



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

RECONOCIMIENTO MOLECULAR Y DETECCIÓN ESPECTROSCÓPICA DE ANIONES Y TIOLES BIOLÓGICOS BASADO EN UNA SAL DE PORFIRINA Y COMPLEJOS DE PALADIO (II) TIPO PINZA

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. MARÍA KARINA SALOMÓN FLORES

**DR. ALEJANDRO DORAZCO GONZÁLEZ
INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM**

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**RECONOCIMIENTO MOLECULAR Y DETECCIÓN
ESPECTROSCÓPICA DE ANIONES Y TIOLES BIOLÓGICOS
BASADO EN UNA SAL DE PORFIRINA Y COMPLEJOS DE
PALADIO (II) TIPO PINZA**

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Q. MARÍA KARINA SALOMÓN FLORES



Ciudad de México, Noviembre 2019.

JURADO

Presidente	Dra. Silvia Elena Castillo Blum
Vocal	Dr. Pandiyan Sarasvathi Thangarasu
Vocal	Dr. José Guadalupe López Cortés
Vocal	Dr. Juan Manuel Germán Acacio
Secretario	Dr. Braulio Víctor Rodríguez Molina

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M.K.S.F.' with a large flourish underneath.

Sustentante

Q. María Karina Salomón Flores

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A.D.G.' with a large flourish underneath.

Tutor

Dr. Alejandro Dorazco González

El trabajo experimental de esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio 3 de Química Inorgánica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el Laboratorio 1 de Química Inorgánica del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEMéx-UNAM.

Se publicó el artículo *Efficient fluorescent chemosensing of iodide based on a cationic meso-tetraarylporphyrin in pure water* derivado de este trabajo de investigación en la revista *Sensors and Actuators: Chemical B.* **2018**, 281, 462-470.

Este trabajo se presentó en la modalidad póster en el 9º Encuentro de Química Inorgánica, celebrado en la Unidad de Servicios Bibliotecarios y de Información (USBI), Ixtaczoquitlán, Veracruz, del 25 al 28 de Junio del 2019.

AGRADECIMIENTOS

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

Al **CONACyT** por la beca No. 629475 otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al **Dr. Alejandro Dorazco González** por el apoyo y asesoría para el desarrollo de este trabajo.

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 al grupo de investigación.

Al personal técnico de los servicios analíticos del Instituto de Química de la UNAM.

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

Presidente	Dra. Silvia Elena Castillo Blum
Vocal	Dr. Pandiyan Sarasvathi Thangarasu
Vocal	Dr. José Guadalupe López Cortés
Vocal	Dr. Juan Manuel Germán Acacio
Secretario	Dr. Braulio Víctor Rodríguez Molina

Al **Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas** por el apoyo económico PAEP para asistir al 9° Encuentro de Química Inorgánica.

A mis papás **Juan Salomón** y **Rosario Flores** que son un claro ejemplo de trabajo, responsabilidad y esfuerzo.

A mis hermanas **Guadalupe**, **Leticia** y a toda mi **Familia** que siempre están ahí para apoyarme.

A mi mejor amiga **Isabel Martínez**; a **David Martínez** por su compañía; a mis amigos **Cinthia Hernández**, **Iván Bazany**, **Luisa Chávez**, **Josue Valdez**, **Magali Hernández**, **Luis Rosales**, **Cristian Pinzón** y **Alejandro Viviano**.

Contenido

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
Capítulo 1 Marco Teórico	4
1. Química supramolecular analítica	4
1.1. Reconocimiento molecular	4
2. Quimiosensores.....	5
2.1. Requisitos de un quimiosensor	6
2.2. Tipos de quimiosensores.....	6
3. Reconocimiento molecular de aniones	8
3.1. Receptores de aniones	9
3.2. Desafíos y retos en la detección de aniones	10
Capítulo 2 Antecedentes	15
1. Quimiosensores para aniones basados en porfirinas	15
1.1. Propiedades generales de la porfirina.....	15
1.2. La porfirina como anfitrión en el reconocimiento molecular.	17
1.3. Estrategias generales para el diseño de sensores de porfirina para aniones	19
1.4. Ejemplos de quimiosensores para aniones basados en porfirinas.	21
2. Quimiosensores para aniones basados en complejos de coordinación tipo pinza.....	27
2.1. Complejo tipo pinza.....	27
2.2. Ejemplos de quimiosensores para aniones basados en complejos tipo pinza (E [^] C [^] E); (E=N, P)	29
3. Quimiosensores para tioles biológicos.....	34
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS	38
Capítulo 3 Desarrollo experimental	39
1. Reactivos y disolventes	39
2. Instrumentación	39
3. Síntesis y caracterización de la sal triflato de 5,10,15,20-tetra(4-bencilpiridinio)-21H,23H-porfirina, 1.OTf	41
4. Estudios de reconocimiento molecular.....	43
4.1. Titulaciones de emisión fluorescente de 1.OTf con aniones como sales de sodio.	43
4.2. Titulaciones de absorción UV-Vis de 1.OTf con aniones como sales de sodio.....	43
4.3. Titulaciones de RMN ¹ H de 1.OTf con NaI.....	43

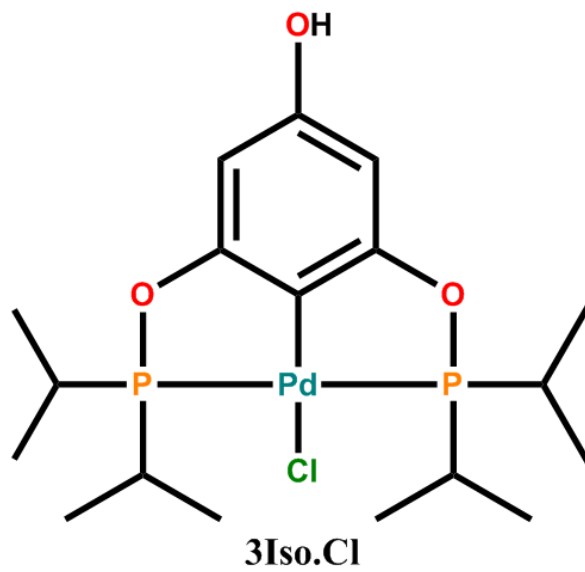
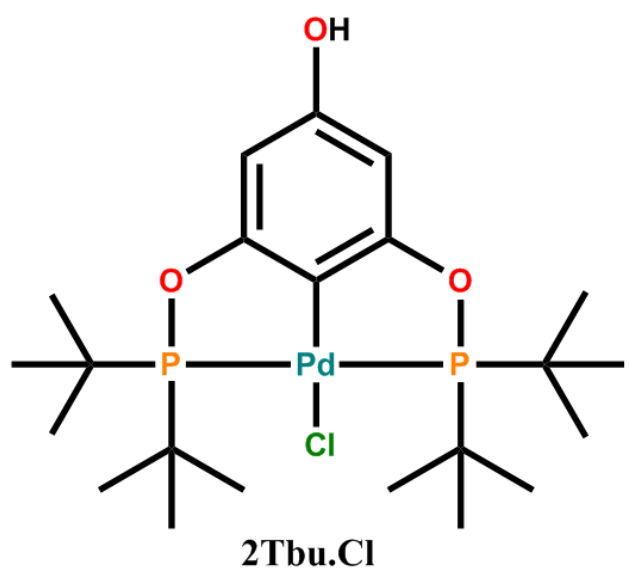
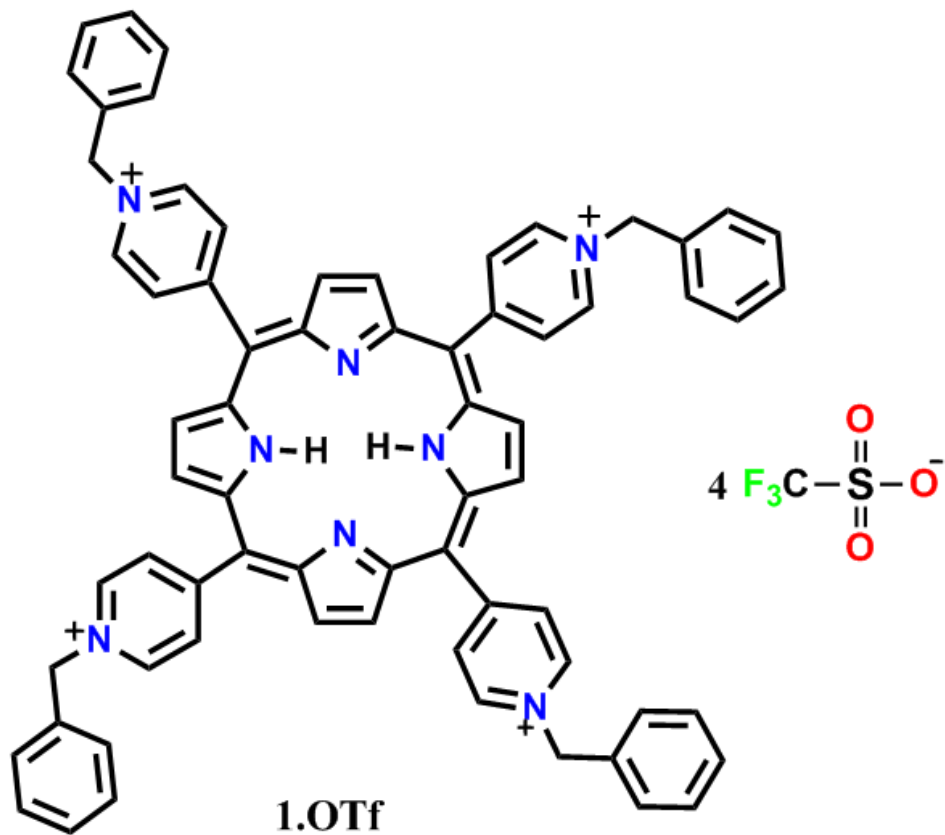
4.4.	Titulaciones de absorción UV-Vis y emisión fluorescente de 2Tbu.Cl y 3Iso.Cl con aniones como sales de TBA ⁺	44
4.5.	Titulaciones de absorción UV-vis y emisión fluorescente de 2Tbu.Cl con los tioles biológicos... ..	44
5.	Obtención de monocristales	44
Capítulo 4 Resultados y discusión del quimiosensor basado en porfirina 1.OTf		46
1.	Caracterización espectroscópica del sensor 1.OTf.....	47
2.	Análisis estructural por difracción de rayos X de monocristal	52
2.1.	Estructura cristalina 1.Br	53
2.2.	Estructura cristalina 1.OTf.....	55
3.	Estudios de reconocimiento molecular y detección de aniones.....	57
3.1.	Titulación de RMN de 1H.....	57
3.2.	Propiedades Fotofísicas de 1.OTf.....	59
3.3.	Estudios por espectroscopía de fluorescencia	62
3.4.	Estudios por espectroscopía de absorción UV-Vis	70
4.	Tiempo de vida de fluorescencia y rendimiento cuántico	71
5.	Estudios de DFT	73
Capítulo 5 Resultados y discusión de los quimiosensores basados en complejos de paladio (II) tipo pinza POCOP 2Tbu.Cl y 3Iso.Cl		76
1.	Propiedades fotofísicas	77
2.	Estudios de reconocimiento molecular y detección de aniones.....	82
2.1.	Respuesta colorimétrica.....	82
2.2.	Estudios por espectrofotometría de absorción UV-Vis.....	82
2.3.	Estudios por espectrofotometría de emisión fluorescente.	90
3.	Análisis estructural en estado sólido de 2Tbu.CN y 3Iso.CN	92
3.1	Caracterización de las estructuras cristalinas 2Tbu.CN y 3Iso.CN.....	100
4.	Estudios de reconocimiento molecular y detección de tioles biológicos	107
4.1.	Estudios por espectrofotometría de emisión fluorescente	108
4.2.	Estudios por espectrofotometría de absorción UV-vis	110
4.3.	Espectrometría de masas MALDI-TOF.....	112
CONCLUSIONES		113
CONTRIBUCIONES		115
REFERENCIAS.....		115

Abreviaturas y Acrónimos

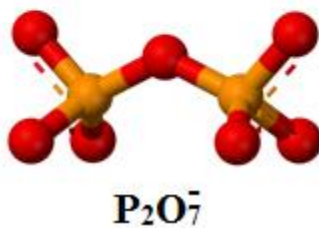
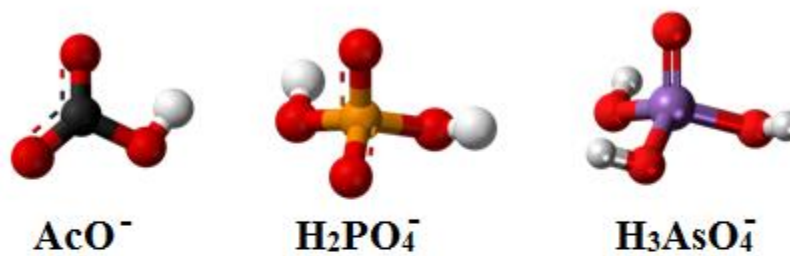
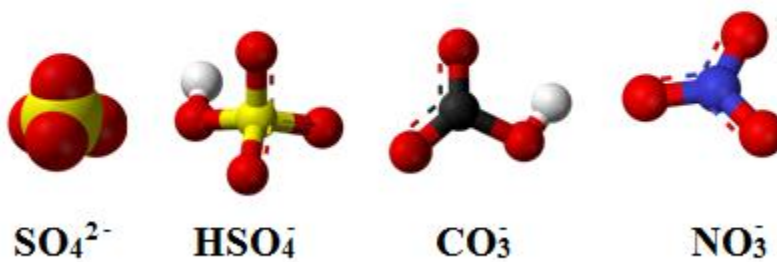
Å	Ángstrom
Abs	Absorbancia
°C	Grado Celsius
CD ₃ CN	Acetonitrilo deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
Cg	Centroide
Cys	Cisteína
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
d	Doblete
dd	Doblete de dobletes
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EM	Espetrometría de masas
eq.	Equivalente
ESI	Ionización por electrospray
EM	Espectometría de masas
EtOH	Etanol
GSH	Glutación reducido
HOMO	Orbital molecular ocupado de más alta energía
Hcy	Homocisteína
I	Intensidad de fluorescencia
I ₀	Intensidad de fluorescencia inicial
IE	Ionización por impacto electrónica
IR-ATR	Infrarrojo-Reflexión total atenuada
K	Kelvin
K _a	Constante de asociación
kcal	Kilocaloría
log	Logaritmo
LUMO	Orbital molecular desocupado de más baja energía
m	Multiplete
m/z	Relación masa carga
MeCN/CH ₃ CN	Acetonitrilo
MeOD	Metanol deuterado
MeOH/CH ₃ OH	Metanol
MHz	Megahertz
ml	Mililitro
mmol	Milimol
MOPS	Ácido 3-(N-mofolín)propanosulfónico
NAC	N-acetil-cisteína
nm	Nanómetro
pH	Potencial de hidrógeno
pKa	Constante de acidez
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singulete

T	Temperatura
TBA	Tetrabutilamonio
t	Triplete
td	Triplete de dobles
u.a.	Unidades arbitrarias
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
V	Volt
X	Halógeno
δ	Desplazamiento químico
λ	Longitud de onda
λ_{em}	Longitud de onda de emisión
λ_{ex}	Longitud de onda de excitación
μM	Micromolar

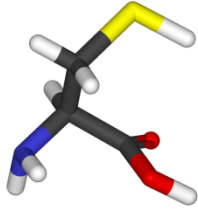
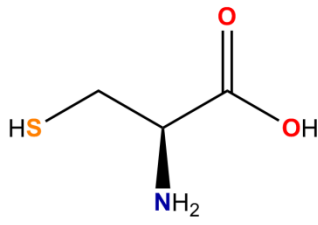
Estructuras químicas y acrónimos de los compuestos estudiados como sensores moleculares.



