cm}^{-1}$ , mientras que esta

señal se encuentra a un número de onda menor ( $1614\text{ cm}^{-1}$ ) cuando L-DOPA está en presencia del receptor **CS-m** ( $\Delta(1/\lambda) = 28\text{ cm}^{-1}$ ). Esto se atribuye a que a pH 7.4 (condición para los estudios de reconocimiento) el grupo carboxilo de L-DOPA se encuentra en forma de carboxilato ( $pK_a(\text{COOH}) = 2.31^{[105]}$ ), lo cual justifica la alta constante de asociación mostrada entre **CS-m** y L-DOPA.

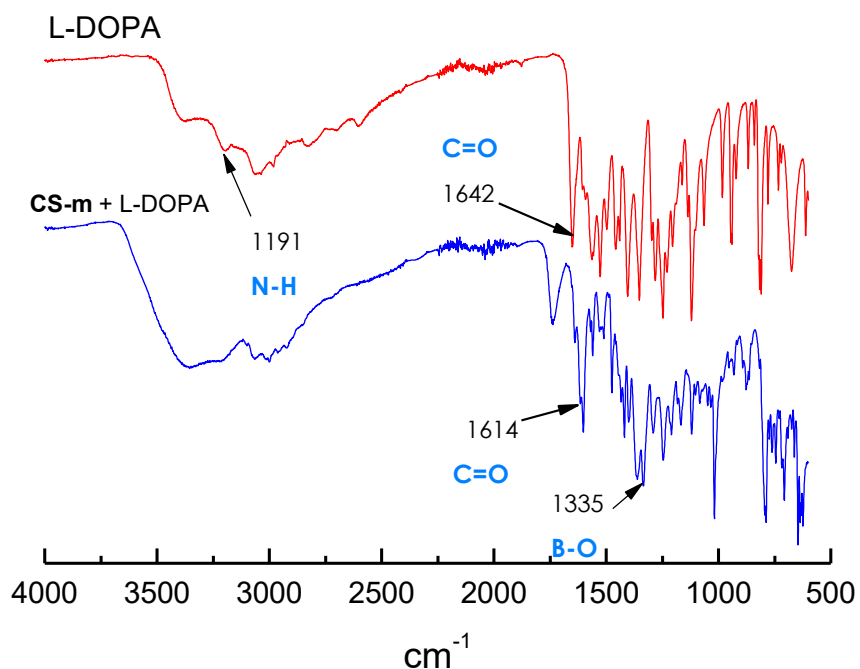


Figura 4.50 Espectros IR-ATR de L-DOPA y **CS-m**+L-DOPA (2 eq.) en estado sólido.

Esta propuesta de asociación a  $\text{Cu}^{2+}$  concuerda con resultados obtenidos por Suzuki y colaboradores<sup>[106,107]</sup>, que han informado algunas estructuras cristalográficas de complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  con L-DOPA y análogos, **27** y **28**, donde el grupo amino y carboxilato se encuentran coordinados al centro metálico (Figura 4.51).

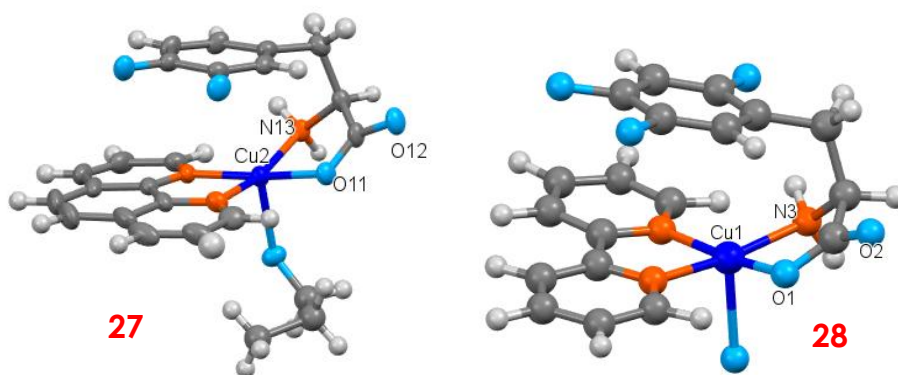


Figura 4.51 Estructuras cristalográficas de complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  con L-DOPA (**27**) y un análogo de L-DOPA (**28**).

## CONCLUSIONES

Dos nuevos compuestos de coordinación catiónicos fluorescentes conteniendo en su estructura química dos ácidos de Lewis diferentes, un complejo metálico de  $\text{Cu}^{2+}$  y un ácido fenilborónico unidos covalentemente a un fluoróforo orgánico de isoquinolinio, con fórmula general  $[\text{CuL}(\mathbf{-o}, \mathbf{-m})\text{Br}_2]\text{Br}$ , ( $\mathbf{L-o}$ = bromuro de 4-([2,2':6',2''-terpiridin]-4'-il)-2-(2-boronobenzil)isoquinolinio y  $\mathbf{L-m}$ = bromuro de 4-([2,2':6',2''-terpiridin]-4'-il)-2-(3-boronobenzil)isoquinolinio) se sintetizaron y caracterizaron por diversas técnicas espectroscópicas ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{11}\text{B}$  RMN, IR-ATR, EM) y difracción de rayos-X de monocristal para el ligante  $\mathbf{L-o}$  y el complejo  $[\text{CuL-mBr}_2]\text{Br}$  ( $\mathbf{CS-m}$ ).

Los ligantes  $\mathbf{L-o}$  y  $\mathbf{L-m}$  poseen alta afinidad a iones  $\text{Cu}^{2+}$ , las constantes de complejación fueron determinadas en  $\log K_c = 5.91$  y  $6.18$  respectivamente, en medios acuosos neutros. Los estudios espectroscópicos de asociación a través de titulación de UV-Vis, fluorescencia y la estructura cristalina del complejo  $\mathbf{CS-m}$  muestran una estequiometría 1:1 ligante- $\text{Cu}^{2+}$ .