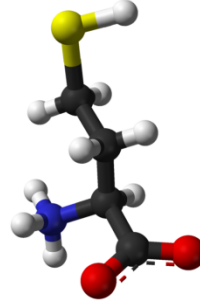
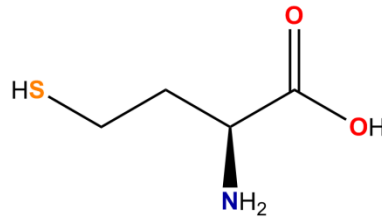
Analitos aniónicos empleados en los estudios de reconocimiento molecular



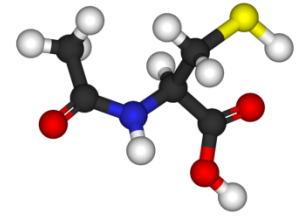
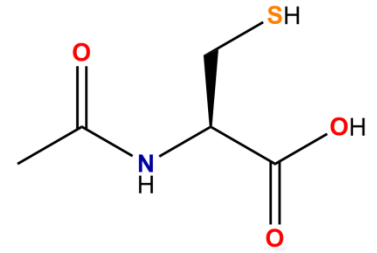
Analitos (tioles biológicos) empleados en los estudios de reconocimiento molecular



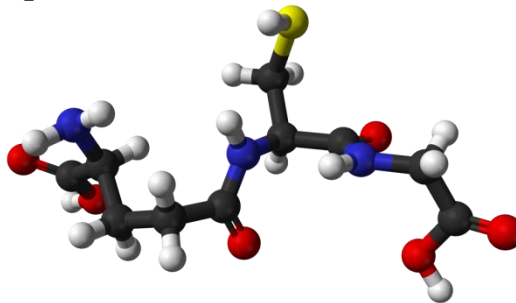
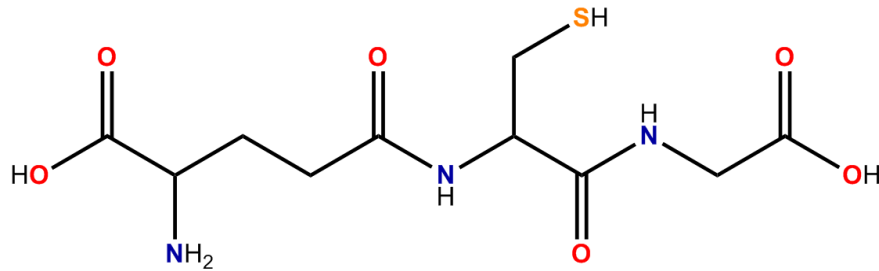
Cisteína (Cys)



Homocisteína (Hcy)



N-acetil-cisteína (NAC)



Glutati3n (GSH)

RESUMEN

En este trabajo de investigación se informan el diseño, síntesis, estudios estructurales y reconocimiento molecular por técnicas espectroscópicas y de difracción de rayos X de dos sistemas de quimiosensores para aniones y tioles con importancia biológica.

El primer sistema consiste en una sal luminiscente tetracatiónica de triflato 5,10,15,20-tetra (4-bencilpiridinio) - 21H, 23H-porfirina, **1.OTf**, la cual se diseñó y estudió como un quimiosensor para yoduro en agua pura. En condiciones óptimas, la adición de aniones inorgánicos y acetato como sales de sodio a **1.OTf** apaga su fluorescencia roja ($\lambda_{em}=658$ y 717 nm) con una afinidad muy pronunciada hacia el yoduro ($K_{I,I^-} = 1.9 (\pm 0.08) \times 10^4 M^{-1}$) acompañada por una extinción completa de su emisión ($K_{SV} = 1.1 (\pm 0.1) \times 10^5$) en un intervalo de concentración micromolar (0-50 μM). Se observó una respuesta analítica rápida y directa de **1.OTf** mediante la adición de iones I^- en un amplio intervalo de pH (5.0-8.0) con un límite de detección de $180 nmol L^{-1}$ a pH neutro y buena selectividad sobre otros aniones biológicos y más básicos tales como pirofosfato, cloruro, fluoruro y fosfato. El cambio óptico por la adición de yoduro se atribuye a una fuerte unión de par iónico con la formación simultánea de interacciones eficientes de enlaces de hidrógeno $C-H \cdots I^-$, estos contactos están soportados por experimentos de RMN de 1H . La unión eficiente y la detección fluorescente se atribuyen a la alta carga positiva de la especie monomérica de **1.OTf** en combinación con una fuerte acidificación de los donadores C-H mediante la cuaternización de los grupos piridilo. Por otro lado, la adición de bromuro, que es un anión interferente común, muestra un cambio espectral modesto pero más bajo que los observados para el yoduro. Sobre la base de múltiples experimentos de titulación espectroscópica (RMN 1H , UV-Vis, fluorescencia), gráfica de Job, estructuras cristalinas de la sal de bromuro (**1.Br**) y de triflato (**1.OTf**) y mediciones de tiempo de vida media de fluorescencia, se propone un mecanismo de extinción fluorescente a través de una transferencia de electrones fotoinducida con una complejación simultánea **1.OTf**-yoduro tanto en el estado excitado como en el basal. A partir de estudios teóricos de DFT, el modo de unión de este quimiosensor con yoduro es una interacción marcadamente iónica con energía calculada en $402.8 kcal/mol$. El método propuesto es directo, rápido, preciso y de bajo costo para la determinación de iones de yoduro en agua pura.

Por otra parte, el segundo sistema está basado en dos complejos tipo pinza de Pd (II) con un ligante *para*-hidroxil-POCOP: [PdCl{C₆H₂-4-OH-2,6(OPtBu₂)₂}]·**2Tbu.Cl** y [PdCl{C₆H₂-4-OH-2,6-(OPiPr₂)₂}]·**3Iso.Cl**. La afinidad de los analitos hacia los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** fue estudiada a través de titulaciones de absorción UV-Vis y de emisión fluorescente utilizando sales de tetrabutilamonio de los siguientes aniones: Cl⁻, Br⁻, I⁻, AcO⁻, H₂PO₄⁻, CN⁻, F⁻, OH⁻, NO₃⁻, HSO₄⁻ en CH₃CN y tioles biológicos como: cisteína, glutatión, homocisteína y N-Acetyl cisteína, en un medio acuoso micelar, pH=7.4.

Los estudios en CH₃CN mostraron que el complejo **2Tbu.Cl** puede funcionar como quimiosensor cromogénico a CN⁻ con una afinidad de $K_a = 5.01 \times 10^5 \pm 0.03 \text{ M}^{-1}$. La adición de cianuro produce un cambio drástico de color de transparente a naranja intenso, atribuido a la coordinación del anión CN⁻ al centro metálico de paladio (II), formando un complejo estable con pronunciada selectividad sobre aniones, tales como yoduro, fosfato, acetato, y bromuro. Las estructuras cristalinas de **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** soportan el mecanismo de intercambio de cloruro por cianuro con el cambio de color.

Adicionalmente se realizaron estudios de reconocimiento molecular de tioles biológicos con **2Tbu.Cl** en medio acuoso micelar pH=7.4. El complejo **2Tbu.Cl** presentó un incremento drástico de su emisión fluorescente verde con los tioles, resultando una mayor afinidad a glutatión y cisteína con constantes de asociación de 2.75×10^4 y $1.80 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

El diseño y síntesis de quimiosensores ópticos para aniones y tioles biológicos es un área muy activa dentro de la química supramolecular analítica debido a las importantes funciones que tienen estas especies en procesos biológicos, ambientales e industriales¹.

Este trabajo de investigación se centra en dos nuevos sistemas de quimiosensores ópticos basados en una sal tetracatiónica de triflato de porfirina **1.OTf**, y dos complejos tipo pinza POCOP de Pd (II) **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**.

La información de esta tesis se ordena mediante cinco capítulos: Marco Teórico, Antecedentes, Desarrollo Experimental, Resultados y Discusión del quimiosensor **1.OTf** (porfirina catiónica), Resultados y Discusión de los quimiosensores **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**. (complejos tipo pinza POCOP de Pd (II)) y Conclusiones. Finalmente se muestra un artículo derivado del trabajo de porfirina en la revista *Sensors and Actuators: Chemical B*.

En el Marco Teórico se expone el fundamento químico en el que se basa este trabajo, desde los conceptos de Química Supramolecular Analítica y reconocimiento molecular de aniones. Los Antecedentes recopilan y describen los quimiosensores para aniones basados en compuestos de porfirinas y complejos de coordinación tipo pinza; así como complejos de coordinación para tioles biológicos. El Desarrollo Experimental detalla la metodología llevada a cabo: síntesis, caracterización estructural espectroscópica, cristalización y reconocimiento molecular del quimiosensor **1.OTf**; así como el reconocimiento molecular en solución de los quimiosensores **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**. En el capítulo de Análisis y Discusión de Resultado del quimiosensor **1.OTf**, se expone la información obtenida del reconocimiento molecular con aniones en medio acuoso pH=7.4 por absorción UV-Vis y emisión fluorescente como las constantes de asociación (K_a) y de Stern Volmer (K_{sv}), los cambios ópticos y la selectividad hacia yoduro, además de análisis en estado sólido. En el capítulo de Análisis y Discusión de Resultado de los quimiosensores organometálicos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**, se reporta la detección de F^- y CN^- con diferentes respuestas ópticas por absorción UV-Vis y selectividad sobre los otros aniones en estudio. Asimismo se analiza en estado sólido ambos quimiosensores acomplejados con CN^- . También se abordan los resultados del reconocimiento molecular con tioles biológicos.

Finalmente se presentan las Conclusiones de este proyecto de investigación.

Capítulo 1 Marco Teórico

1. Química supramolecular analítica

Gran parte de los estudios en el campo de la química supramolecular en la última década se han enfocado en el desarrollo de receptores sintéticos con el objetivo de mimetizar receptores biológicos y estudiar la asociación de las moléculas basada en el reconocimiento molecular. La combinación de las ciencias analíticas espectroscópicas con el creciente y constante desarrollo de nuevos receptores artificiales ha permitido la generación de nuevos sistemas de quimiosensores moleculares eficientes y selectivos. Los sensores moleculares son indicadores químicos cromogénicos o luminiscentes capaces de identificar, detectar y cuantificar una gran variedad de analitos por cambio de sus propiedades ópticas, principalmente absorción o emisión fluorescente. Su diseño está basado en los principios de reconocimiento molecular y autoensamble. Es considerable remarcar que a pesar de ser una rama reciente de la química estos procesos de reconocimiento molecular basados en interacciones intermoleculares reversibles son tan antiguos como la vida ya que son los mecanismos bioquímicos de replicación del ADN, síntesis de proteínas, transporte de oxígeno o funcionamiento de los sistemas antígeno-anticuerpo o reconocimiento selectivo de enzima-sustrato.² Algunas definiciones de la química supramolecular son:

“Es la química de los enlaces intermoleculares, que involucra las funciones y estructuras de las entidades formadas por la asociación de dos o más especies químicas”. J. M. Lehn

“En contraste a la química molecular, la cual predominantemente se basa en enlaces covalentes de los átomos, la química supramolecular se basa en interacciones intermoleculares en la asociación de dos o más bloques de construcción, los cuales son enlazados por enlaces intermoleculares.”³

Las interacciones moleculares o interacciones no covalentes son la base esencial de un sistema supramolecular, ya que mantiene unidas a las moléculas o especies por las que se conforma.

1.1. Reconocimiento molecular

El término de reconocimiento molecular se refiere a la interacción específica entre dos o más moléculas a través de la unión no covalente, siguiendo los principios de complementariedad molecular. En este contexto general, consideramos que una molécula "anfitrión" que se une a otra molécula "huésped" puede producir un complejo "anfitrión-huésped". Comúnmente el anfitrión es una molécula grande o un agregado tal como una enzima o un compuesto cíclico sintético que posee un agujero o cavidad central de tamaño considerable. El huésped puede ser un catión monoatómico,

un simple anión inorgánico, un par iónico o una molécula más sofisticada tal como una hormona, neurotransmisor o feromona. Más formalmente, el anfitrión es definido como la entidad molecular que posee sitios de unión convergentes (átomos donadores bases de Lewis, donadores de enlaces de hidrógeno, etc.). El huésped posee sitios de unión divergentes (sitios esféricos, cationes metálicos ácidos de Lewis o un anión halogenuro aceptor de enlace de hidrógeno). A su vez un sitio de unión es definido como la región del anfitrión o del huésped capaz de participar en una interacción no covalente.³

2. Quimiosensores

En la Química Supramolecular Analítica los anfitriones (quimiosensores), son moléculas o ensamblajes que responden a un cambio físico o químico tras su interacción con un analito y producen una señal potencial que es una medida de su sensibilidad. Los quimiosensores generalmente consisten en dos componentes: la unidad de unión y la unidad de señalización. La unidad de unión interactúa con el analito por medio de interacciones no covalentes como las fuerzas de van der Waals, enlaces de hidrógeno, enlaces de coordinación, etc. y conduce a cambios en el entorno electrónico, que pueden ser observables como el color. Estas variaciones provocan modificaciones en las propiedades del componente de señalización. Los cambios en las propiedades del quimiosensor se pueden evaluar utilizando diferentes instrumentos como un espectrofotómetro de absorción UV-Vis, espectrofotómetro de fluorescencia o voltametría cíclica para la detección cromogénica, fluorescente o electroquímica de analito, respectivamente.⁴(Fig. 1.1)

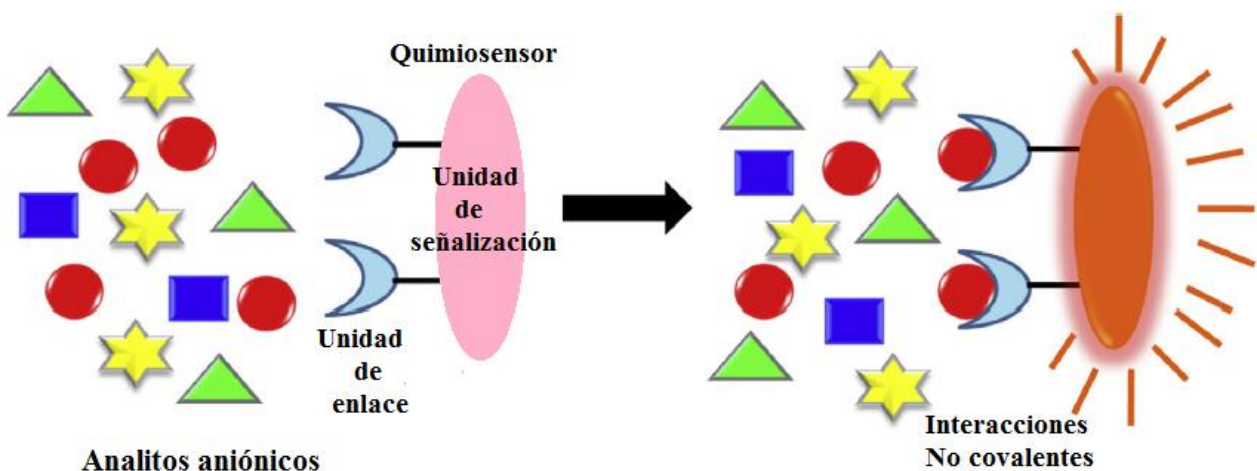


Fig. 1.1 Representación esquemática de un Quimiosensor.⁴

2.1.Requisitos de un quimiosensor

El diseño de un quimiosensor debe incluir aspectos como: alta selectividad hacia el analito incluso en presencia de otros analitos interferentes y competidores. La selectividad de un quimiosensor generalmente está influenciada por las moléculas de disolvente circundantes, el tamaño y la complementariedad estructural y la fuerza de unión. Otra propiedad deseable para un quimiosensor eficiente es su sensibilidad, es decir, la capacidad de detectar incluso pequeños cambios en la concentración del analito. Deben tener constantes de asociación apropiadas que se rijan por la fuerza de las interacciones no covalentes. Además, deben mostrar una respuesta rápida y tener un límite de detección bajo para aplicaciones en tiempo real. La biocompatibilidad y la solubilidad en agua de un quimiosensor facilitan aún más su aplicación en muestras biológicas y ambientales.⁵

Un estudio detallado y cuidadoso relacionado con la caracterización fisicoquímica de la unión del huésped es la clave para el desarrollo de receptores quimiosensores.⁶

2.2.Tipos de quimiosensores

Los quimiosensores se pueden clasificar en dos tipos, de acuerdo a su unidad de señalización (ópticos) y a su diseño molecular.

Quimiosensores ópticos

Los quimiosensores ópticos son cromóforos y/o fluoróforos con sitios de unión específicos que tienen como características: alta sensibilidad, rapidez en su respuesta analítica, eficiencia y simplicidad.⁷

Los quimiosensores cromogénicos cambian de color luego de asociarse con el analito, por lo tanto, están basados en el cambio de sus propiedades ópticas dentro del intervalo visible del espectro. Su principal ventaja es que elimina el uso del equipo analítico costoso, pues no precisa de un procesamiento electrónico de la señal. Aun así, el procesamiento de la señal lumínica con un equipo espectrofotométrico UV-Vis es útil para obtener datos más precisos y fiables, que no dependa de la subjetividad del operario. En este tipo de sensores, las bandas del espectro de absorción del quimiosensor pueden sufrir desplazamiento batocrómico (a longitudes de onda más largas) o hipsocrómico (a longitudes de onda más cortas) como consecuencia del aumento o disminución de la densidad electrónica en la unidad cromófora, con el consiguiente cambio de color del complejo quimiosensor-analito formado, con respecto al del receptor libre.

Los quimiosensores fluorescentes son indiscutiblemente los sistemas más eficientes en términos de su alta selectividad, límite de detección bajo, respuesta rápida, detección *in situ* y facilidad de operación hacia analitos incluso a bajas concentraciones.⁸ Son aquellos que interactúan con el analito, señalizando su presencia mediante el cambio de sus propiedades fluorescentes tales como la longitud de onda de emisión, la intensidad de la emisión, o la aparición de una nueva banda de emisión. (Fig. 1.2)

La intensidad de fluorescencia F puede medirse dadas las longitudes de onda de excitación y emisión (por lo general, en los máximos de emisión). Su dependencia con la longitud de onda de emisión, $F(\lambda_{em})$ da el espectro de emisión de fluorescencia. Si esta intensidad se mide sobre la longitud de onda de excitación, se puede obtener el espectro de excitación de fluorescencia $F(\lambda_{ex})$. Estos y otros parámetros pueden ser utilizados para informar sobre las interacciones del quimiosensor en estudio, y existen una gran variedad de posibilidades para su empleo en construcción de quimiosensores.

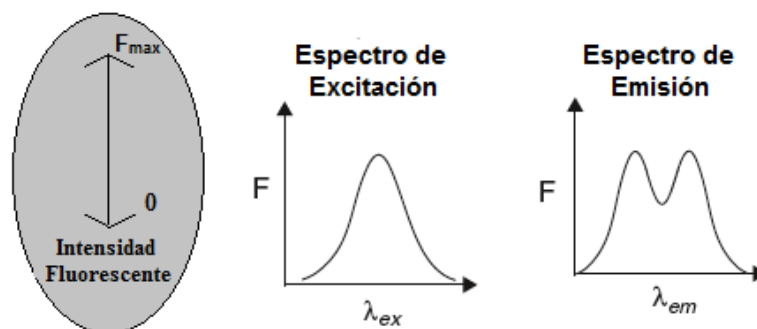


Fig. 1.2 La intensidad de fluorescencia F medida a longitudes de onda particulares de excitación (λ_{ex}) y emisión (λ_{em}). La F se mide en unidades relativas.

Simultáneamente, el empleo de análisis de estructuras cristalinas de rayos X y estudios en resonancia magnética nuclear (RMN) es de suma importancia para la determinación de las modificaciones estructurales en los mecanismos de unión quimiosensor-analito.

Quimiosensores por su diseño molecular

Revisando la literatura, podemos catalogar a los quimiosensores por su diseño molecular en dos conjuntos: intrínsecos-conjugados y ensamblados. En este trabajo se estudiaron quimiosensores intrínsecos y conjugados, así que a continuación se enfoca en estos.

Los sensores intrínsecos se basan en una sola molécula, el sitio de unión es la misma unidad de señalización (fluoróforo y/o cromóforo) generalmente presentan un sitio de unión al analito. Si la unidad de señalización se separa de la de unión a través de un conector covalente corto, se trata de quimiosensores conjugados. Los "quimidosímetros" son otro tipo de sensores intrínsecos. En este caso, no hay formación del complejo supramolecular quimiosensor-anión, sino que el anión reacciona con el sensor para crear una molécula nueva con diferentes propiedades ópticas (Fig.1.3).⁹

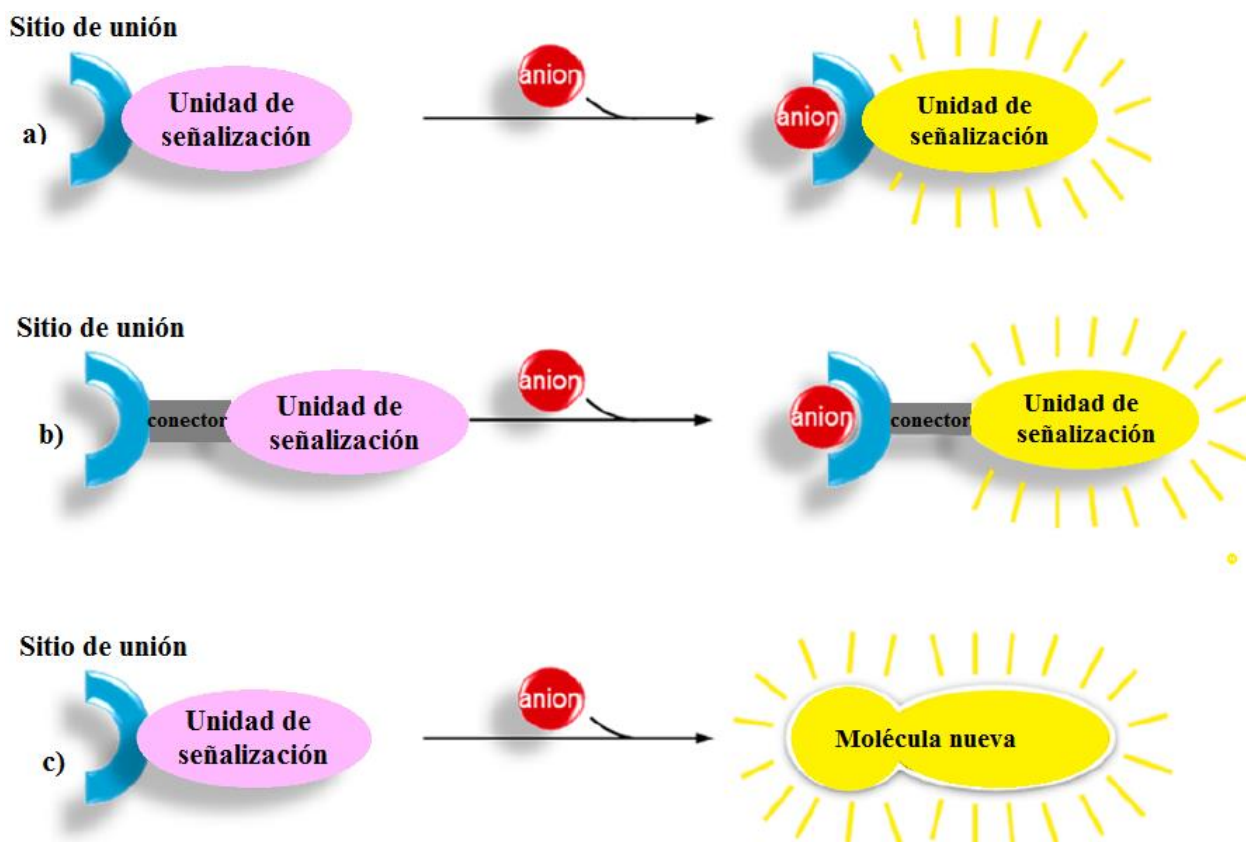


Fig. 1.3 Descripción esquemática de los quimiosensores intrínsecos **a)**, conjugados **b)**, y quimidosímetros **c)**, basados en una sola molécula. Todos los sensores se muestran como sensores fluorescentes de "switch on" (encendido fluorescente), pero también son posibles los sensores "switch off" (apagado fluorescente) y los sensores colorimétricos.¹⁰

3. Reconocimiento molecular de aniones

El campo del reconocimiento y detección de aniones por receptores moleculares sintéticos se ha convertido en una de las áreas más importantes de la química supramolecular debido al importante papel que juegan los aniones en numerosos procesos biológicos y ambientales.¹¹

La Química de Coordinación de Aniones, es un concepto propuesto por primera vez por Lehn en 1978. El reconocimiento químico de los aniones ha progresado a pasos agigantados en los últimos

veinte años, tiempo durante el cual se ha desarrollado una gran variedad de receptores y sensores selectivos.¹² Sin embargo, en comparación con los metales, el desarrollo de la coordinación de aniones fue relativamente lento al principio, lo que no es sorprendente cuando se consideran las propiedades intrínsecas de los aniones.¹³

A medida que el campo de la química de coordinación de aniones continúa desarrollándose, se está viendo un cambio desde los sistemas que funcionan solo en condiciones de laboratorio (por ejemplo, receptores de aniones basados en enlaces de hidrógeno que funcionan solo en solventes orgánicos) a nuevos receptores de aniones que emplean una variedad de interacciones para funcionar en condiciones reales (acuosas y fisiológicas). Esta área de la química supramolecular tiene una serie de aplicaciones como la organocatálisis y la separación de mezclas de aniones en desechos industriales o radiactivos. La química de receptores de aniones también puede ser útil en el tratamiento futuro de enfermedades, como la fibrosis quística, causadas por problemas con el transporte de cloruro a través de canales iónicos defectuosos en las membranas de las células epiteliales. Un enfoque propuesto para abordar esto es la "terapia de reemplazo de canales", en la que moléculas pequeñas facilitan el transporte de cloruro; actualmente se está dedicando un esfuerzo significativo en esta área. Estos avances destacan la naturaleza interdisciplinaria de esta área de la química supramolecular con progresos en las ciencias de los materiales y la biología.¹⁴

3.1. Receptores de aniones

La Química de Receptores de Aniones se refiere al diseño de moléculas que reconocen, responden o perciben especies que tienen carga negativa.

Hasta la fecha se han reportado receptores para aniones basados en receptores bicíclicos protonados, jaulas de grupos amonio cuaternarios, poliaminas cíclicas o bicíclicas, criptandos, receptores basados en guanidinio, ciclopéptidos. Sin embargo, otra estrategia exitosa para el reconocimiento de aniones en agua implica el uso de interacciones de coordinación con metales combinadas con interacciones electrónicas y/o de enlace de hidrógeno.¹⁵

Por lo general, las características de coordinación de aniones, como "número de coordinación" y "geometría", es bastante similar a la coordinación de metales de transición, aunque no están tan bien definidas como las últimas. Estos conceptos se han utilizado para clasificar las estructuras de los complejos aniónicos. Sin embargo, en contraste con los metales de transición, el par libre de electrones se dona del anión rico en electrones a un átomo de hidrógeno en el ligante o al metal

iónico (ácidos de Lewis) en el caso de la coordinación de aniones (Fig. 1.4), y la "coordinación" aquí se refiere a interacciones no covalentes (principalmente enlaces de hidrógeno).¹³



Fig. 1.4. Comparación del enlace covalente de coordinación en metales de transición y la coordinación de aniones por enlaces de hidrógeno.¹⁶

3.2.Desafíos y retos en la detección de aniones

A pesar del enorme progreso logrado en este campo, el reconocimiento selectivo de aniones sigue siendo un verdadero desafío, especialmente en agua y medios biológicos-fisiológicos debido a las características intrínsecas de los aniones. Los aniones tienen una carga más difusa en comparación con los cationes isoelectrónicos correspondientes, una gran variedad de geometrías, mayor dependencia del pH, y están fuertemente solvatados por disolventes polares.¹¹

Características de los aniones

El diseño de los receptores de aniones es todo un reto y hay un gran número de razones para esto. Los aniones son más grandes que los cationes isoelectrónicos (Tabla 1.1) y, por lo tanto, tienen una relación carga/radio menor, lo que hace que sus interacciones electrostáticas con un receptor de carga opuesta sean más débiles.¹⁷

Tabla 1.1 Comparación de los radios r de cationes y aniones isoelectrónicos en ambientes octaédricos.¹⁷

Catión	r (Å)	Anión	r (Å)
Na ⁺	1.16	F ⁻	1.19
K ⁺	1.52	Cl ⁻	1.67
Rb ⁺	1.66	Br ⁻	1.82
Cs ⁺	1.81	I ⁻	2.06

Además, los aniones tienen una amplia gama de geometrías (Fig. 1.5) desde esférica (F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻), lineal (SCN⁻ y N₃⁻), plana (NO₃⁻ trigonal y PtCl₄²⁺ cuadrada), tetraédrica (SO₄²⁻ y PO₄³⁻), octaédrica (PF₆⁻ y Fe(CN)₆⁴⁻) y algunas más complicadas, como los oligofosfatos biológicamente importantes.¹³

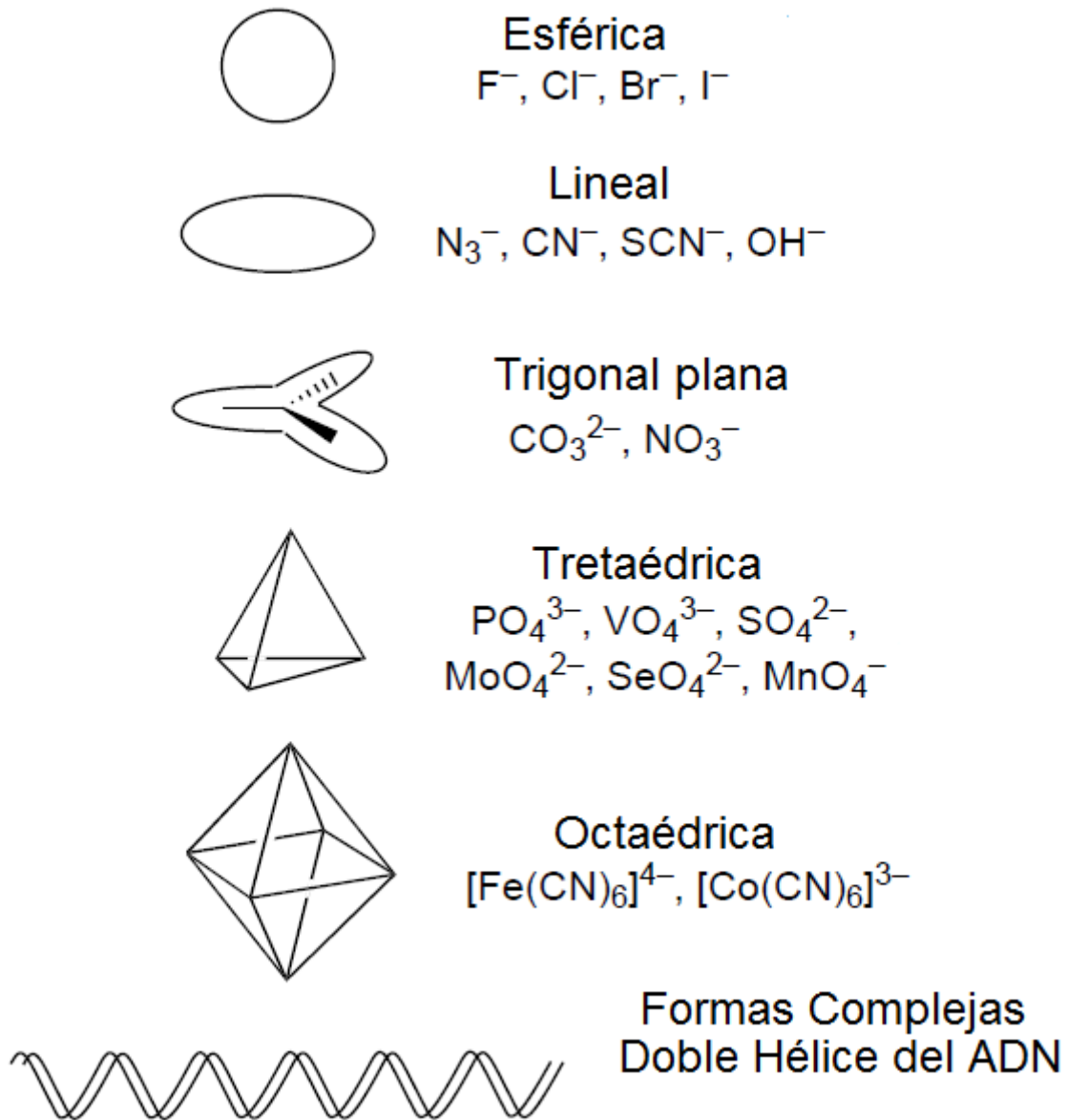


Fig. 1.5. Geometrías de diversos aniones.¹⁷

pH

Otra desventaja es que muchos aniones existen solo en una ventana de pH relativamente estrecha y pueden protonarse a valores de pH bajos (perdiendo su carga negativa), por lo tanto los receptores deben funcionar dentro de ese rango de pH.¹³

Efectos de disolvente

Los efectos de solvatación también juegan un papel crucial en el control de la fuerza de unión al anión y la selectividad. Por lo tanto, un posible receptor de aniones debe competir eficazmente con el entorno disolvente en el que tiene lugar el evento de reconocimiento de aniones. Por ejemplo, un

receptor neutro que une aniones únicamente a través de interacciones ion-dipolo solo puede formar el complejo anión-receptor en solventes orgánicos apróticos, mientras que un receptor cargado tiene la capacidad de unir aniones altamente solvatados (hidratados) en medios próticos. No es casualidad que los sistemas de receptores de aniones biológicos estén optimizados para operar en un rango muy específico de entornos donde la fuente de selectividad para el anión es la diferencia en la energía libre perdida al deshidratar el anión y la obtenida por la interacción del anión con el sitio de unión.¹⁷

La hidrofobicidad también puede influir en la selectividad del receptor. La serie Hofmeister (Fig. 1.6), que se estableció por primera vez a través de estudios sobre el efecto de las sales en la solubilidad de las proteínas, ordena los aniones por su hidrofobicidad (y, por lo tanto, el grado de solvatación acuosa). Los aniones hidrófobos generalmente se unen más fuertemente a los sitios de unión hidrófobos.