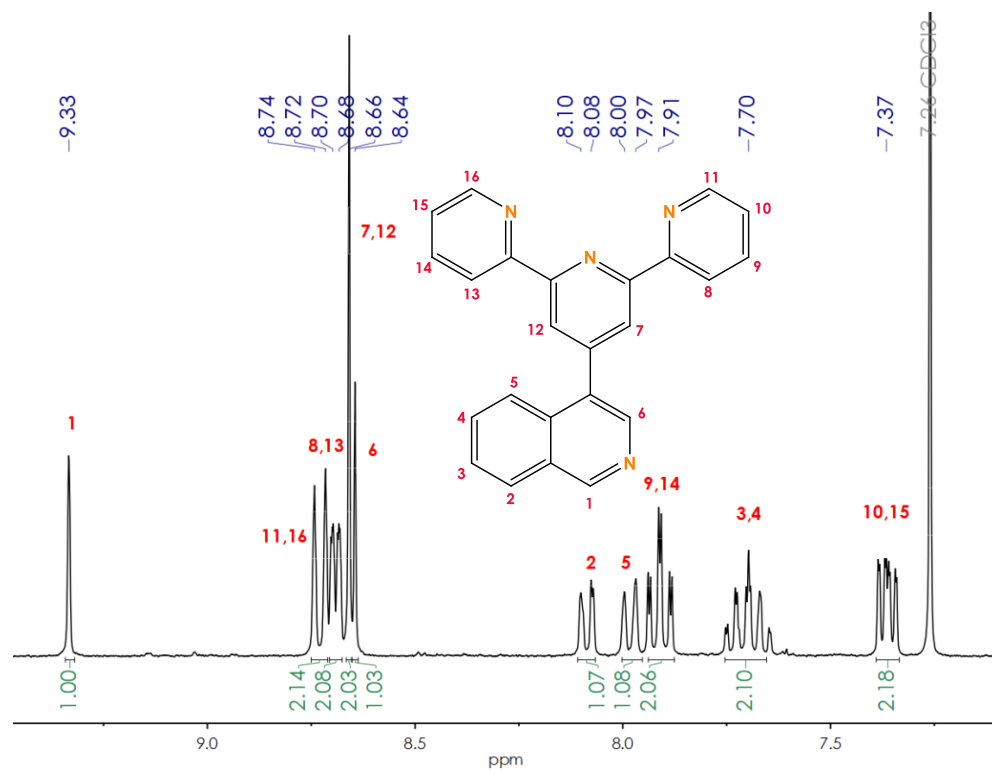
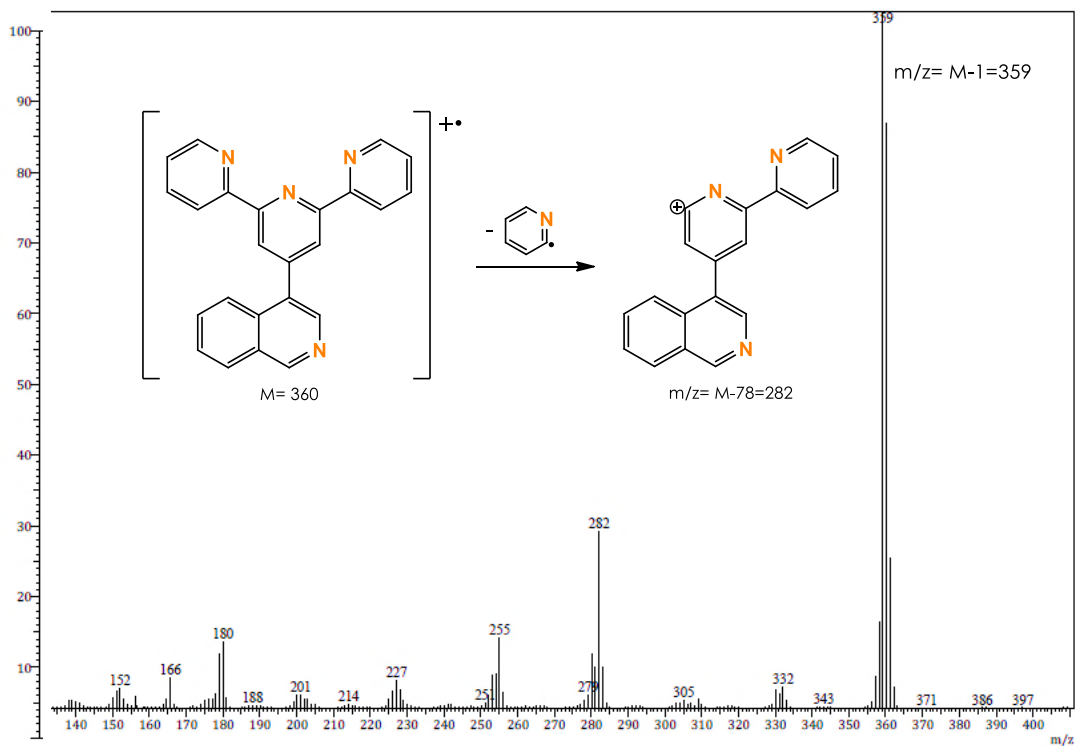
Los complejos metálicos  $[\text{CuL-oBr}_2]\text{Br}$ ,  $\mathbf{CS-o}$  y  $[\text{CuL-mBr}_2]\text{Br}$ ,  $\mathbf{CS-m}$  pueden ser usados como quimiosensores intrínsecos y luminiscentes para la detección de neurotransmisores basados en catecolaminas en un medio acuoso a  $\text{pH} = 7.4$ . La adición de L-DOPA, dopamina, epinefrina y pirocatecol en concentraciones micromolares a soluciones acuosas de  $\mathbf{CS-o}$  y  $\mathbf{CS-m}$  exhibe una extinción rápida y fuerte de su emisión fluorescente azul ( $\lambda_{em} = 400 \text{ nm}$ ). El cambio de sus propiedades ópticas está basado en la asociación del quimiosensor-catecolamina a través de dos sitios de unión, la esterificación reversible del ácido fenilborónico por los grupos catecol y la coordinación de los grupos *N-donadores* de la catecolamina al centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$ . Los estudios espectroscópicos por  $^{11}\text{B}$  RMN muestran que los derivados de catecol esterifican al ácido fenilborónico con cambio de hibridación del boro de  $sp^2$  ( $\delta = 28 \text{ ppm}$ ) para el quimiosensor libre a una especie aniónica  $sp^3$  que corresponde al boronato ( $\delta = 5 \text{ ppm}$ ). Por otra parte, estudios de EPR mostraron que los grupos amino de los neurotransmisores tienen interacción con el centro metálico de  $\text{Cu}^{2+}$ -terpiridina.