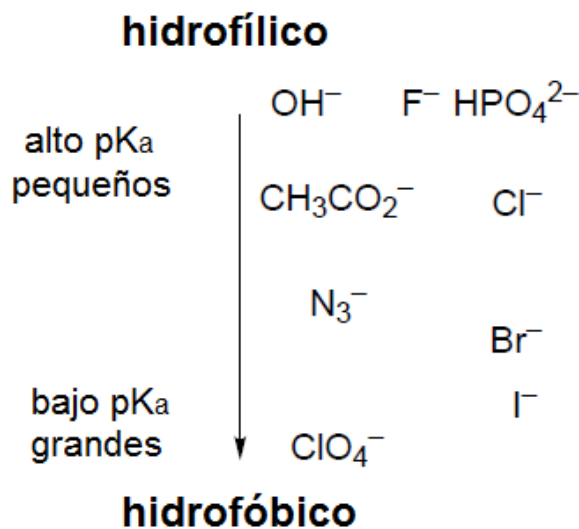


Fig. 1.6 Serie de aniones hidrófilos / hidrófobos.

Detección de aniones en agua

El reconocimiento de aniones en agua sigue siendo un desafío clave en la química supramolecular moderna, y es esencial si se quieren lograr aplicaciones propuestas en ámbitos biológicos, médicos y ambientales que requieren condiciones acuosas. Sin embargo, en los últimos años se ha logrado un cambio significativo hacia la realización rutinaria del reconocimiento de aniones en agua, con un enfoque particular en el control y uso del efecto hidrofóbico, así como en interacciones exóticas como enlaces de hidrógeno C-H y enlaces de halógeno.¹²

El reconocimiento de aniones en agua requiere suficiente energía libre de unión para superar las altas energías de hidratación de los aniones en el agua (Tabla 1.2). En la naturaleza, la unión del

anión se logra a través de múltiples interacciones de enlace de hidrógeno a un sitio bien definido dentro de una cavidad proteica, en la que los enlaces de hidrógeno dirigidos complementan la forma del anión objetivo. La afinidad del anión se ve facilitada por el entorno hidrofóbico proporcionado por la proteína, minimizando la energía de solvatación del receptor. Las interacciones de enlace de hidrógeno por sí solas generalmente no son suficientes para desplazar las moléculas de agua que rodean a un anión. Por lo tanto, la mayoría de los receptores sintéticos que dependen de las interacciones de enlace de hidrógeno para unirse al anión están condenados para su uso en medios apróticos, donde las energías de solvatación del anión son mucho más bajas. Se requieren fuertes interacciones electrostáticas o metal-ligando para superar la energía de hidratación del anión y permitir la unión en medios acuosos.¹⁸

Tabla 1.2 Energías libres de hidratación ($-\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$)^a y tamaños (Å)^b de aniones comunes

Anión	Radio (Å)	$-\Delta G_{\text{hyd}}^{\circ}$ (kJ/mol)
F ⁻	1.26	465
Cl ⁻	1.72	340
Br ⁻	1.88	315
I ⁻	2.10	275
S ²⁻	1.91	1315
SH ⁻	2.07	295
OH ⁻	1.33	430
CN ⁻	1.91	295
NO ₃ ⁻	1.96	300
HCO ₃ ⁻	1.56	335
CO ₃ ²⁻	1.78	1315
CH ₃ CH ₂ COO ⁻	1.62	365
H ₂ PO ₄ ⁻	2.00	465
PO ₃ ³⁻	2.38	2765
SO ₄ ²⁻	2.30	1080
ClO ₄ ⁻	2.40	205

^a Para la transferencia del ion en fase gaseosa a una solución acuosa a 298 K. ^b Basado en un análisis de energía de red; los valores se encuentran dentro del 5% de los radios iónicos cristalográficos.¹⁸

Para los análisis directos, los perfiles de afinidad y selectividad están determinados por la naturaleza del medio.

Se pueden distinguir dos enfoques distintos para la unión de aniones en solución acuosa. El primero implica diseñar un sitio de unión hidrófobo en un receptor, basado en la complementariedad de la carga y la forma, emulando los sitios de unión encontrados en las proteínas. El segundo enfoque une el anión a un centro metálico, desplazando una molécula de agua coordinada o un ligante débilmente unido. Los iones metálicos presentan preferencias geométricas de unión asociadas con geometrías de coordinación favorecidas, dando direccionalidad a las interacciones de unión metal-anion.¹⁸

Kubik clasifica a los receptores en tres categorías considerando la unión del anión en agua o mezclas de solventes acuosos:¹⁹

- Los que toleran una pequeña cantidad de agua en la mezcla de disolventes (<30%) porque contienen donadores de enlaces de hidrógeno bien organizados alrededor de una cavidad.
- Los que requieren un disolvente orgánico en la mezcla acuosa para los estudios de unión, a veces solo porque el receptor no es soluble en agua al 100%, pero el contenido de agua es del >30%.
- Y aquellos que interactúan eficientemente con los aniones en el agua. Los receptores de esta última categoría son en su mayoría los que dependen de fuerzas de Coulomb o interacciones coordinantes, pero también en estos casos las interacciones más débiles, como los enlaces de hidrógeno, pueden tener una influencia decisiva en la afinidad y/o selectividad del receptor.

El diseño de anfitriones selectivos para aniones requiere que se tenga en cuenta la geometría, la basicidad del anión y la naturaleza del medio disolvente. La complementariedad entre el receptor y el anión es claramente crucial para determinar las selectividades a través de interacciones no covalentes como interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, hidrofobicidad, coordinación a un ion metálico y sus combinaciones. A continuación se dan ejemplos de quimiosensores para aniones basados en la estructura química de la porfirina así como de complejos de coordinación tipo pinza. Adicionalmente se citan quimiosensores para tioles biológicos.

Capítulo 2 Antecedentes

Este capítulo se divide en tres secciones:

- Quimiosensores para aniones basados en porfirinas: se abordan las propiedades químicas, electrónicas y fotofísicas de las porfirinas y ejemplos de quimiosensores para aniones basados en su estructura química.
- Quimiosensores para aniones basados en complejos de coordinación tipo pinza: se expone el fundamento del mecanismo de detección de estos complejos con aniones y se dan ejemplos.
- Quimiosensores para tioles biológicos: se exponen ejemplos de quimiosensores orgánicos y de coordinación para tioles biológicos.

1. Quimiosensores para aniones basados en porfirinas

1.1. Propiedades generales de la porfirina

Las porfirinas son macrociclos orgánicos heterocíclicos, se componen de cuatro subunidades de pirrol interconectadas en sus átomos de carbono α a través de puentes de metino ($=CH-$). Esta estructura incluye dos nitrógenos pirrólicos (con hidrógenos) y dos nitrógenos pirrolidínicos en el centro del macrociclo que participan en el sistema electrónico macromolecular de resonancia. La porfirina tiene una estructura electrónica expandida de 18 electrones π , que satisface la regla de Hückel $4n+2$ de la aromaticidad.²⁰ Fig. 2.1.

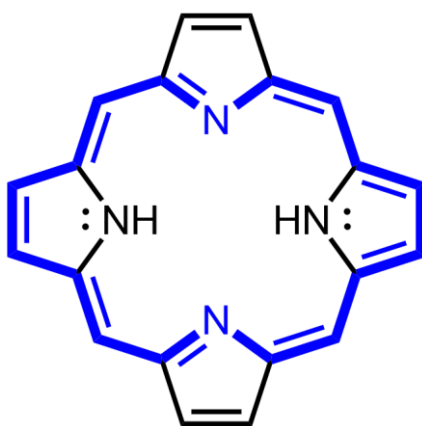


Fig. 2.1 Porfirina de base libre H_2P y su ciclo de 18 electrones π .

Debido a su conjugación π , las porfirinas son estables y exhiben propiedades fotofísicas excelentes. Su espectro de absorción UV-Vis consta de dos regiones; la región alrededor de 390-450nm, presenta una banda máxima denominada Soret, creada por las transiciones electrónicas de los orbitales HOMO a los LUMO, con coeficientes de extinción significativamente grandes; en la

segunda región alrededor de 480-600nm, aparecen las bandas Q de menor intensidad, formadas como resultado de las transiciones electrónicas prohibidas de los orbitales HOMO a los LUMO.²¹ Las transiciones mencionadas y su nomenclatura se detallarán en las propiedades fotofísicas del sensor de porfirina 1.OTf en el Capítulo 4. La intensidad relativa de la banda Soret depende de la concentración, pH, sustituyentes periféricos y grado de envejecimiento de sus soluciones. En cuanto a su espectro de emisión, exhibe dos bandas de gran intensidad en la región del rojo-infrarrojo,²² presenta estabilidad fotoquímica y buenos rendimientos cuánticos. En la Fig. 2.2 se presentan los espectros de absorción y emisión de la *meso*-tetrafenilporfirina (TPP).

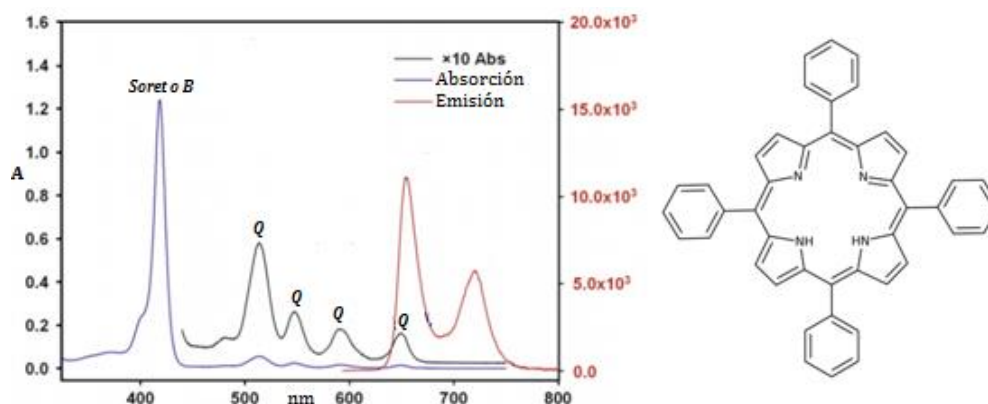
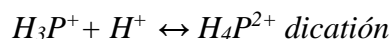
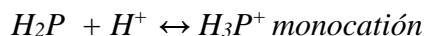
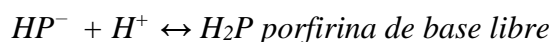


Fig. 2.2 Espectros de absorción (5 μ M) y emisión (0.5 μ M, λ_{ex} = 418 nm) de TPP en tolueno.²²

Las propiedades ácido-base representan un aspecto fundamental en la química de los tetra-pirroles. El estudio de éstas propiedades nos da información de la reactividad del macrociclo, la forma de la deslocalización de los electrones π (aromaticidad), la energía de resonancia, el tautomerismo N-N' y la estereoquímica del ciclo tetrapirrólico.

Las porfirinas solubles en agua pertenecen a los compuestos anfipróticos, que pueden presentar diferentes formas dependiendo del pH. A pH de 5-9 se observa la porfirina neutra denominada “de base libre” H_2P (especie no metalada). Esta puede ser desprotonada a su correspondiente monoanión (HP^-) y dianión (HP^{2-}), mientras que a pH menor de 5.5 los dos nitrógenos pirrolidínicos son protonados a sus formas monocatiónica (H_3P^+) y dicatiónica (H_4P^{2+}), de acuerdo a las siguientes reacciones:²³



La región de las bandas Q en el espectro de absorción UV-Vis de la especie dicatión H_4P^{2+} consiste en sólo dos bandas debido a su alta simetría (D_{4h}). En contraste la forma en base libre H_2P , es menos simétrica (D_{2h}) y consta de 4 bandas Q. De esta forma, las bandas Q pueden indicar si el núcleo de la porfirina está coordinado a un centro metálico o está en su base libre. ²⁴

Los cuatro nitrógenos del núcleo del tetrapirrol, permiten a las porfirinas actuar como ligantes con una fuerza divalente y tetradentados, lo que permite la formación de complejos metálicos porfirínicos, con prácticamente todos los elementos metálicos de la tabla periódica. ²⁵ A diferencia de los complejos de metales de transición, la porfirina debe su color a las absorciones del ligante, involucrando la excitación de los electrones de los orbitales π al π^* del anillo porfirínico.

Las propiedades espectroscópicas específicas de los sistemas de porfirina, resultantes de su estructura y propiedades fisicoquímicas, así como el alto coeficiente de absorción molar son responsables de su intensa fluorescencia y absorción. Por lo tanto, los procesos mencionados anteriormente pueden monitorearse utilizando principalmente métodos espectrofotométricos. Los cambios que se producen en los espectros de absorción, excitación y emisión de compuestos de porfirina pueden analizarse tanto en soluciones acuosas y orgánicas, como en matrices de sílica y recubrimientos obtenidos por el método sol-gel. ²³

Teniendo en cuenta las propiedades excelentes espectroscópicas de los derivados de porfirina sintéticas, son herramientas poderosas para diversas aplicaciones, como la electrónica molecular, recolección de luz artificial, biomedicina y reconocimiento molecular; también sirven como bloques de construcción para el ensamblaje supramolecular. ²⁰

1.2. La porfirina como anfitrión en el reconocimiento molecular.

Se han desarrollado una serie de receptores moleculares de alta eficiencia para detectar una amplia gama de analitos importantes ambientales y biomédicos, incluidos iones metálicos, aniones, pequeñas moléculas orgánicas, ADN, ARN, proteínas e incluso células, bacterias y virus. Desde este punto de vista, es de gran interés actual el desarrollo de receptores con longitudes de onda de excitación/emisión en el infrarrojo cercano, excelente tolerancia a entornos de detección complejos, buenas estabildades y alta reproducibilidad. ²⁶

Las porfirinas ocupan un lugar único entre numerosos compuestos macro-heterocíclicos debido a la estructura geométrica y electrónica del ligante cromóforo porfirinoide, esto las hace moléculas atractivas cuyas cualidades fotofísicas únicas se explotan para estudios de reconocimiento y

detección molecular, ya que tienen funciones biológicamente importantes y ventajas desde el punto de vista químico (es decir, su fisicoquímica, síntesis orgánica y coordinación son bien entendidas). Además, su estructura rígida es ideal y útil para su diseño como anfitrión de unión preorganizado (que puede usarse para analizar interacciones de unión específicas). Asimismo, es un cromóforo fluorescente que puede detectar diversos analitos químicos debido al gran coeficiente de extinción y a sus propiedades de emisión.

Las características fisicoquímicas versátiles y estructurales de las porfirinas les proporcionan la funcionalización que las convierten en compuestos altamente sensibles para el diseño de sensores y receptores moleculares. Las porfirinas pueden reconocer iones positivos, negativos y moléculas neutras que se utilizan para analizar sustancias biológicamente activas, contaminantes ambientales, iones de metales pesados y explosivos. Como resultado de la interacción con el analito, la porfirina modifica su estructura y realiza un cambio en sus propiedades ópticas, fluorescentes o electrónicas.²⁷

De forma general, las porfirinas pueden proporcionar diferentes sitios de alojamiento para la unión del sustrato:

- (a) El sitio central hidrófobo “bolsillo de unión” formado por el propio macrociclo tetrapirrólico y sus sustituyentes periféricos no polares.
- (b) Si el núcleo tetrapirrólico se encuentra coordinado a un centro metálico, proporciona un sitio de unión tipo ácido de Lewis.
- (c) Sitios de reconocimiento electrostático provistos con los sustituyentes periféricos cargados o con el núcleo del macrociclo protonado/diprotonado.