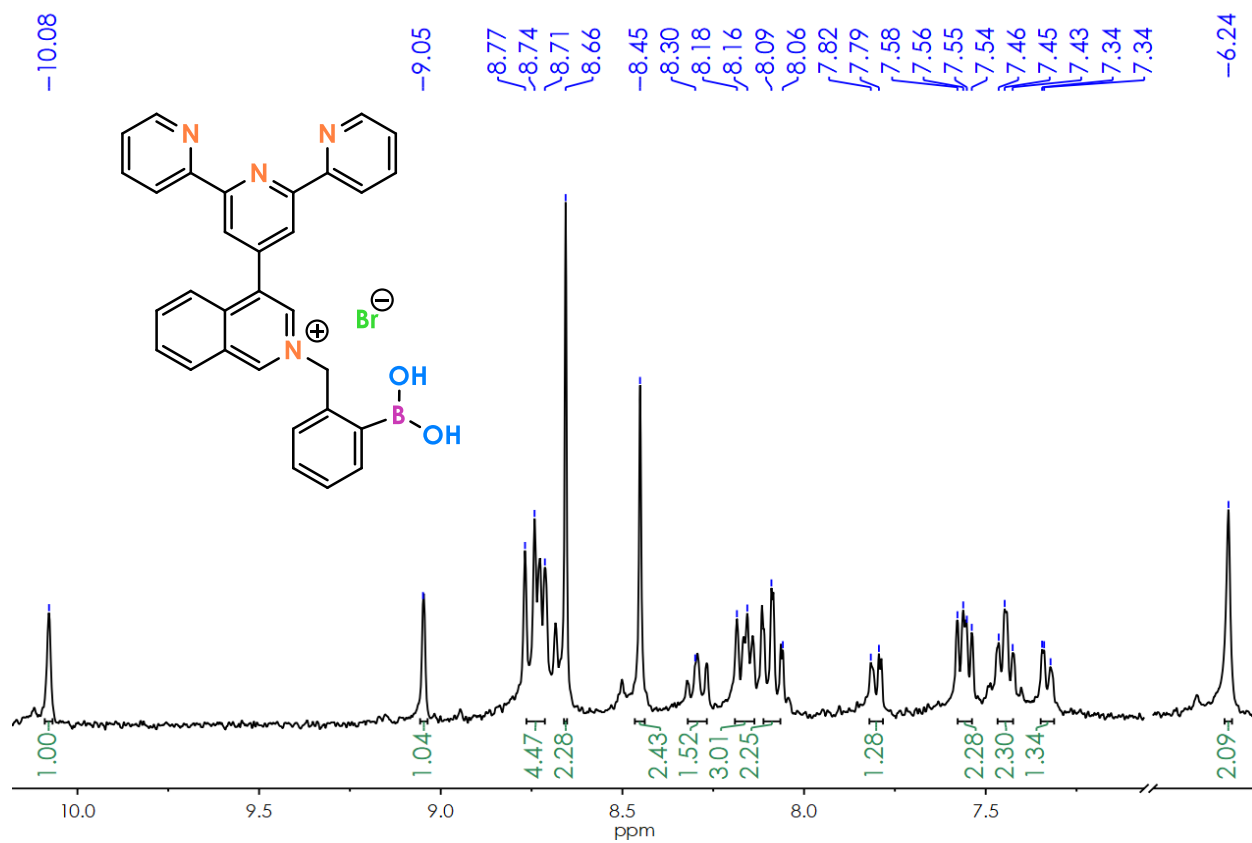
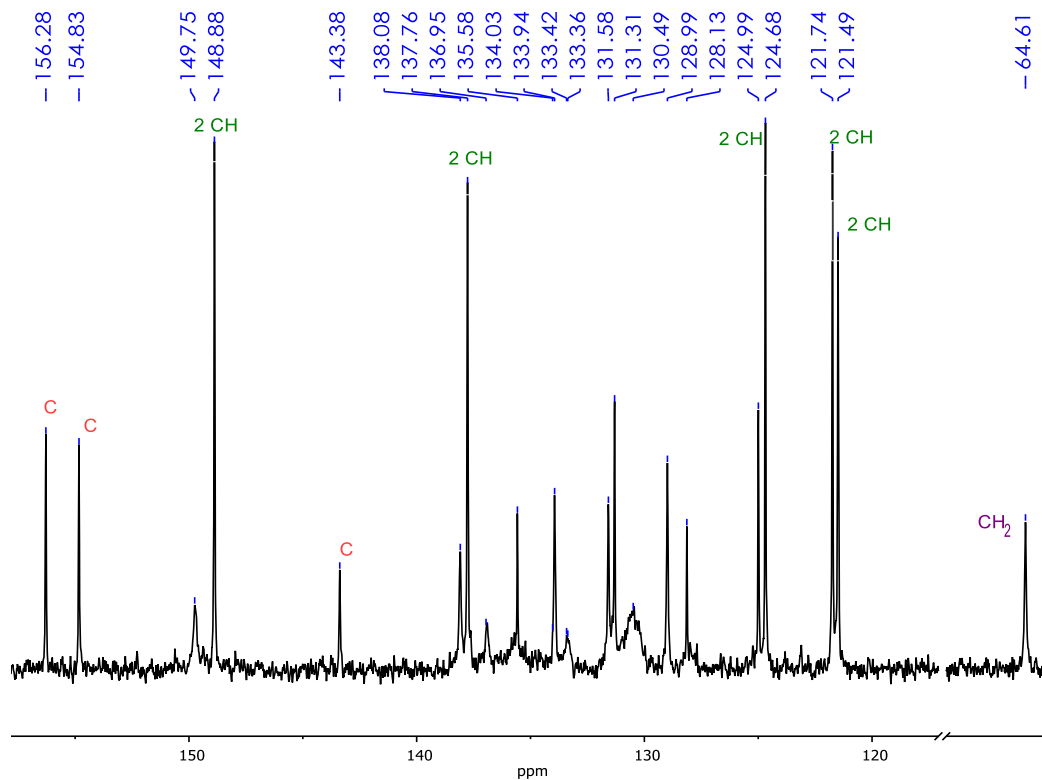
Las constantes de asociación obtenidas a través de titulaciones fluorimétricas y espectrofotométricas de los complejos metálicos con los neurotransmisores muestran que **CS-m** puede detectar L-DOPA en concentraciones *sub*-micromolares ( $\log K_{\text{ass}} = 7.15 \pm 0.01$ ) con un orden de selectividad L-DOPA > epinefrina > dopamina > pirocatecol > tirosina. Para el caso del isómero **CS-o** se observó la formación de un complejo estable con epinefrina ( $\log K_{\text{ass}} = 6 \pm 0.02$ ) y un orden de selectividad epinefrina ~ L-DOPA > dopamina > pirocatecol > tirosina. La afinidad de **CS-o** y **CS-m** por los catecoles estudiados a pH= 7.4 es atribuida por la fuerte acidificación del ácido borónico, resultado de la cuaternización del fragmento de isoquinolina en combinación con la coordinación de los grupos amina, específicamente de L-DOPA y epinefrina al centro metálico de Cu<sup>2+</sup>. La menor afinidad observada para tirosina y pirocatecol por los quimiosensores, es atribuida a que ambos analitos solo tienen un potencial sitio de unión.

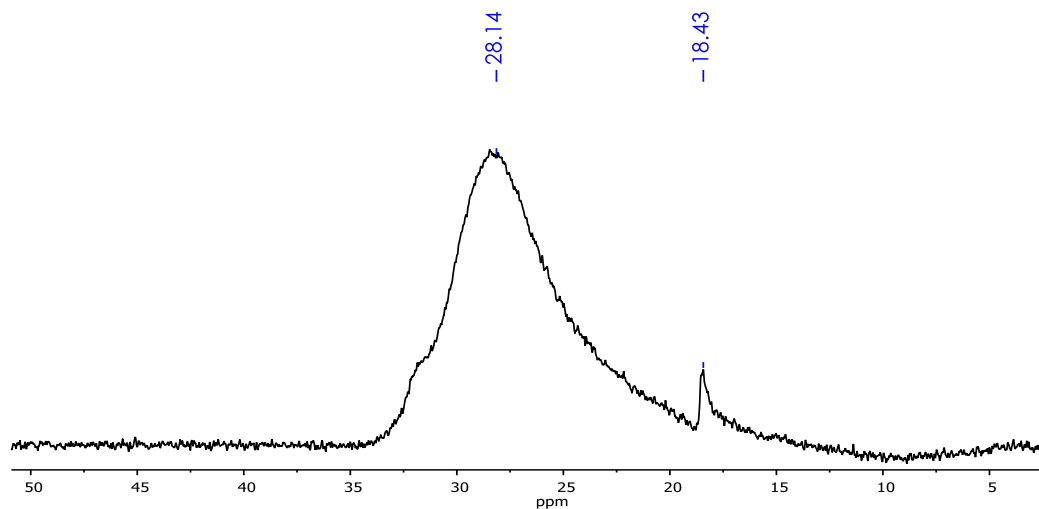
En general, estos resultados destacan la utilidad de una nueva serie de receptores metálicos fluorescentes conteniendo ácidos borónicos para el reconocimiento y detección selectiva de analitos biológicos derivados de catecoles con grupos N-donadores.

## ANEXOS

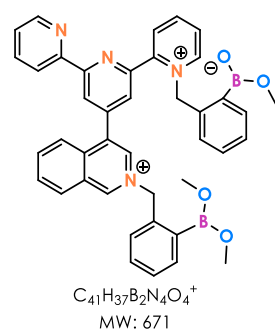
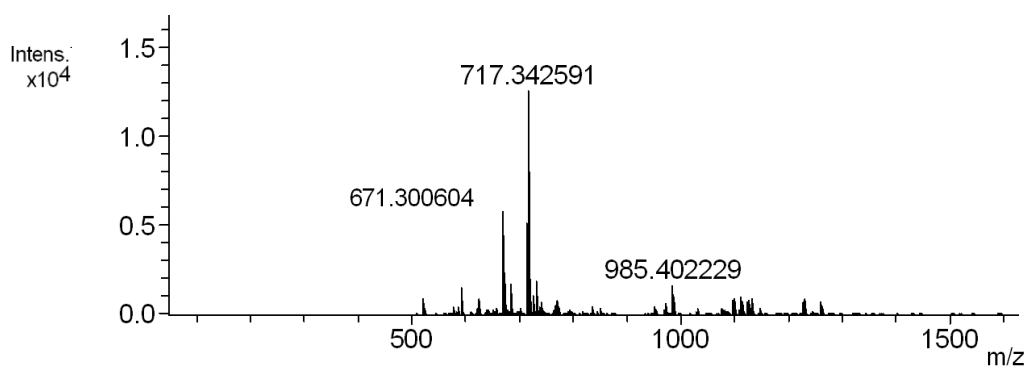
Anexo 1. Espectro 1H RMN del intermedio TIQ en CDCl<sub>3</sub>.