Al mismo tiempo, el macrociclo porfirinoide puede servir como buen candidato para la transducción de la señal química primaria en señal analítica óptica. Tienen una luminiscencia bastante fuerte (fluorescencia y/o fosforescencia) que se puede sintonizar en el rango espectral apropiado por la modificación química de la molécula. El diseño del receptor molecular puede simplificarse en tal caso, ya que la misma molécula combina ambas funciones.²⁸

Así, desde la última década de los 90's, se han sintetizado una amplia variedad de porfirinas funcionalizadas para dilucidar el mecanismo subyacente del reconocimiento molecular de moléculas huéspedes inorgánicas (aniones, cationes) y orgánicas.²⁹

1.3. Estrategias generales para el diseño de sensores de porfirina para aniones

Las estrategias para el diseño de moléculas funcionales basadas en porfirina implican dos grandes enfoques, la conexión del enlace covalente usando química orgánica sintética y un enfoque supramolecular que utiliza interacciones reversibles no covalentes para construir una arquitectura. Cuando se apunta a una pequeña molécula huésped y se usa una estructura basada en porfirina, se pueden introducir grupos funcionales para mejorar y ajustar las capacidades del reconocimiento.

Debido a la diversidad estructural y las fuertes propiedades de absorción y emisión, los análogos de porfirina muestran ventajas inherentes para detectar especies aniónicas, basta con modular ciertas propiedades moleculares de las siguientes maneras:

- Las porfirinas se pueden funcionalizar tanto en las posiciones *meso* como en las posiciones β de las subunidades pirrónicas, con sustituyentes enlazados de manera apropiada que crean un “bolsillo” o “pinza” de unión, un ejemplo sería la introducción de motivos de enlace de hidrógeno para acomodar especies aniónicas y así modular su selectividad y sensibilidad. Esta conveniencia sintética brinda estructuras moleculares con propiedades de detección, mediante la disposición de una unidad de reconocimiento en el macrociclo, el resto de la porfirina puede actuar como la unidad informadora de los quimiosensores resultantes.³⁰
- El núcleo tetrapirrónico de las porfirinas puede coordinar varios iones metálicos, proporcionando complejos de coordinación de metales. Así, las metaloporfirinas obtenidas exhiben acidez de Lewis y por lo tanto, una fuerte afinidad de unión por el único par de electrones en las especies aniónicas.²⁰
- El ligando tetrapirrónico neutro libre de la porfirina no tiene poder de unión aniónico por sí mismo. Esto se debe a su rigidez y al pequeño tamaño de su cavidad que no forma complejos con los aniones a través de interacciones convergentes de enlace de hidrógeno N-H---anión. Sin embargo, las porfirinas pueden protonarse en los átomos de N internos imino considerándose como un gran ión catiónico para la detección de aniones, de ésta forma los restos NH pirrónicos están dispuestos adecuadamente para la unión de aniones a través de interacciones cooperativas de enlace de hidrógeno. No obstante, una forma más efectiva de desarrollar quimiosensores de aniones a base de porfirina es funcionalizarla con una unidad de reconocimiento de aniones.³¹
- La expansión de la cavidad de la porfirina, a través de la variación del tamaño del macrociclo, el uso múltiple de átomos de N pirrónicos o su reemplazo con otros heteroátomos

(O, S, Se, Te), para la coordinación selectiva de iones metálicos, conduce a la modificación de la afinidad hacia los aniones objetivo. Estos análogos se denominan porfirinas expandidas, pueden experimentar una emisión de fluorescencia a longitudes de onda superiores a 600 nm, incluso llegando a la región cercana al infrarrojo, lo que los hace más adecuados para aplicaciones que involucran muestras biológicas porque se puede evitar la emisión de autofluorescencia de los tejidos biológicos.³¹

Como se mencionó, la rica fotoquímica del cromóforo de porfirina se puede utilizar para detectar interacciones intermoleculares específicas. Están disponibles varias formas de espectroscopías moleculares que monitorean los cambios químicos asociados con el reconocimiento molecular, incluyendo resonancia magnética nuclear (RMN), absorción UV-Vis, infrarrojo (IR), espectroscopía Raman, resonancia de espín electrónico y dicroísmo circular (DC).

De este modo, el receptor funcionalizado libre se caracteriza por una propiedad espectral inicial. Al formarse el complejo con un anión, emite una señal espectral diferente. Este complejo anión-porfirina se caracteriza por una propiedad espectral final. Si la unión es reversible, el receptor puede liberar al anión unido y volver a su estado espectral inicial. Por lo tanto, realiza la función de un sensor espectral y también como un imitador de transporte. Cuando la complejación no es reversible, el receptor retiene al anión acomplejado.³²

Por consiguiente, las porfirinas son anfitriones muy atractivos para ser utilizados en estudios de detección y reconocimiento molecular de aniones.

A continuación, se describen ejemplos de sensores moleculares basados en porfirina para aniones reportados actualmente basados en las estrategias mencionadas.

1.4. Ejemplos de quimiosensores para aniones basados en porfirinas.

Kruk y colaboradores reportaron la formación de complejos de halogenuros con una porfirina diprotonada **1**, mediante enlaces de hidrógeno de los nitrógenos pirrólicos protonados $N^+-H\cdots X$ en un sistema de acetonitrilo con ácido perclórico 0.01M.

Dicha porfirina diprotonada (1.9×10^{-6} M), sustituida en todas sus posiciones β con grupos metilo y butilo, se tituló con sales de halogenuro, sus espectros de absorción UV-Vis mostraron la formación de puntos isobésticos y el desplazamiento batocrómico de sus bandas de absorción, evidenciando dos equilibrios; el primero se refiere a la formación del complejo porfirina-haluro con una relación estequiométrica 1:1 (K_1) y el segundo, al complejo con relación 1:2 (K_2). Las constantes de unión indican que la estabilidad de ambos complejos incrementa cuando el radio iónico del halogenuro disminuye: $1.20\times 10^3 < 2.46\times 10^3 < 2.51\times 10^5$ M^{-1} para K_1 y $1.07\times 10^3 < 1.23\times 10^3 < 2.01\times 10^5$ M^{-1} para K_2 (valores para la serie: I⁻, Br⁻, Cl⁻) Fig. 2.3. Estos resultados concuerdan con la relación entre el tamaño del halogenuro y las energías de interacción electrostráticas y de orbitales en la formación de los enlaces de hidrógeno en los complejos. La constante de unión baja con el I⁻ se debe a las fluctuaciones de la longitud del enlace de hidrógeno $H\cdots I$ en solución y a las desviaciones estructurales simétricas en el complejo.

Sin embargo, se presenta un fuerte apagamiento de la fluorescencia del receptor porfirínico tras la adición de I⁻, a través de la extinción estática-dinámica con una $K_{SV} = 277$ M^{-1} por la formación del complejo 1:2 no fluorescente. La K_{SV} resultó baja debido al fenómeno de agregación de las sales, que también condujo a la disminución de la sensibilidad en las mediciones.²⁸

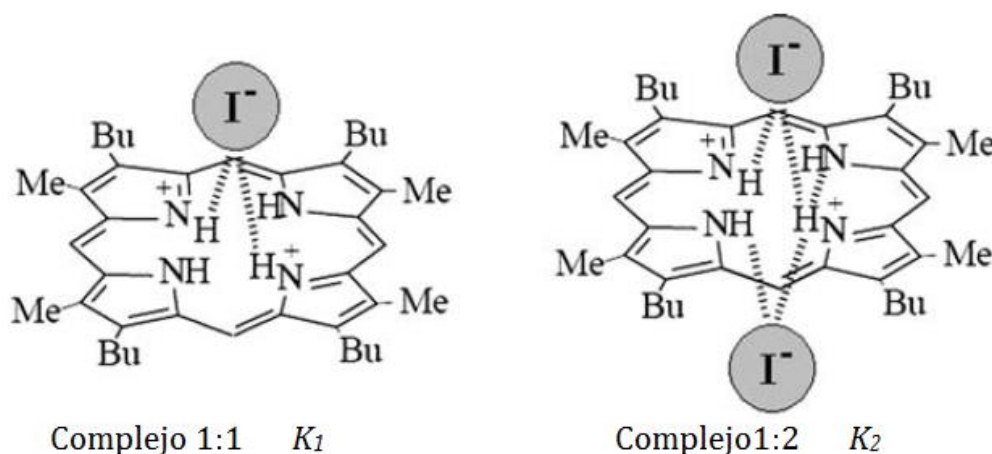


Fig. 2.3 Estructura esquemática de los complejos 1:1 y 1:2 de la porfirina **1** con iones I⁻.

En el año 2011, Jang y colaboradores reportaron una tetra-fenilporfina de Zn (II) **2**, que contenía cuatro grupos triazol en la posición *orto* de cada grupo fenilo, la cual usaron como receptor para iones halogenuro.

A través de estudios de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ se siguió la formación del complejo anfitrión-huésped: las señales de hidrógeno del triazol, bencilo y fenileno se desplazaron a campos altos tras la adición de los haluros en forma de sales de tetrabutilamonio. Dos diferentes fenómenos afectan a los hidrógenos de los triazoles tras la formación del complejo. En el primero, la densidad electrónica de los hidrógenos eventualmente disminuye cuando participan en los enlaces de hidrógeno; segundo, el efecto de la corriente electrónica del anillo de porfirina guía a la protección de dichos hidrógenos si se colocan directamente en el centro de la porfirina, los resultados de RMN ^1H indican que éste efecto es el que predomina. Esto implica que los hidrógenos de los triazoles en **2** están localizados muy cerca del anillo de la porfirina y están dirigidos hacia el bolsillo de unión mediante la formación de enlaces de hidrógeno sobre el anillo de la porfirina. De acuerdo al incremento del radio iónico, el desplazamiento a campo alto disminuye porque la distancia del centro de la porfirina al hidrógeno del triazol aumenta. Por otra parte, el receptor contiene un sitio ácido de Lewis de Zn^{2+} para enlazar el par de electrones libres de los haluros. Si la porfirina estuviera como base libre causaría repulsión electrónica y no recibiría huéspedes aniónicos. Los espectros de absorción UV-Vis en CH_2Cl_2 , mostraron que las bandas Soret y Q de **2** experimentan un fuerte desplazamiento batocrómico y formación de puntos isobésticos por la adición de halogenuros. Las constantes de unión obtenidas fueron de 10^8 , 1.79×10^7 y $1.84 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, para Cl^- , Br^- y I^- , respectivamente.

Concluyen que los efectos cooperativos de la coordinación axial y las interacciones de enlace de hidrógeno $\text{CH} \cdots \text{X}$ dan como resultado la fuerte de afinidad de **2** por los halogenuros.³³

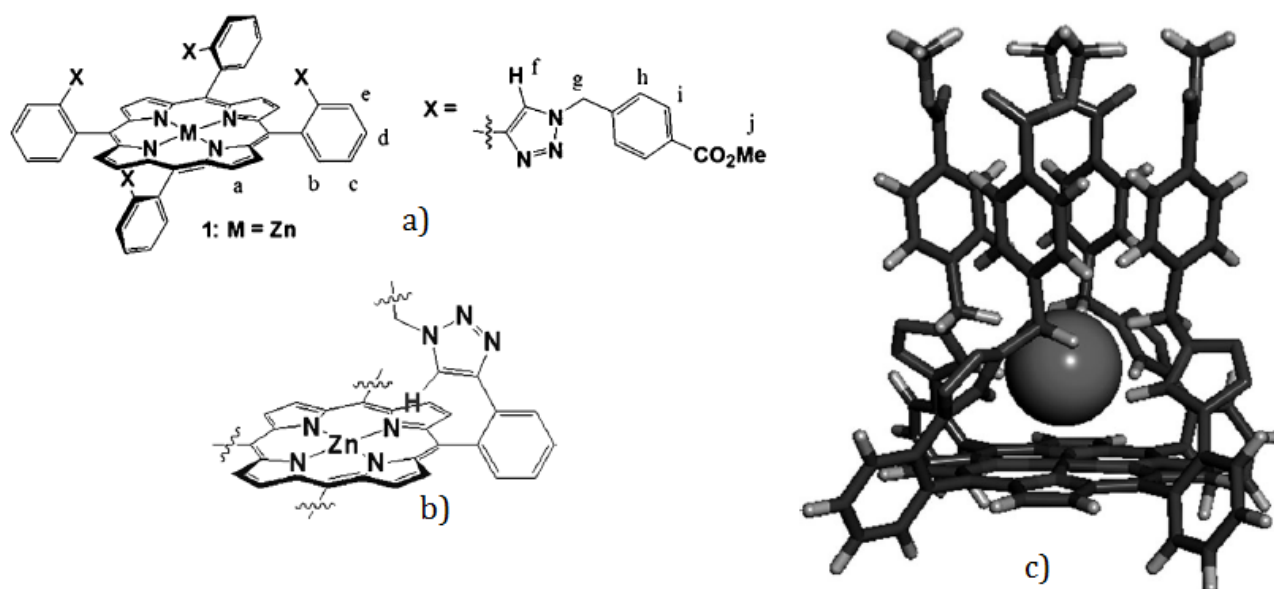


Fig. 2.4. a) Estructura química y b) simplificada del receptor **2**. c) Estructura molecular de energía minimizada del complejo **2-Cl**.

Lin y colaboradores, en el año 2017, sintetizaron tres derivados de porfirina unidas a tetraureas y las aplicaron como receptores de aniones.

Las cuatro ureas y el plano de la porfirina forman una “bolsa” adecuada para acomodar aniones. Se usó la titulación por calorimetría isotérmica (ITC) para los estudios de reconocimiento en CHCl_3 ; la estequiometría de unión resultó de 1:1, por la capacidad electroattractora de los sustituyentes sobre los fenilos de los receptores, el receptor **3** con grupos pentafluoruro exhibe una complejación más efectiva con los aniones, ya que entre más ácidos los grupos N-H de las ureas mejor habilidad de unión. Por lo tanto, las constantes de unión calculadas fueron de 1.1×10^8 , 6.6×10^7 , 4.3×10^7 , 5.6×10^6 y $3.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ para HSO_4^- , F^- , Cl^- , Br^- y I^- respectivamente.

La gran diferencia entre los valores de K_a (200 veces) de los complejos **3-F** y **3-I** implica su aplicación como sensor químico para F^- contra I^- .

La complejación de **3** con los aniones se confirmó por difracción de rayos X de monocristal, mediante la encapsulación y formación de enlaces de hidrógeno entre las unidades de urea y los aniones: en el cristal de **3-Cl**, dos moléculas de agua también fueron encapsuladas, así se formaron seis enlaces de hidrógeno para fijar al ion Cl^- entre los motivos de urea y dichas moléculas de agua.

Fig. 2.5.³⁴

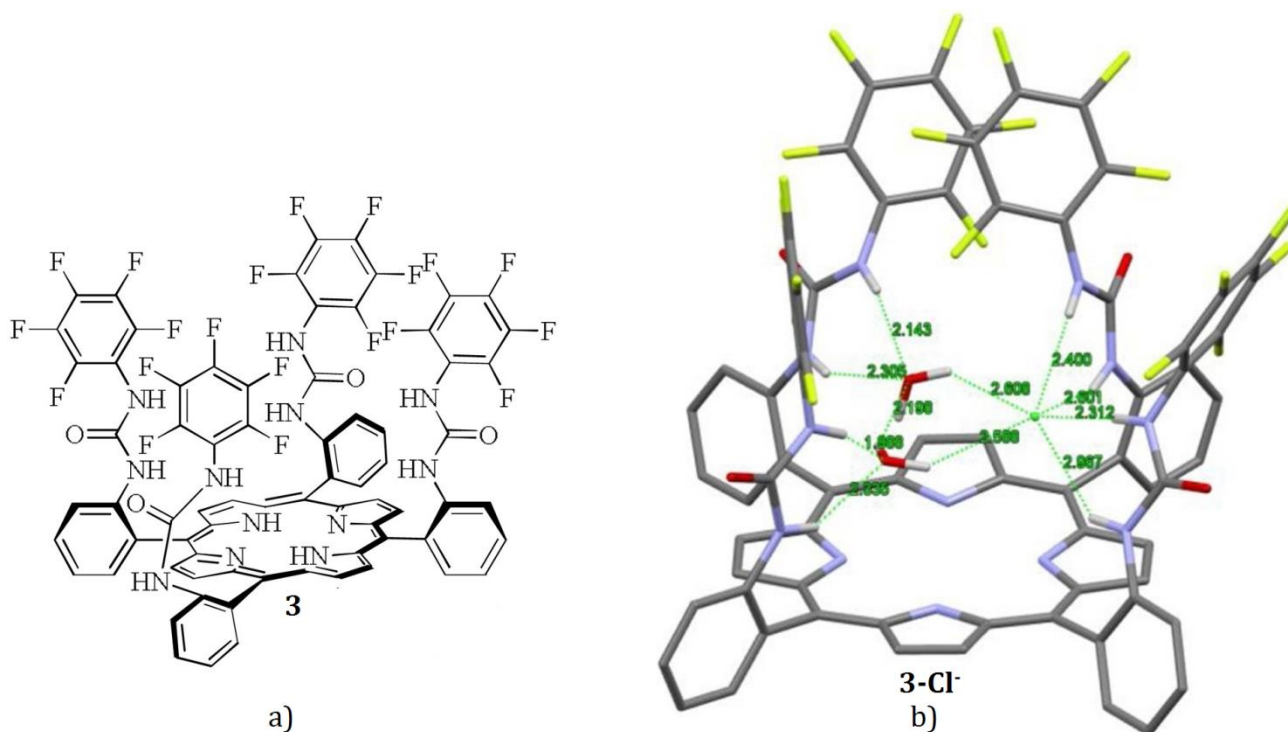


Fig. 2.5. a) Estructura química del receptor **3** y b) estructura de rayos X del complejo **3-Cl** que muestra la encapsulación del anión y su modo de unión por enlaces de hidrógeno.

Respecto a la funcionalización de porfirinas en sus posiciones β para el reconocimiento de aniones, Starness y su grupo de investigación reportaron un receptor de porfirina unida a β, β' -disulfonamidaquinoxalina **4**, su atributo distintivo es que el sitio de unión a los aniones se hace a través de policiclos conjugados unidos en dos posiciones β adyacentes de la porfirina. Fig. 2.6.

La asociación de **4** con los aniones se estudió por absorción UV-Vis en CH_2Cl_2 , tras la adición de aniones la banda Soret tuvo desplazamiento batocrómicos y se formaron puntos isobésticos.

Las constantes de unión para la estequiometría 1:1 resultaron de 255000, 70000, 4400, 960 y 470 M^{-1} para F^- , H_2PO_4^- , Cl^- , Br^- y I^- respectivamente. La tendencia de selectividad es paralela a la basicidad de los aniones. La interacción principal de unión consiste en enlaces de hidrógeno de los motivos N-H de la sulfonamida ácida hacia el anión.

Por medio de titulaciones de RMN de ^1H observaron que el desplazamiento a campo alto de los grupos tosilmetilo era más grande para el fluoruro que los otros aniones, por el incremento de la densidad electrónica en el receptor, pues éste actúa como ácido Lewis en su interacción con el huésped aniónico. Así se confirmó que **4** es más selectivo a fluoruro lo que también se soporta con los resultados de UV-Vis.³⁰

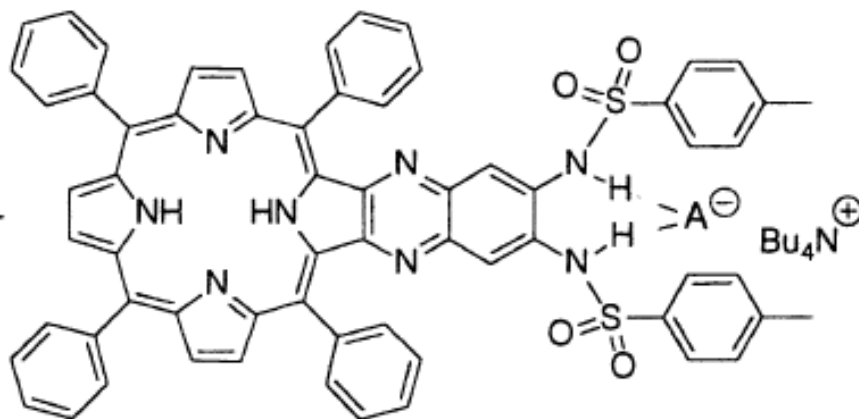


Fig. 2.6. Complejo del receptor **4**-anión

En relación a sensores de metaloporfirinas para aniones usando el centro metálico coordinado al núcleo tetrapirrólico, Sankar y colaboradores reportaron una metaloporfirina de cobalto (II) **5**, no planar deficientes de electrones, para la detección visual rápida de iones cianuro.

El reconocimiento de aniones se llevó a cabo en tolueno por absorción UV-Vis con la adición de los aniones en forma de sales de tetrabutilamonio. La banda Soret del receptor **5** mostró un desplazamiento batocrómico significativo con un cambio drástico de color por la adición de iones cianuro, mientras que con los otros aniones no se registraron dichos cambios. Fig. 2.7.

La constante de unión del complejo **5**-CN⁻ fue de 77624 M⁻¹ con relación estequiométrica 1:1.(Fig. 2.8)³⁵

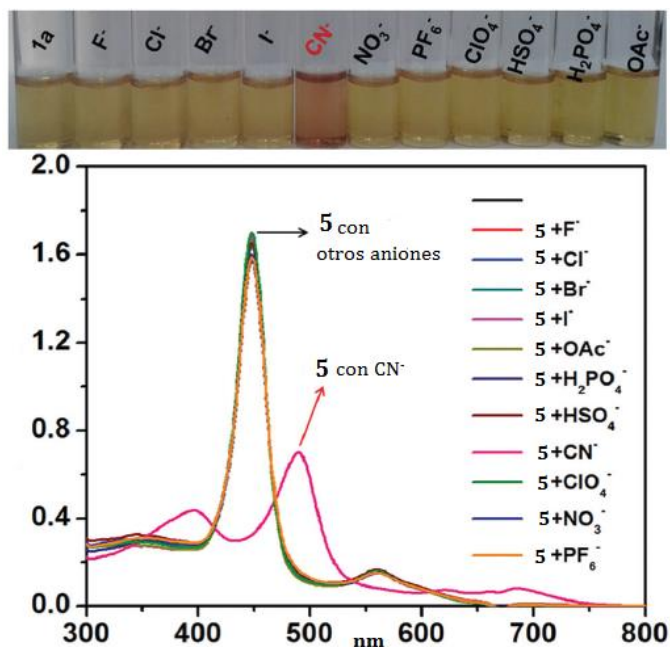


Fig. 2.7 Cambios de absorción UV-Vis y colorimétricos de **5** tras la adición de sales de TBA⁺ de los aniones en tolueno.

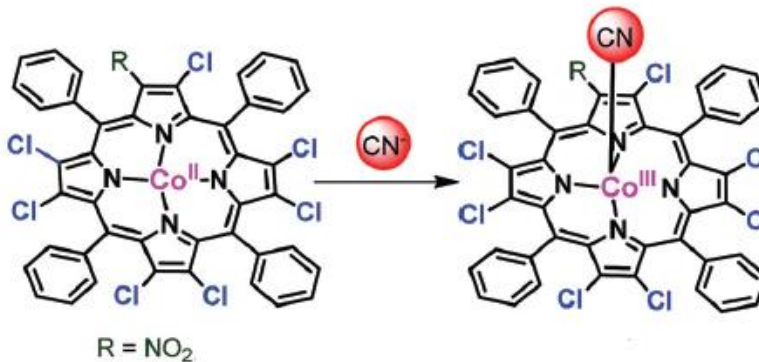


Fig. 2.8 Posible mecanismo de detección del ion cianuro.

Hay pocas investigaciones sobre la extinción de la emisión fluorescente de porfirinas por iones yoduro, uno de ellos realizado por Steer y colaboradores en el 2010, consistió en estudiar las propiedades fotofísicas dinámicas de la metaloporfirina soluble en agua tetra(4-sulfonato-fenil)porfirina de zinc (ZnTPPS⁴⁻), **6**. Tras la adición de iones yoduro a una solución acuosa de **6**, las bandas de absorción UV-Vis se ensancharon significativamente y se desplazaron ligeramente al rojo, pero no se observaron puntos isobásticos, dicho desplazamiento batocrómico es ligeramente más grande para la banda Soret que para las Q (dos bandas Q como consecuencia de la coordinación al zinc²⁺). Las bandas Q manifestaron un efecto hipercrómico.³⁶

Entre todos los haluros, sólo los iones yoduro ocasionaron un apagamiento significativo de la emisión fluorescente de ZnTPPS⁴⁻, concluyen que este anión es un potencial agente de transferencia electrónica. Estos estudios se llevaron a cabo en un medio de fuerza iónica constante (2.0-0 M NaCl).

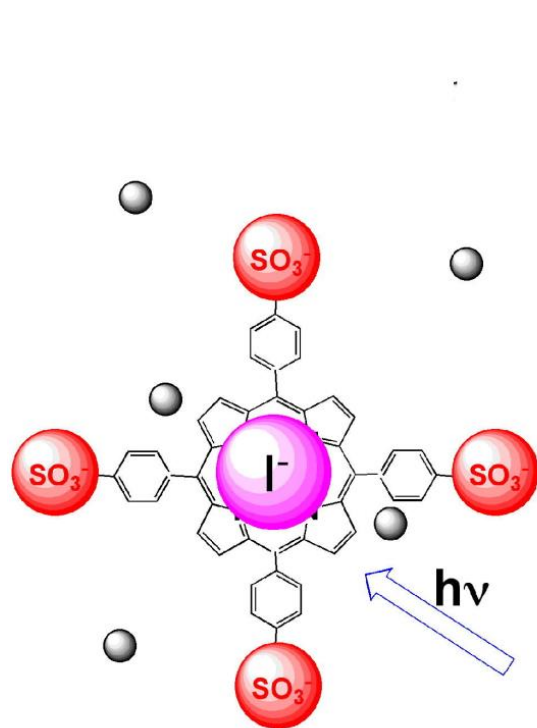


Fig. 2.9 Posible mecanismo de interacción del ion yoduro con ZnTPPS⁴⁻.

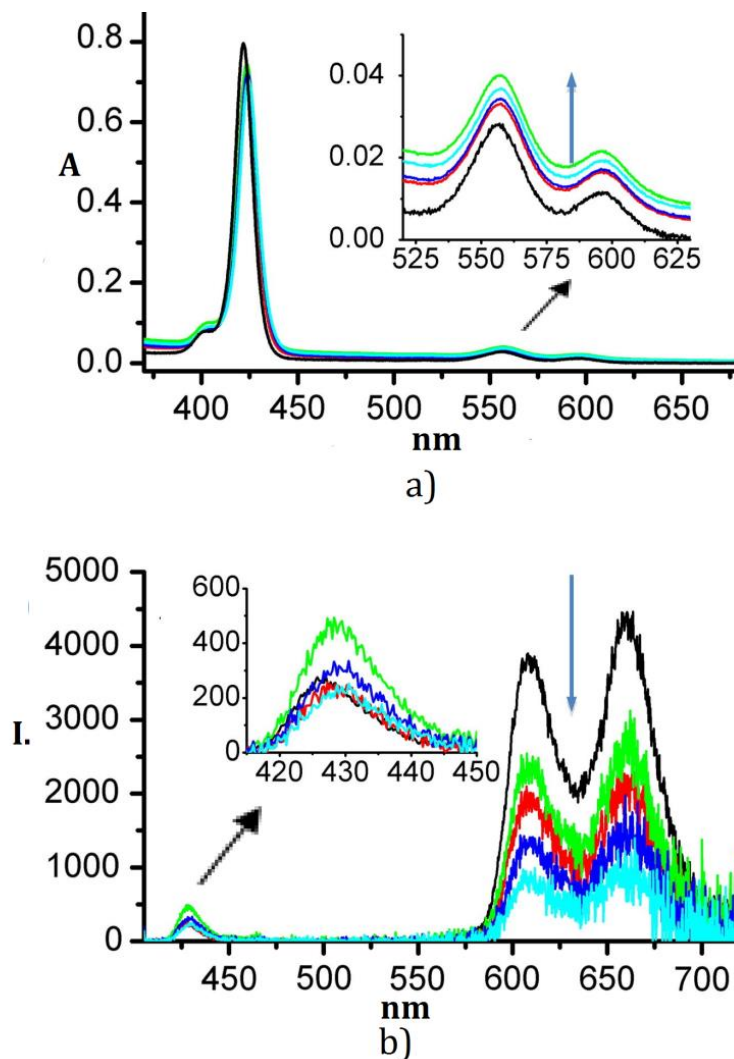


Fig. 2.10 Cambios en los espectros de a) absorción y b) emisión de ZnTPPS⁴⁻ en solución acuosa tras la adición de iones yoduro (0-2.0M) en una fuerza iónica constante (2.0 M NaCl). La expansión en el espectro b muestra la banda de emisión fluorescente débil S₂ en gran detalle.

2. Quimiosensores para aniones basados en complejos de coordinación tipo pinza

El desarrollo de sensores, sondas y reactivos que pueden detectar o monitorear aniones en medios orgánicos o acuosos se ha convertido en una de las áreas de investigación más activas dentro de la química supramolecular.¹⁴ Debido a la naturaleza ácida de Lewis y catiónica de los iones metálicos de transición, y al hecho de que muchos de ellos exhiben propiedades interesantes en su química de coordinación y propiedades fotofísicas, su uso en la química supramolecular de aniones ha sido una elección obvia en el desarrollo de nuevas estructuras supramoleculares, sondas y sensores.^{37.}

A lo largo de los años, se han desarrollado muchos ejemplos excelentes de complejos de coordinación donde las diversas propiedades fotofísicas, como la absorción, la emisión, el tiempo de vida fluorescente y los rendimientos cuánticos se modulan en interacciones con los aniones. Mientras que los primeros ejemplos reportados a menudo implicaban una simple interacción electrostática entre tales complejos (anfitriones) y el huésped aniónico, el enfoque en los últimos años se ha desplazado hacia el diseño de nuevos ligantes orgánicos funcionales que pueden coordinar iones metálicos individuales o formar estructuras de autoensamblaje jerárquicas y de orden superior. Esto también ha dado como resultado la formación de complejos estables con iones metálicos *d* que poseen unidades de unión secundarias, como sitios de enlace de hidrógeno (amidas, ureas, tioureas, etc.). Estos complejos pueden aumentar la afinidad de unión y mejorar la selectividad aniónica, de manera sinérgica.³⁸

En el período de 2011-2019 se desarrolló una gran cantidad de tales ejemplos. En esta sección sólo se enfoca en los complejos tipo pinza de iones metálicos *d*, que se pueden usar en los procesos de detección de aniones biológicamente relevantes en solución orgánica o acuosa. Así mismo se centrará principalmente en la detección basada en la coordinación de aniones a través del desplazamiento de ligantes débilmente unidos a complejos metálicos de transición.

Para todos estos ejemplos, el proceso de reconocimiento de aniones da como resultado una modulación de sus propiedades en el estado fundamental (absorción UV-Vis) o en el estado excitado (emisión de fluorescencia o fosforescencia).

2.1. Complejo tipo pinza

Un complejo pinza metálico de transición es un tipo de complejo de coordinación con ligantes pinzas, los cuales son agentes quelantes que se unen fuertemente por tres sitios coplanares adyacentes en una configuración meridional.³⁹ La inflexibilidad de la interacción pinza-metal

confiere una alta estabilidad térmica a los complejos resultantes. Esta estabilidad se atribuye en parte a la geometría restringida de la pinza, que inhibe la ciclación de los sustituyentes orgánicos en los sitios donantes en cada extremo. Los sustituyentes orgánicos también definen una bolsa hidrofóbica alrededor del sitio de coordinación reactiva. Las aplicaciones estequiométricas y catalíticas de los complejos de pinzas se han estudiado a un ritmo acelerado desde mediados de los años setenta. La mayoría de los ligandos pinza contienen fosfinas.