Anexo 2. Espectro de masas del intermedio TIQ con modo de ionización IE.

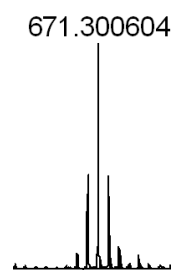
Anexo 3. Espectro  $^1\text{H}$  RMN de **L-o** en  $\text{DMSO-d}_6$ .Anexo 4. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN de **L-o** en  $\text{DMSO-d}_6$ .



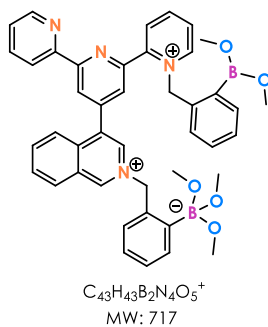
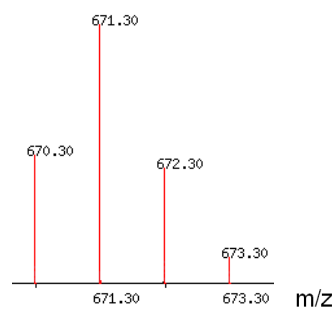
Anexo 5. Espectro  $^{11}\text{B}$  RMN de *L-o* en  $\text{DMSO-d}_6$ .



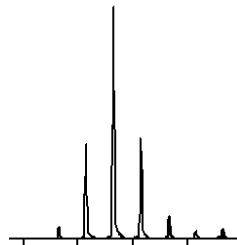
Experimental



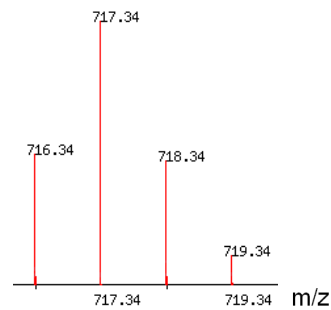
Teórico



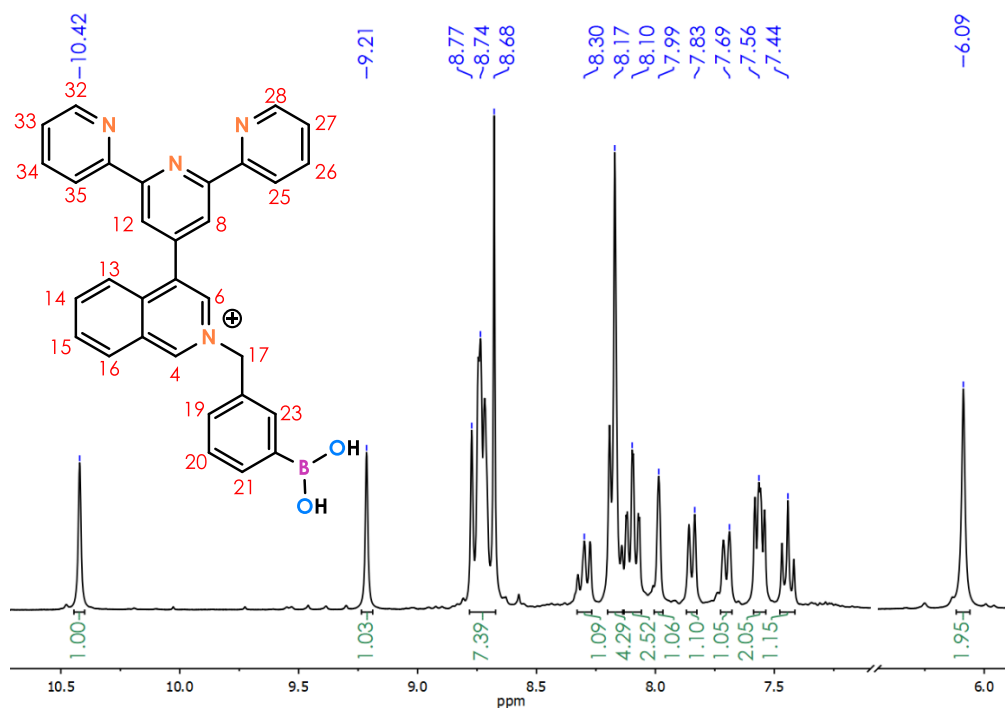
717.342591



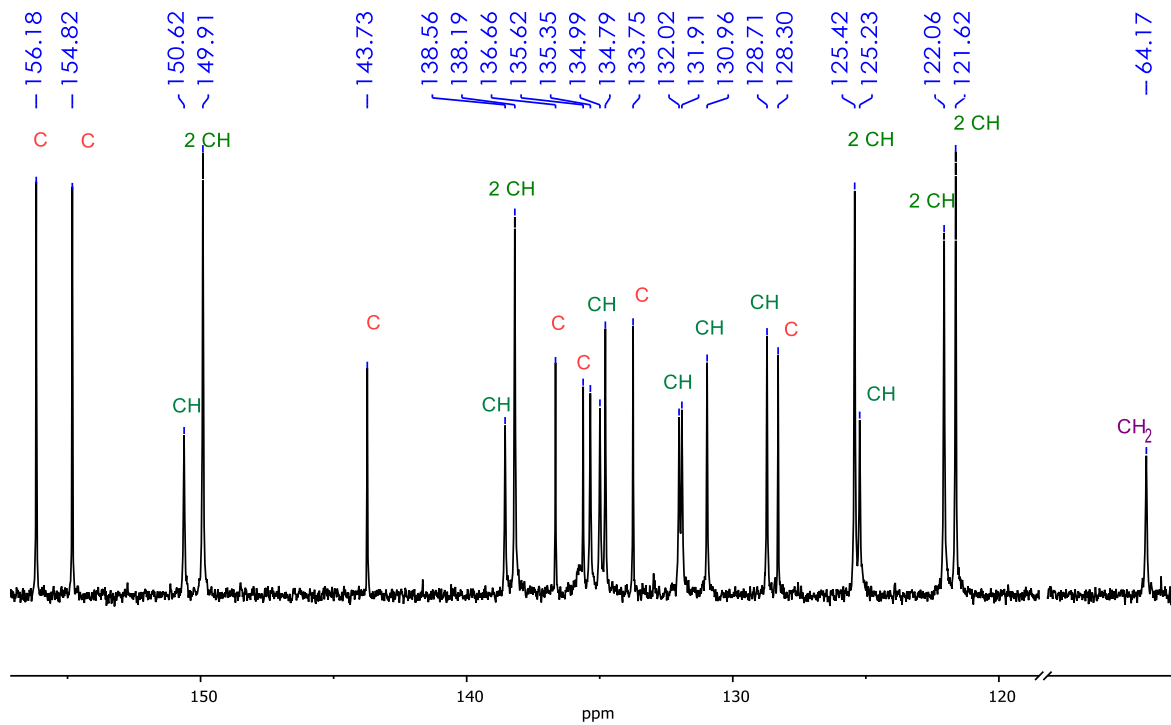
717.34



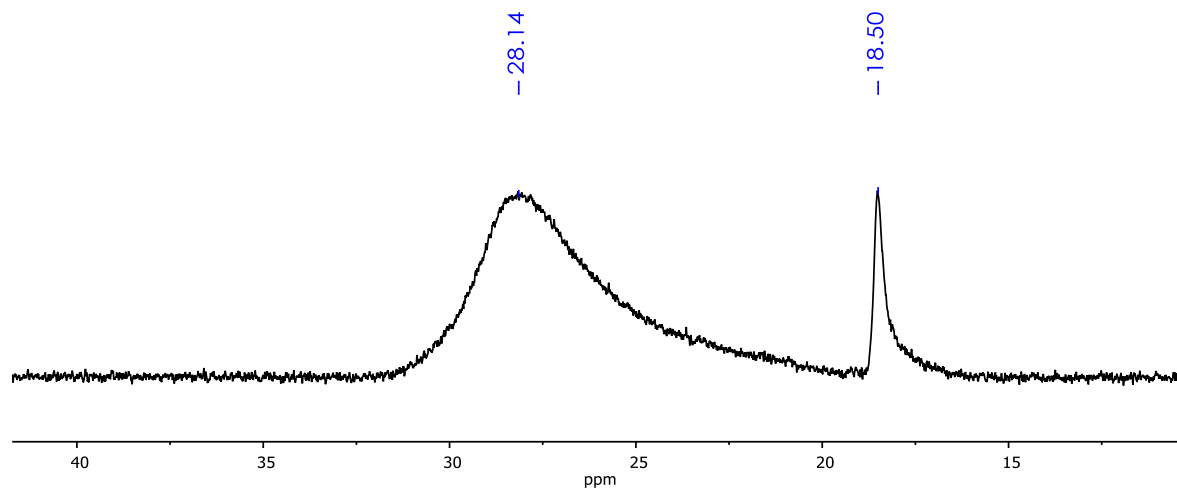
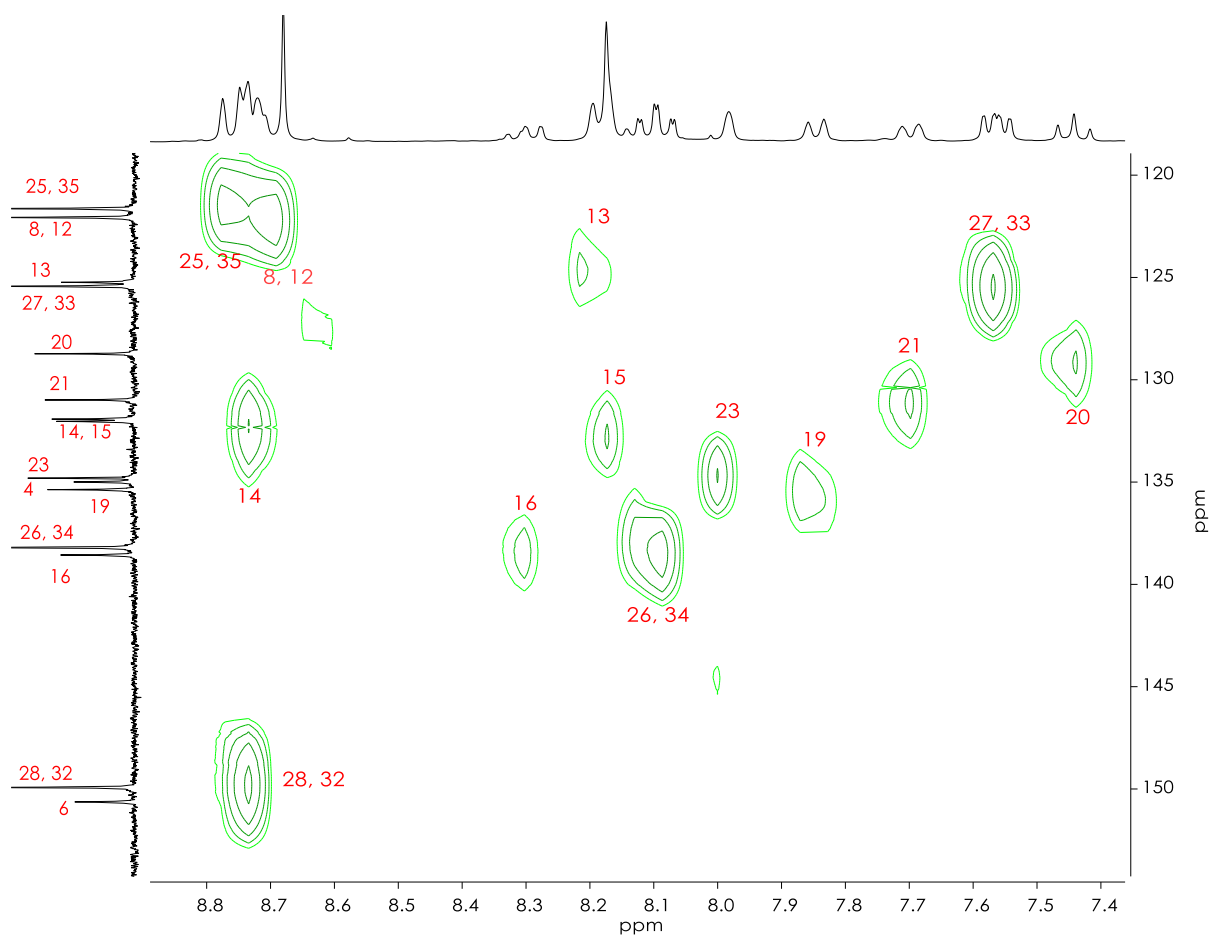
Anexo 6. Espectro de masas (ESI+,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) de *L-o*, especies detectadas y patrones de contribución isotópica experimentales y calculados.



Anexo 7. Espectro <sup>1</sup>H RMN de L-m en DMSO-d<sub>6</sub>.



Anexo 8. Espectro de <sup>13</sup>C RMN de L-m en DMSO-d<sub>6</sub>.

Anexo 9. Espectro RMN <sup>11</sup>B de L-m en MeOD.Anexo 10. Espectro HSQC de L-m en DMSO-d<sub>6</sub>.