Los compuestos tipo pinza más comunes son aquellos que contienen un anillo central tipo arilo con dos sustituyentes en las posiciones *orto* respecto al carbono que forma el enlace con el metal. Estos compuestos se forman por un enlace σ entre el carbono central del anillo arilo y el metal, con la coordinación de los átomos donadores en los sustituyentes para cerrar la pinza. Los átomos donadores pueden ser N, P, O, S o Se. Para nombrarlos se utiliza el acrónimo ECE, donde la letra E representa el átomo donador, de esta forma tenemos compuestos pinza NCN, PCP, etc. (Fig. 2.11) ³⁹

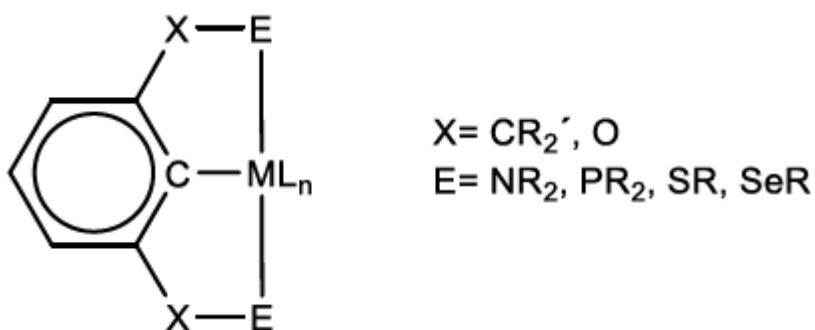


Fig. 2.11 Estructura química básica de un compuesto tipo pinza ECE.³⁹

Los complejos de coordinación metálicos tipo pinza han atraído mucha atención en áreas como la catálisis, las ciencias de los materiales para el desarrollo de nuevos sistemas organometálicos luminiscentes y magnéticos y, más recientemente, en química médica, debido a sus excelentes propiedades estructurales, electrónicas y fotofísicas. Sin embargo, la detección óptica de un solo analito y el reconocimiento de iones aún permanecen en gran parte inexplorados. En la última década se ha abordado con éxito la combinación adecuada de ligandos orgánicos fluorescentes y/o cromogénicos tipo pinza con centros metálicos de transición, que contienen sitios de coordinación disponibles, capaces de unirse selectivamente con especies iónicas químicas, biológicas y ambientales como haluros, pseudohaluros, oxianiones, nucleótidos, proteínas y el ADN en medios competitivos. ⁴⁰

En principio, los receptores basados en metales para la unión selectiva de analitos pueden diseñarse usando una combinación de interacciones de enlace de hidrógeno, electrostática y principalmente enlaces de coordinación capaces de producir cambios en sus propiedades fácilmente monitoreadas, tales como color, fotoluminiscencia y propiedades redox. Estos cambios ópticos pueden interpretarse en términos de respuesta sensor-analito y su asociación puede estudiarse desde una perspectiva de reconocimiento molecular. Actualmente, la literatura presenta una gran cantidad de receptores/sensores moleculares basados en cromóforos/lumóforos puramente orgánicos, y en menor medida, complejos de coordinación clásicos.

Los complejos metálicos de transición tipo pinza son de interés en el análisis de bioimagen de especies bio-activas como aniones, aminoácidos, proteínas, nucleótidos, ADN ya que su emisión puede discriminarse fácilmente de la luz dispersa y la emisión generalmente presente en muestras biológicas y clínicas. Dichos complejos pueden prepararse directamente a partir de metales de transición de la segunda y tercera fila como platino, oro, iridio, paladio y rutenio con ligantes de pinza estables del tipo (N[^]N[^]N) como derivados de terpiridina, (N[^]C[^]N), como 1,3 bis (bencimidazolil) benceno, o derivados de 1,3-bis (piridina-2-il) benceno, y ligantes (P[^]C[^]P) tales como de tipo POCOP.

2.2. Ejemplos de quimiosensores para aniones basados en complejos tipo pinza

(E[^]C[^]E); (E=N, P)

Los compuestos metálicos E[^]C[^]E pinza d⁸ se han utilizado como nuevos quimiosensores luminiscentes con excelentes propiedades de unión a especies aniónicas (H₂PO₄⁻, F⁻, Cl⁻ y CN⁻), restos de nucleótidos, vapor de SO₂ y ácidos inorgánicos. Esta sección destaca las aplicaciones de detección para diferentes analitos que involucran interacciones no covalentes, enlaces de coordinación y procesos ácido-base como desprotonación basada en complejos de platino pinza N[^]C[^]N y complejos de níquel POCOP.

Los compuestos fosforescentes de Pt (II) y Pd (II) son diferentes de los luminóforos orgánicos debido a su característico tiempo largo de emisión (generalmente en el rango de milisegundos), fuerte absorción y grandes cambios de Stoke .El platino tiene una geometría de coordinación cuadrada plana con un eje axial descoordinado que puede ser ocupado por diferentes donantes de N, O, S, haluros o aniones de pseudohaluro; todos estos ligandos pueden alterar significativamente el estado fundamental y las propiedades en el estado excitado. Una ventaja de este tipo de compuestos organometálicos (E[^]C[^]E) de pinza es la fuerte influencia *trans* del ligante fenilo. Este hecho es

interesante porque se puede establecer fácilmente un equilibrio químico dinámico entre una molécula de disolvente o un anión no coordinante y un huésped (Fig. 2.12) y su constante de unión se puede estimar por espectrofotometría de absorción UV-Vis o de fluorescencia usando ecuaciones isotérmicas de unión comunes.⁴⁰

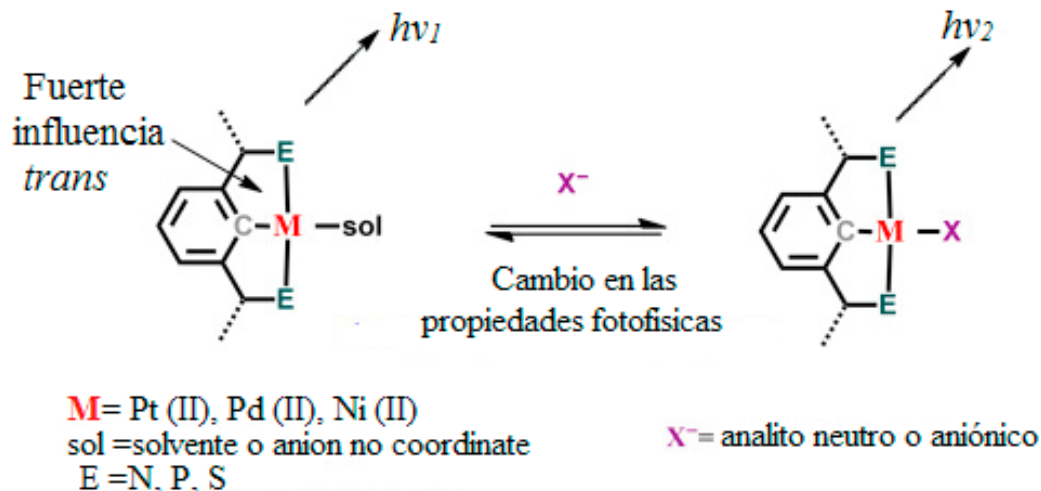


Fig. 2.12 Equilibrio químico dinámico entre una molécula solvente o anión no coordinante y un huésped neutro o aniónico.⁴⁰

Por otro lado, es bien sabido que la emisión de complejos de Pt (II) y Pd (II) en estado sólido y solución depende en gran medida de la disposición molecular de los ligantes (efecto electrónico y estérico), interacciones intermoleculares (solvatación, reconocimiento iónico, interacciones Pt...Pt), temperatura y contra-iones. En este sentido, se puede lograr una amplia gama de longitudes de onda de emisión utilizando condiciones controladas y ligantes funcionalizados. La relación entre las propiedades estructura-fotofísica de una amplia gama de compuestos organometálicos de Pt (II) pinza E ^C^E junto con sus aplicaciones en fotocatalisis, bioimagen y diodos emisores de luz ha sido ampliamente estudiada.⁴¹ Sin embargo, la literatura presenta solo unos pocos ejemplos de sensores/receptores moleculares intrínsecos capaces de reconocer y detectar analitos selectivamente. Los ejemplos se resumen a continuación.

Dorazco-González desarrolló un nuevo quimiosensor luminiscente selectivo para cloruro en medio acuoso basado en el complejo **7** con fórmula general [Pt(N^C^N)(S)] TfO (N^C^N=1,3-bis (2-N-fenilbencimidazolil) benceno, S=disolvente y TfO⁻=anión triflato). La adición de cloruro en un rango de concentración milimolar apaga la fluorescencia en medios acuosos al 50% con DMF o CH₃CN con constantes de asociación de 1.2×10³ y 81 M⁻¹, respectivamente. Por el contrario, en medio micelar de hidrogenosulfato de cetiltrimetilamonio a pH 7.0, las adiciones de aniones inorgánicos a

7 incrementan la emisión fluorescente con selectividad pronunciada hacia el cloruro, que muestra una unión mucho más estrecha al receptor con la constante de asociación de $7.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ en comparación con las de las mezclas de los disolventes orgánicos. El equilibrio dinámico **7**-cloruro (Fig. 2.13) se establece en minutos. Sobre la base de los experimentos de titulación de RMN de ^1H y estructura cristalina del cloro-complejo neutro **7**.Cl, se propone el modo de unión del cloruro, que implica la coordinación del cloruro al átomo de Pt (II) con la formación simultánea de contactos cortos intramoleculares C-H \cdots Cl-Pt, **7**.Cl (Fig. 2.13). La combinación del complejo de platino ciclometalado **7** con un surfactante catiónico permite la detección de cloruro en el rango de concentración micromolar en muestras de agua mineral embotellada.⁴²

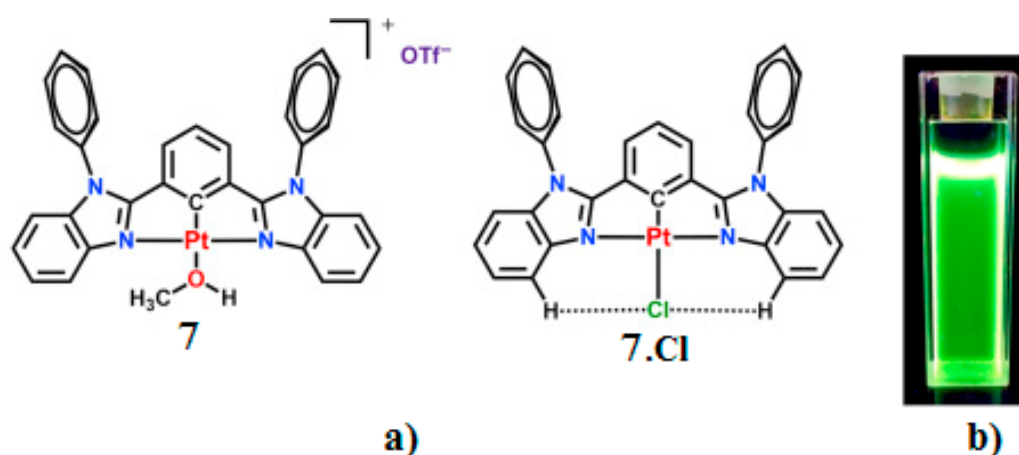


Fig. 2.13 **a)** Estructura química de los complejos pinza N^{^C^N} platino (II) **7** utilizado como quimiosensores luminiscentes para cloruro, **7** y su cloro-complejo **7**.Cl. **b)** Fotografía de **7**.Cl bajo radiación UV.

Gong y Zhong sintetizaron un complejo simple neutro [Pt(N^{^C^N}) Cl] **8**, funcionalizado con un grupo amida y examinaron sus propiedades de absorción y emisión en diferentes disolventes en respuesta a diversos aniones. La adición de H_2PO_4^- a una solución de **8** en acetonitrilo, genera un cambio de color con un cambio de emisión ratiométrica de una banda de emisión verde a 537 nm a una banda de emisión roja a 680 nm. La detección cromogénica es altamente selectiva para H_2PO_4^- sobre otros aniones comunes, como haluros, acetato, nitrato y sulfato. Además, el complejo de platino **8** muestra polimorfismo de emisión de múltiples etapas en mezclas de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$. La detección colorimétrica se atribuye a la formación de una interacción de enlace de hidrógeno entre H_2PO_4^- y el grupo amida, esta interacción se confirmó mediante análisis de RMN. En estado sólido, este complejo de platino emite luz roja. Sin embargo, el material compuesto del complejo de platino con H_2PO_4^- muestra emisiones amarillas puramente monoméricas.⁴³

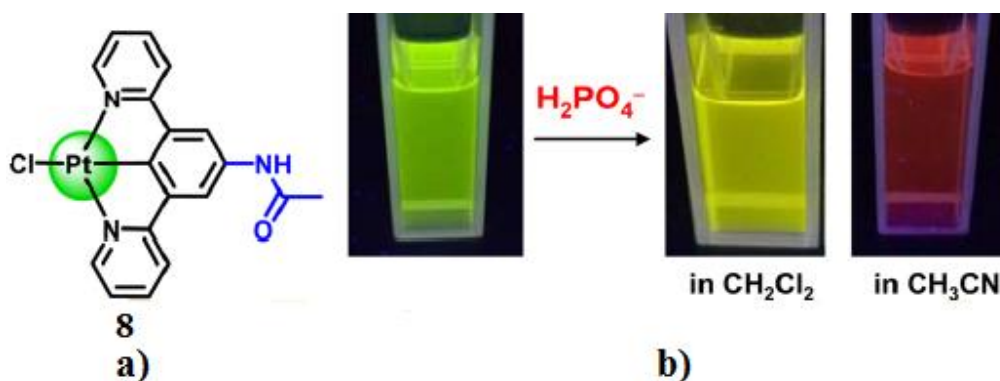


Fig. 2.14 a) Estructura química del complejo pinza N^{^C^}N de platino (II) **8**, utilizado como quimiosensor luminiscentes para H₂PO₄⁻ b) Fotografía de **8**-H₂PO₄⁻ bajo radiación UV 365nm.

Dorazco-González y Morales-Morales diseñaron y sintetizaron tres complejos de Ni (II) tipo pinza POCOP: [NiCl{C₆H₂-4-OH-2,6-(OPPh₂)₂}], **9**; [NiCl{C₆H₂-4-OH-2,6-(OPtBu₂)₂}], y [NiCl{C₆H₂-4-OH-2,6-(OPiPr₂)₂}], se estudiaron como sensores moleculares bifuncionales para aniones inorgánicos y acetato. (Fig. 2.15)

En CH₃CN, el fluoruro genera un desplazamiento batocrómico con un cambio colorimétrico en los tres complejos, con un encendido simultáneo de fluorescencia, este efecto óptico se basa en la desprotonación del grupo *para*-hidroxilo del ligante de POCOP. Por otro lado, en una solución acuosa neutra de 80% en volumen de CH₃CN, las adiciones de cianuro producen un cambio de color distintivo de amarillo a naranja, formando complejos muy estables con los tres receptores con log K_a en el rango de 4.38-5.03 M⁻¹ y pronunciada selectividad sobre otros aniones comunes tales como yoduro, fosfato y acetato. Además, el bromuro muestra un modesto cambio espectral y afinidad, pero menor que el observado para el cianuro. (Fig. 2.16)

Con base a los experimentos de RMN de ¹H, titulaciones de absorción UV-Vis, experimentos ESI-MS, y la estructura cristalina del bromo-complejo neutro de **9**, se propone que el cambio colorimétrico implica un intercambio del ligante Cl⁻ por CN⁻ en el átomo de Ni (II).

El sensor de Ni (II) **9**, permite la detección fluorescente selectiva de fluoruro con un límite de 5.66 μmol L⁻¹ y la detección colorimétrica de cianuro en medio acuoso en el rango de concentración micromolar.⁴⁴

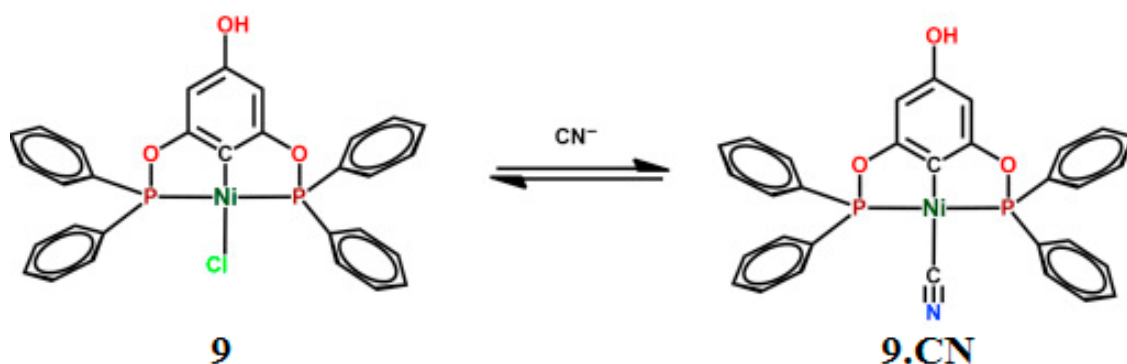


Fig. 2.15 Complejo de níquel (II) tipo pinza POCOP utilizado como sensor bifuncional colorimétrico/luminiscente para iones de cianuro y fluoruro **9** y su ciano-complejo **9.CN**.