Página intencionalmente en blanco

## REFERENCIAS

- [1] K. Ariga, T. Kunitake, *Supramolecular Chemistry-Fundamentals and Applications*, Germany, **2000**.
- [2] J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons, UK, **2009**.
- [3] A. W. Czarnik, *ACS Symp. Ser.* **1993**, 1–9.
- [4] E. V. Anslyn, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 687–699.
- [5] R. Claramunt, M. Farrán, C. López, M. Pérez, D. Santa María, *Química Bioinorgánica y Productos Naturales*, España, **2013**.
- [6] H. Lodish, A. Berk, S. Zipursky, *Noncovalent Bonds. Molecular Cell Biology*, W. H. Freeman, New York, **2000**.
- [7] P. Hewitt, *Física Conceptual*, Pearson, México, **2004**.
- [8] M. H. Filby, J. W. Steed, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 3200–3218.
- [9] C. R. Martinez, B. L. Iverson, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2191–2201.
- [10] B. W. Gung, J. C. Amicangelo, P. S. Erie, T. B. College, V. Pennsyl, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9261–9270.
- [11] E. Martz, "Cation-pi interactions," disponible en [http://proteopedia.org/wiki/index.php/Cation-pi\\_interactions](http://proteopedia.org/wiki/index.php/Cation-pi_interactions), **2016**.
- [12] B. L. Schottel, H. T. Chifotides, K. R. Dunbar, P. A. Gale, S. E. García-garrido, J. Garric, B. L. Schottel, H. T. Chifotides, K. R. Dunbar, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 68–83.
- [13] E. Martz, D. Ditmore, "Protein Explorer," disponible en [http://www.umass.edu/microbio/chime/pe\\_beta/pe/protexpl/igloss.htm](http://www.umass.edu/microbio/chime/pe_beta/pe/protexpl/igloss.htm), **2005**.
- [14] A. Requena, F. Olivares, *Autoasociación Por Puente de Hidrógeno*, Murcia, España, **1985**.
- [15] R. Overney, "Intermolecular and surfaces forces," disponible en [http://courses.washington.edu/overney/course\\_material/surface\\_forces.pdf](http://courses.washington.edu/overney/course_material/surface_forces.pdf), **2018**.
- [16] P. T. Corbett, J. Leclaire, L. Vial, K. R. West, J. Wietor, J. K. M. Sanders, S. Otto, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3652–3711.
- [17] F. Schaufelberger, B. J. J. Timmer, O. Ramström, *Dynamic Covalent Chemistry: Principles, Reactions and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., **2018**.
- [18] Y. Jin, C. Yu, R. Denman, W. Zhang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6634–6654.
- [19] L. You, D. Zha, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7840–7892.
- [20] C. Lepetit, V. Maraval, Y. Canac, R. Chauvin, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *308*, 59–75.
- [21] J. Huheey, E. Keiter, R. Keiter, *Inorganic Chemistry Principles of Structure and Reactivity*, Harper Collins College Publishers, **1993**.
- [22] A. P. Demchenko, *Introduction to Fluorescence Sensing*, Springer, Ukraine, **2009**.



- [23] D. Wu, A. C. Sedgwick, T. Gunnlaugsson, E. U. Akkaya, J. Yoon, T. D. James, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 7105–7123.
- [24] V. Amendola, G. Bergamaschi, M. Boiocchi, L. Fabbrizzi, L. Mosca, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 6345–6355.
- [25] A. Sahana, A. Banerjee, S. Lohar, S. Panja, D. Das, S. K. Mukhopadhyay, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7231–7233.
- [26] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, USA, **2006**.
- [27] T. F. Scientific, "Fluorescence Fundamentals," disponible en <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/references/molecular-probes-the-handbook/introduction-to-fluorescence-techniques.html>, **2017**.
- [28] S. K. Kim, D. H. Lee, J. Hong, J. Yoon, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 23–31.
- [29] N. Busschaert, C. Caltagirone, W. Van Rossom, P. A. Gale, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8038–8155.
- [30] B. T. Nguyen, E. V Anslyn, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 3118–3127.
- [31] R. Martínez-Máñez, F. Sancenón, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4419–4476.
- [32] B. Valeur, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*, Wiley-VCH, Germany, **2001**.
- [33] S. Neme, Síntesis , Caracterización y Evaluación de Sensores Fluorescentes Del Tipo " Turn on ", Para Su Posible Uso Como Biosensores de Zn ( II ) ., **2017**.
- [34] Z. Köstereli, Novel Chemosensors for Biologically Important Analytes, **2015**.
- [35] J. S. Kim, D. T. Quang, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3780–3799.
- [36] M. Kruppa, B. König, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3520–3560.
- [37] M. A. Hortala, L. Fabbrizzi, N. Marcotte, F. Stomeo, A. Taglietti, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 20–21.
- [38] M. Bonizzoni, L. Fabbrizzi, G. Piovani, A. Taglietti, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11159–11162.
- [39] Y. Zhou, J. Yoon, *Chem. Rev.* **2012**, *41*, 52–67.
- [40] J. F. Folmer-andersen, V. M. Lynch, E. V Anslyn, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5319–5326.
- [41] S. L. Tobey, E. V Anslyn, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2029–2031.
- [42] S. Striegler, E. Tewes, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2002**, 487–495.
- [43] U. Schubert, H. Hofmeier, G. Newkome, *Modern Terpyridine Chemistry*, Wiley-VCH, Germany, **2006**.
- [44] G. Facchin, N. Alvarez, R. Sapiro, M. Péres-araujo, *Inf. Tecnológica* **2012**, *23*, 25–30.
- [45] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, T. Sez, U. Camerino, S. Agostino, U. Padova, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 815–862.
- [46] S. Rajalakshmi, T. Weyhermüller, M. Dinesh, B. Unni, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *117*, 48–59.
- [47] R. Kaushik, A. Ghosh, D. A. Jose, *J. Lumin.* **2016**, *171*, 112–117.
- [48] R. Kaushik, A. Ghosh, D. A. Jose, *Coord. Chem. Rev.* **2017**, *347*, 141–157.

- [49] A. K. Purohit, S. K. Padhan, J. R. Mohanty, P. K. Kar, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2018**, *17*, 815–821.
- [50] H. Defrancesco, J. Dudley, A. Coca, *ACS Symp. Ser.* **2016**, *6*, 1–25.
- [51] J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- [52] X. Wu, Z. Li, X. Chen, J. S. Fossey, T. D. James, Y. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 8032.
- [53] G. F. Whyte, R. Vilar, R. Woscholski, *J. Chem Biol.* **2013**, *6*, 161–174.
- [54] S. D. Bull, M. G. Davidson, J. M. H. V. A. N. D. E. N. Elsen, J. S. Fossey, A. T. A. Jenkins, Y. Jiang, Y. Kubo, F. Marken, K. Sakurai, J. Zhao, et al., *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 312–326.
- [55] O. Hirata, M. Yamamoto, K. Sugiyasu, Y. Kubo, M. Ikeda, M. Takeuchi, S. Shinkai, *J. Supramol. Chem.* **2002**, *2*, 133–142.
- [56] X. T. Zhang, S. Wang, G. W. Xing, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 12007–12017.
- [57] R. Hosseinzadeh, M. Mohadjerani, M. Pooryousef, A. Eslami, S. Emami, *Spectrochim. ACTA PART A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *144*, 53–60.
- [58] H. Li, W. Huo, M. He, J. Lian, S. Zhang, Y. Gao, *Sensors Actuators, B Chem.* **2017**, *253*, 542–551.
- [59] X. Wu, X. Chen, *Analyst* **2017**, *142*, 1403–1414.
- [60] K. M. K. Swamy, S. Ko, K. Kwon, N. Lee, C. Mao, J. Kim, K. Lee, J. Kim, *Chem. Commun.* **2008**, 5915–5917.
- [61] G. Zhang, H. Zhang, J. Zhang, W. Ding, J. Xu, Y. Wen, *Sensors Actuators B Chem.* **2017**, *253*, 224–230.
- [62] T. Imada, H. Kijima, M. Takeuchi, Shinkai, *Science (80- )*. **1996**, *52*, 2817–2826.
- [63] M. Kruppa, C. Mandl, S. Miltschitzky, B. Ko, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3362–3365.
- [64] H. Miyaji, H. Komada, K. Goto, J. Fujimoto, N. Kiriyaama, J. H. R. Tucker, *Tetrahedron Lett.* **2018**, *2*, 1–5.
- [65] D. M. Lovinger, *Alcohol Res Heal.* **2008**, *31*, 196–214.
- [66] M. E. Gnegy, in *Basic Neurochem.*, Elsevier Inc., **2012**, pp. 283–299.
- [67] J. Soleymani, *Trends Anal. Chem.* **2015**, *72*, 27–44.
- [68] M. Hasanzadeh, N. Shadjou, M. De, *Trends Anal. Chem.* **2017**, *86*, 107–121.
- [69] R. Sangubotla, J. Kim, *Trends Anal. Chem.* **2018**, *105*, 240–250.
- [70] R. T. Peaston, C. Weinkove, R. T. Peaston, C. Weinkove, *Assoc. Clin. Biochem.* **2004**, *41*, 17–38.
- [71] R. Pluto, P. Bürger, *Int. J. Sport Med.* **1988**, *9*, 75–78.
- [72] T. Pradhan, H. Sung, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 4684–4713.
- [73] A. Coskun, E. U. Akkaya, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3107–3109.
- [74] K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3727–3730.

- [75] Z. Wu, M. Li, H. Fang, B. Wang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 7179–7182.
- [76] E. Jin, H. Liu, J. Young, J. Yong, J. Yoon, *Sensors Actuators B. Chem.* **2013**, *176*, 611–617.
- [77] R. Khattar, P. Mathur, *Inorg. Chem. Commun.* **2013**, *31*, 37–43.
- [78] B. Laramée-Milette, T. Auvray, S. Nguyen, S. Tremblay, C. Lachance-Brais, M. Donguy, V. Taylor, D. Deschênes, G. Hanan, *Synthesis (Stuttg.)* **2015**, *47*, 3849–3858.
- [79] S. Hermanek, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 325–362.
- [80] G. Tricot, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 26764–26770.
- [81] H. F. Shurvell, *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 2089–2095.
- [82] M. Nieto, M. Rodríguez, J. Oteo, *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.* **1985**, *24*, 81–86.
- [83] E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher, *Structure Determination of Organic Compounds*, Springer, Germany, **2009**.
- [84] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry - Kazuo Nakamoto.Pdf*, John Wiley & Sons, **1986**.
- [85] S. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 3071–3075.
- [86] T. Klis, J. Serwatowski, *Acta Crystallogr.* **2009**, *E65*, o2348.
- [87] L. M. Hyman, C. J. Stephenson, M. G. Dickens, K. D. Shimizu, K. J. Franz, *Dalt. Trans.* **2010**, *39*, 568–576.
- [88] C. Janiak, *Dalt. Trans.* **2000**, 3885–3896.
- [89] R. Kruszynski, T. Siera, *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 587–595.
- [90] V. Kochkodan, N. Bin Darwish, N. Hilal, **2015**.
- [91] D. S. Marlin, M. M. Olmstead, P. K. Mascharak, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 7003–7008.
- [92] Y. Kanekiyo, S. Shinkai, *Supramolecular Chemistry of Boronic Acids*, The Royal Society Of Chemistry, **2015**.
- [93] K. Lacina, P. Skládal, T. D. James, *Chem. Cent. J.* **2014**, *8*, 1–17.
- [94] S. Gamsey, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6321–6331.
- [95] B. M. Chapin, P. Metola, S. L. Vankayala, H. L. Woodcock, T. J. Mooibroek, V. M. Lynch, J. D. Larkin, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5568–5578.
- [96] I. J. Bazany-Rodríguez, D. Martínez-Otero, J. Barroso-Flores, A. K. Yatsimirsky, A. Dorazco-González, *Sensors Actuators B Chem.* **2015**, *221*, 1348–1355.
- [97] B. Hathaway, E. Billing, *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 143–207.
- [98] P. Manikandan, B. Epel, D. Goldfarb, **2001**, 781–787.
- [99] M. Valko, P. Pelikan, S. Biskupic, M. Mazur, **1990**, *44*, 805–813.
- [100] V. Uma, M. Elango, B. U. Nair, **2007**, 3484–3490.
- [101] E. Garribba, G. Micera, **2006**, *83*, 1229–1232.

- [102] D. Maheshwaran, S. Priyanga, R. Mayilmurugan, *Dalt. Trans.* **2017**, *46*, 11408–11417.
- [103] M. R. P. Kurup, B. Varghese, M. Sithambaresan, S. Krishnan, S. R. Sheeja, *Polyhedron* **2011**, *30*, 70–78.
- [104] T. López, D. Esquivel, G. Mendoza-Díaz, E. Ortiz-Islas, R. D. González, O. Novaro, *Mater. Lett.* **2015**, *161*, 160–163.
- [105] D. W. Newton, R. B. Kluza, *Drug Intell. Clin. Pharm.* **1978**, *12*, 546–554.
- [106] N. Nakamura, T. Kohzuma, H. Kuma, S. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6550–6552.
- [107] S. Suzuki, K. Yamaguchi, N. Nakamura, Y. Tagawa, H. Kuma, T. Kawamoto, *Inorganica Chim. Acta* **1998**, *283*, 260–267.





# Simposio del IQ 2018



EL INSTITUTO DE QUÍMICA DE LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

otorga la presente

## CONSTANCIA

a: **Cinthia Laura Hernández Juárez**, Iván J. Bazany  
Rodríguez, Diego Martínez Otero, Ma. de las Nieves  
Zavala Segovia, Alejandro Dorazco González

Por la presentación del cartel:

*"Recognition of Nucleosides and Neurotransmitters by  
Fluorescent Boronic Acids bearing Copper-Terpyridine in  
Water"*

en el Simposio Interno del Instituto de Química, que se llevó a  
cabo del 13 al 15 de junio de 2018

Ciudad Universitaria, CDMX, a 15 de junio de 2018

Dr. Jorge Peón Peralta  
Director

Dr. Fernando Cortés Guzmán  
Secretario Académico



# Simposio del IQ 2018



EL INSTITUTO DE QUÍMICA DE LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO AL PRIMER LUGAR NIVEL MAESTRÍA

a: **Cinthia Laura Hernández Juárez**

Por la destacada presentación del cartel:

**“Recognition of Nucleosides and  
Neurotransmitters by Fluorescent Boronic Acids  
bearing Copper-Terpyridine in Water”**

en el Simposio Interno del Instituto de Química, que se  
llevó a cabo del 13 al 15 de junio de 2018

Ciudad Universitaria, CDMX, a 15 de junio de 2018

Dr. Jorge Peón Peralta  
Director

Dr. Fernando Cortés Guzmán  
Secretario Académico



Québec City, July 13th 2018

Cinthia-Laura Hernández-Juárez  
Universidad Nacional Autónoma de México  
RFC: UNA2907227Y5  
Avenida Universidad, Número 3000 CU, Coyoacan  
Ciudad de Mexico, Estado De México,  
Mexico C.P. 04510

**OBJECT: Letter of Attendance**

Dear Cinthia-Laura Hernández-Juárez,

On behalf of the Organizing Committee of the 13th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (ISMSC2018), we are pleased to confirm your participation in the 2018 Symposium which was held in Quebec City, Canada from July 8-13, 2018.

We are delighted to welcome more than 450 participants from 38 different countries for the 2018 edition of the Symposium!

The 2018 ISMSC follows the spirit of the preceding symposia. In addition to sessions of invited lectures that focus upon a single topical area, award lectures, and poster sessions, this year symposium is featuring evening inspirational sessions on supramolecular chemistry with moderators and keynote speakers. Further, given the success of our discipline with Nobel Prizes over the past few decades, we have arranged an additional Friday series of Nobel Lectures. Each of the sessions will be of special interest to the community, and are noteworthy to young investigators.

We thank you very much for your participation in ISMSC 2018 and look forward to meeting you for the next edition in 2019!

Sincerely,

Normand Voyer  
ISMSC 2018 Conference Chair

ISMSC 2018 Secretariat  
425, boul. René-Lévesque Ouest  
Quebec, Qc, Canada G1S 1S2  
ismsc2018@conferium.com / www.ISMSC2018.org



# Recognition of Nucleosides and Neurotransmitters by Fluorescent Boronic Acids bearing Copper-Terpyridine in Water

Cinthia Laura Hernández Juárez<sup>1</sup>, Iván J. Bazany Rodríguez<sup>1</sup>, Alejandro Dorazco González<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Toluca de Lerdo, México; <sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Ciudad Universitaria, CDMx. Tel. (722) 465 1618 e-mail: cinty.hj@comunidad.unam.mx



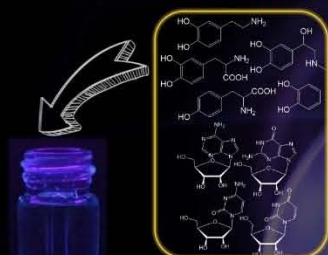
## INTRODUCTION

Synthetic receptors make use of a large range of possible chemical functional groups in order to bind to analytes with high affinity. Boronic acids are known to bind to diol and polyol motifs which are present in many biological molecules. This condensation is a well known dynamic covalent reaction. Neurotransmitters play roles as messengers of neurologic information so an imbalancing level can cause many clinical conditions including psychiatric disorders. Two new blue fluorescent ( $\lambda_{em} = 400$  nm) Cu(II)-terpy complexes containing cationic N-(benzyl)isoquinolin moieties with two different pendant benzylboronic acids (-ortho and -meta) were synthesized, fully characterized including X-ray crystal diffraction analysis for ligands and studied in detail as chemosensors for neurotransmitters based-catecholamines, L-tyrosine and nucleosides in buffered aqueous solutions.

## EXPERIMENTAL PART



## Ligands recognition and sensing



Analyte	T4IQ2B	T4IQ3B
Pyrocatechol	(1.2±0.08)×10 <sup>5</sup>	(2.9±0.1)×10 <sup>4</sup>
Dopamine-HCl	(8.9±0.3)×10 <sup>4</sup>	(3.0±0.08)×10 <sup>5</sup>
Epinephrine-HCl	(1.3±0.03)×10 <sup>5</sup>	(3.0±0.05)×10 <sup>5</sup>
L-DOPA-HCl	(1.5±0.05)×10 <sup>5</sup>	(2.6±0.01)×10 <sup>4</sup>
L-Tyrosine-HCl	ND	ND
Adenosine	(3.0±0.1)×10 <sup>4</sup>	(2.8±0.10)×10 <sup>4</sup>
Cytidine	(3.9±0.06)×10 <sup>4</sup>	(5.1±0.10)×10 <sup>4</sup>
Guanosine	(3.7±0.11)×10 <sup>5</sup>	(4.7±0.08)×10 <sup>5</sup>
Uridine	(1.8±0.10)×10 <sup>4</sup>	(2.1±0.09)×10 <sup>4</sup>

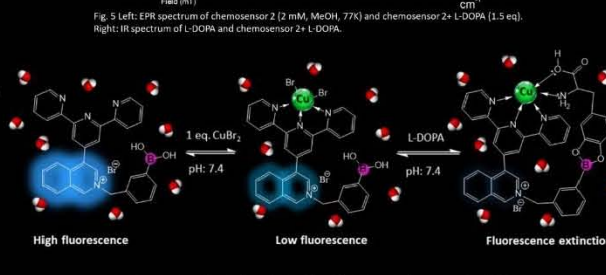
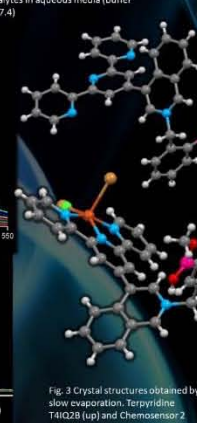
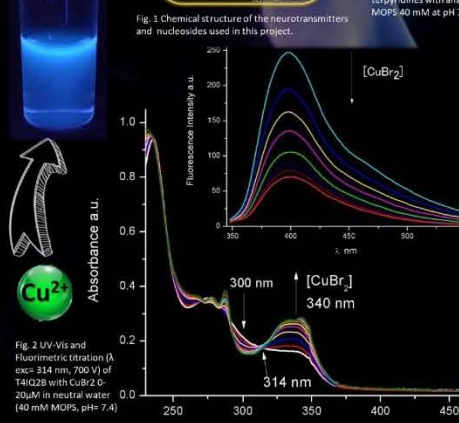
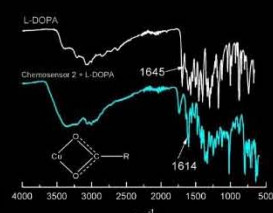
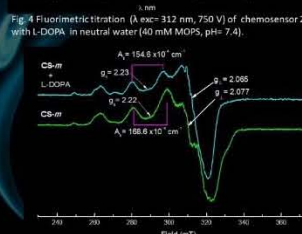
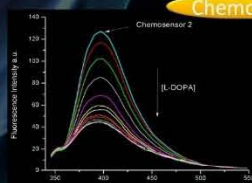
Table 1. Stability constants (by fluorescence) for the terpyridines with analytes in aqueous media (buffer MOPS 40 mM at pH 7.4)

## RESULTS

## Chemosensors recognition and sensing

Analyte	Chemosensor 1, K (M <sup>-1</sup> )	Chemosensor 2, K (M <sup>-1</sup> )
Pyrocatechol	(7.8±0.1)×10 <sup>4</sup>	(9.0±0.1)×10 <sup>4</sup>
Dopamine-HCl	(4.6±0.1)×10 <sup>5</sup>	(6.8±0.08)×10 <sup>5</sup>
Epinephrine-HCl	(1.0±0.05)×10 <sup>6</sup>	(7.5±0.05)×10 <sup>5</sup>
L-DOPA-HCl	(9.4±0.01)×10 <sup>5</sup>	(1.4±0.01)×10 <sup>7</sup>
L-Tyrosine-HCl	(1.4±0.01)×10 <sup>4</sup>	(2.1±0.01)×10 <sup>3</sup>

Table 2. Stability constants (fluorimetric titrations) for the chemosensors with neurotransmitters in neutral water (40 mM MOPS, pH 7.4)



## CONCLUSIONS

- The two chemosensors 1-2 undergo efficient fluorescent quenching by addition of neurotransmitters and catechol. Addition of nucleosides shows lower quenching effect and L-tyrosine modestly enhances the fluorescence.
- For neurotransmitters, the stability constants were determined in the range of  $9.0 \times 10^4$  -  $1.4 \times 10^7$  M<sup>-1</sup> for chemosensor 2 with a pronounced selectivity toward L-DOPA. Addition of epinephrine to aqueous solutions of chemosensor 1 generates the greatest optical change by forming a very stable complex with the chemosensor 1 with binding constant of  $1.0 \times 10^6$  M<sup>-1</sup>.
- Combination of fluorescent metal-complexes with available coordination sites and boronic acids allows the optical recognition of analytes containing a diol group and a ligand as carboxylic acid or amine in water.

## REFERENCES

- J Chem Biol, 2013, 6, 61-174  
Chem. Soc. Rev., 2013, 42, 6634-6654  
Chem. Soc. Rev., 2014, 43, 4684  
Coordination Chemistry Reviews, 2016, 268, 1-22  
Synthesis, 2015, 47, 3849-3858

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Ph.D. Diego Martínez Otero, M. Sc. Ma. de las Nieves Zavala Segovia, M. Sc. Lizbeth Triana Cruz, M. Sc. Melina Tapia Tapia, M. Sc. Virginia Gómez Vidales, M. Sc. Alejandra Núñez Pineda for technical assistance as well as CONACYT for financial support.