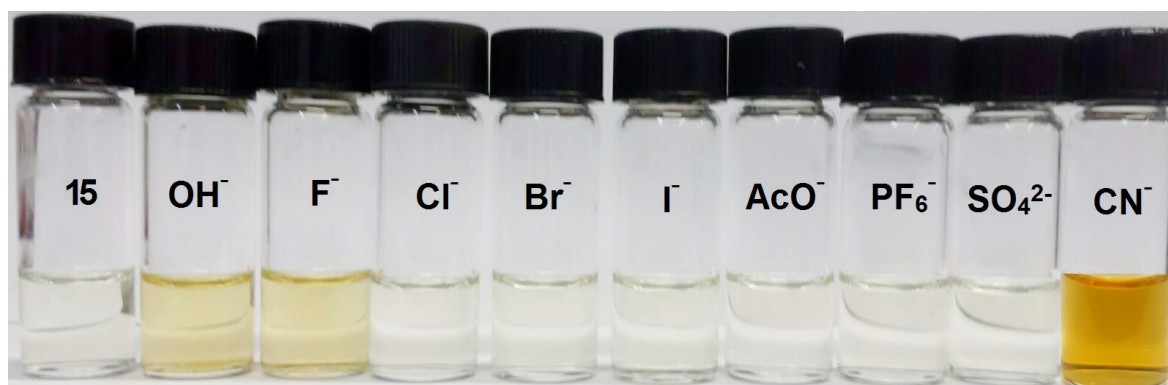


Fig. 2.16. Cambio de color de **9** (50 μM) en CH_3CN con la adición de 3.0 equiv. de varios aniones. **9**= cloro- complejo neutro, $[\text{NiCl}\{\text{C}_6\text{H}_2\text{-4-OH-2,6-(OPPh}_2)_2\}]$.

3. Quimiosensores para tioles biológicos

Zhou y colaboradores reportaron un complejo de platino (II) $\text{Pt}(\text{phen})\text{C}\equiv\text{C}_6\text{H}_4\text{CHO}$, **10**, que funcionó como quimiosímetro fosforescente altamente selectivo para cisteína (Cys) y homocisteína (Hcy). La adición de Hcy y Cys a **10** en una solución $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ 4:1 (v/v) (pH 7.2) produce una disminución gradual de la banda de absorción a 330 nm y un aumento de la banda centrada a 270 nm. Por otro lado, la banda de emisión de **10** se desplazó al rojo de 510 a 555 nm en presencia de Cys y Hcy con una variación de color luminiscente de verde a naranja. Para validar la selectividad de **10** a Cys y Hcy, otros aminoácidos naturales se estudiaron, incluidos His, Leu, Asp, Arg, Tyr, Thr, Pro, Iso, Leu, Try, Met, Val, Ala, Phe, Glu-ine, Glu, Ser, Hyd, Lys y Gly y no produjeron cambios en los espectros de emisión. El cambio de emisión se atribuye a la formación de un anillo de tiazonano a través de una reacción selectiva del grupo aldehído del complejo de platino (II) con las Cys y Hcy (Fig. 2.17), comprobándose con los estudios de RMN de ^1H .⁴⁵

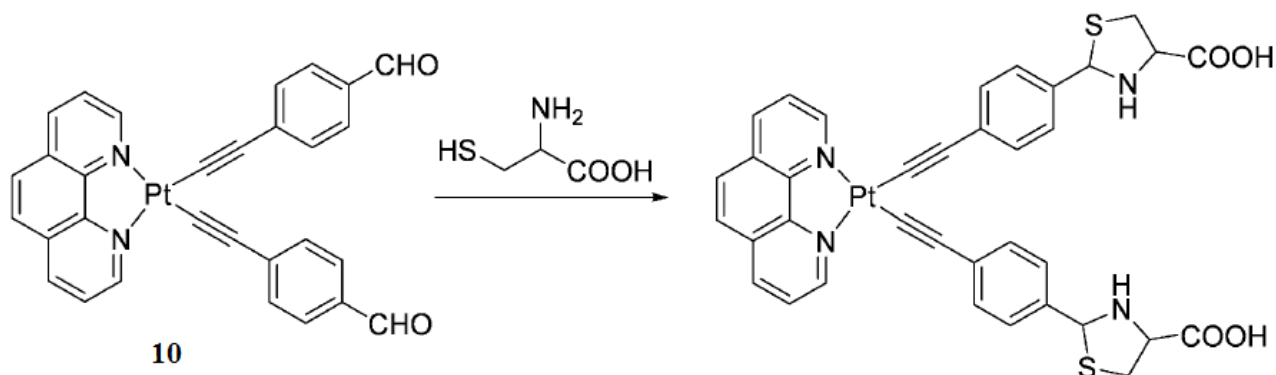


Fig. 2.17 Reacción propuesta entre el complejo de platino (II) **10** y cisteína.

Ruan y sus colegas desarrollaron un nuevo método basado en la agregación de perileno bisimida **11**, mediada por Hg^{2+} para la detección altamente sensible de aminoácidos con grupos tioles (Fig. 2.18). Este sistema se basó en el conjunto químico no covalente **11**- Hg^{2+} . Cuando se llevó a cabo la titulación de **11** en $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$ 9:1 (v/v) con concentraciones crecientes de Hg^{2+} , la fluorescencia a 532 nm disminuyó gradualmente y se apagó casi por completo, pero tras la adición de Cys, la fluorescencia se restableció. Dada la interacción $\text{Hg}-\text{S}$ mucho más fuerte en comparación con la de $\text{Hg}-\text{N}$, los agregados no fluorescentes **11**- Hg^{2+} se disociaron en monómeros en presencia de Cys. (Fig.x). El conjunto **11**- Hg^{2+} se probó con otros 19 aminoácidos naturales, Hcy, GSH, DTT, ácido mercaptoacético (MMA) y 2 mercaptoetilamina (MEA). Como se esperaba, solo los aminoácidos que contienen tiol fueron capaces de dar una respuesta fluorescente. El límite de detección para la cisteína fue de 9.6 nM.⁴⁶

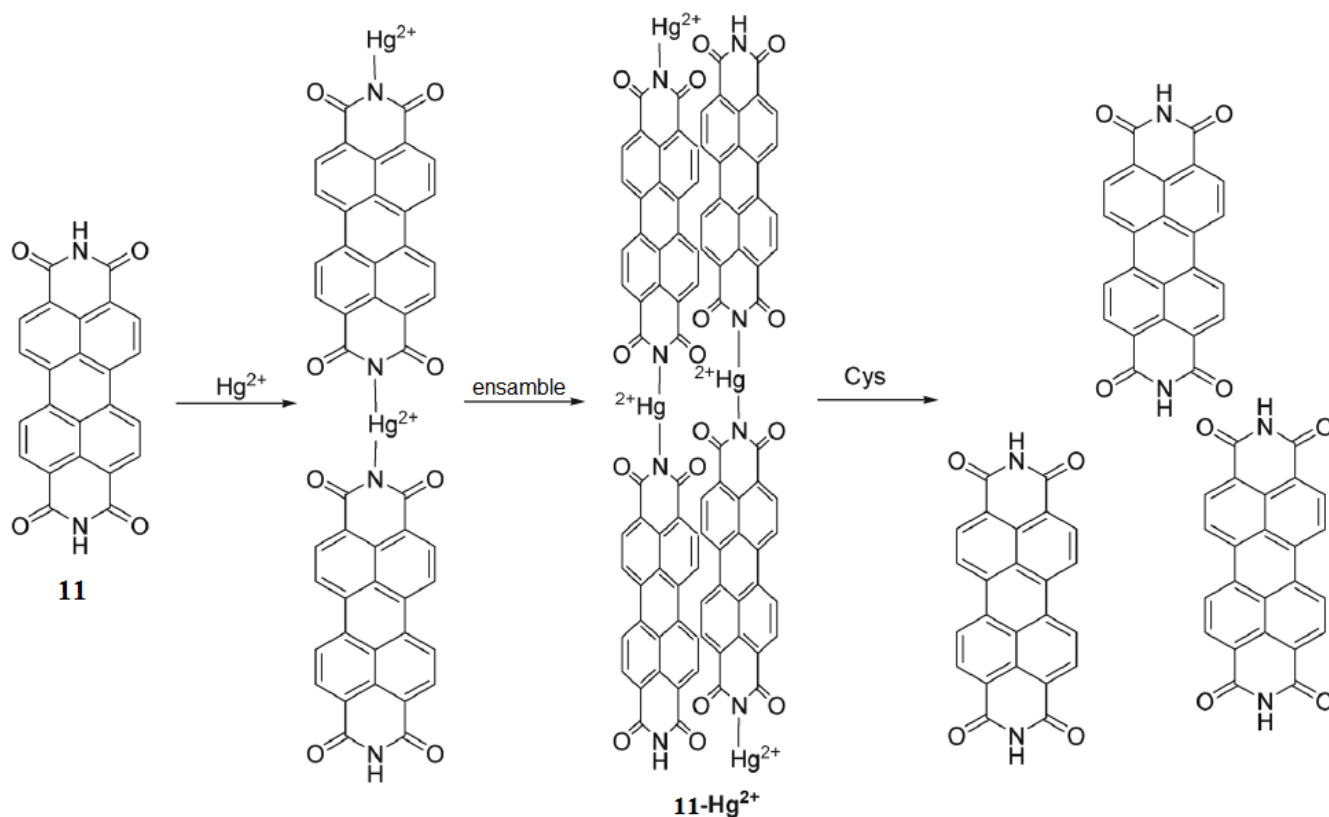


Fig. 2.18 Representación sistemática de la detección de cisteína con **11**- Hg^{2+}

Yin y colaboradores informaron una estrategia para determinar la presencia de aminoácidos con grupos tioles, simplemente ensamblando cloruro de cobre y naranja de xilenol (3,30-bis [N, N-bis (carboximetil) aminometil] -o-cresolsulfoneftaleína sal trisódica; XO) en relación molar 1:1 en solución acuosa cuasi-fisiológica de pH 6.0. El complejo Cu^{2+} -XO, **12**, fue altamente selectivo para especies de tioles como cisteína, homocisteína y glutatión sin interferencia de otros aminoácidos pudiendo detectarlos cuantitativamente en el rango de 10 a 200 μM con una relación lineal y absorbancia molar promedio constante de $6530 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ en agua pura. Todo el proceso de reconocimiento del tioles da lugar a un rápido cambio visual del color de rojo púrpura a amarillo.

Los autores sugieren el mecanismo de detección como sigue: el complejo Cu^{2+} -XO tiene coordinados 4 grupos que son fenoxi, dos oxígenos carboxilatos y una molécula de agua. Un tiolaminoácido, como la cisteína puede coordinarse con cationes metálicos a través de sus grupos funcionales: tiol (-SH), amina ($-\text{NH}_2$) y carboxilato ($-\text{COO}^-$), en este experimento a pH de 6.0, existe principalmente como $\text{NH}_3^+/\text{SH}/\text{COO}^-$, y solo sus fuertes grupos nucleófilos tiol (-SH) y carboxilato ($-\text{COO}^-$) podrían participar en la formación del complejo metálico. Como resultado, descubrieron que la relación de estequiometría óptima de $\text{Cys}:\text{Cu}^{2+}$ era 4: 1, por lo que se propuso el complejo de asociación Cu^{2+} - Cys_4 mostrado en la Fig. 2.19 con estructura octaédrica distorsionada.

Con la adición de Cys, se llevaría a cabo la competencia por los iones Cu^{2+} entre Cys y XO. En este sentido, el indicador XO se libera del complejo de Cu^{2+} -XO, cuando la cisteína se coordina con un ion de Cu^{2+} para formar el complejo Cu^{2+} -Cys₄ (Fig. 2.19), razón principal del cambio de color. Las constantes de asociación se calcularon por titulaciones espectrofotométricas UV-Vis, resultaron de $2.41 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ para Cu^{2+} -XO y $1.07 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ para Cu^{2+} -Cys₄.⁴⁷

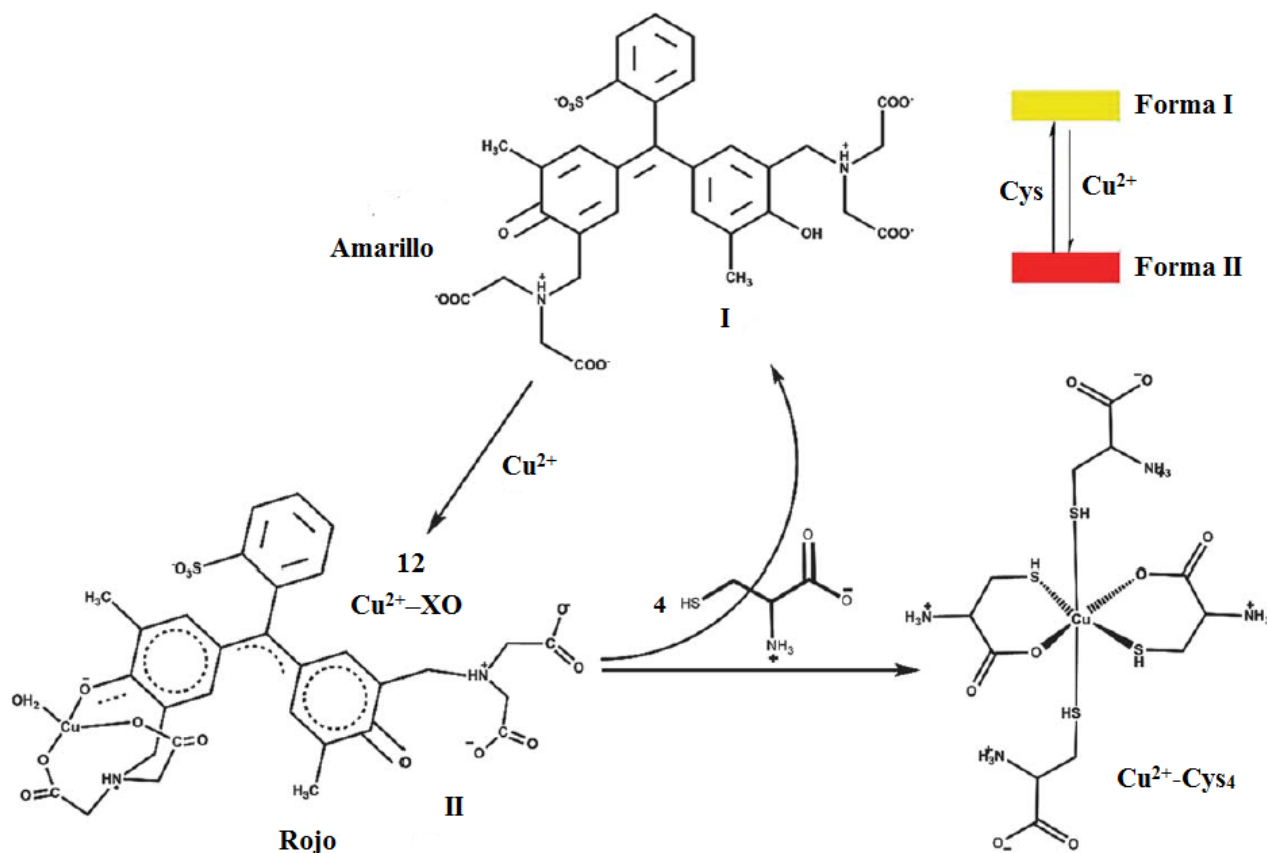


Fig. 2.19. Mecanismo propuesto para la determinación de cisteína usando el sistema Cu^{2+} -XO 12, en un medio acuoso cuasi-fisiológico de pH 6.0.

Zhang y colaboradores prepararon un sensor luminiscente basado en el complejo de rutenio (II) 13, para el reconocimiento selectivo de Cys y Hcy en el rango de concentración de 15-180 mM. Una solución de 13 en DMSO: H₂O 9:1 v/v tamponada a pH 7.0, mostró una emisión muy débil MLCT a 720 nm (λ_{exc} 485 nm) debido a la presencia de los grupos aldehídos electro-atractivos que extinguieron la emisión. Sin embargo, la adición de Cys y Hcy inducen un cambio hipsocrómico importante (de 720 a 635 nm) con un incremento en la intensidad de emisión. Estos cambios se atribuyen a la reacción de los aldehídos con Cys u Hcy, produciendo los correspondientes heterociclos tiazolina-tiazinano donadores de electrones (Fig. 2.20). Los límites de detección calculados fueron de 1.41 μM y 1.19 μM para Cys y Hcy, respectivamente. La adición de Gly, Leu,

Asp, Pro, Arg, Lys, Tyr, Val, GSH, Thr, Ser, Ala, His, Met y Trp no inducen cambios significativos.⁴⁸

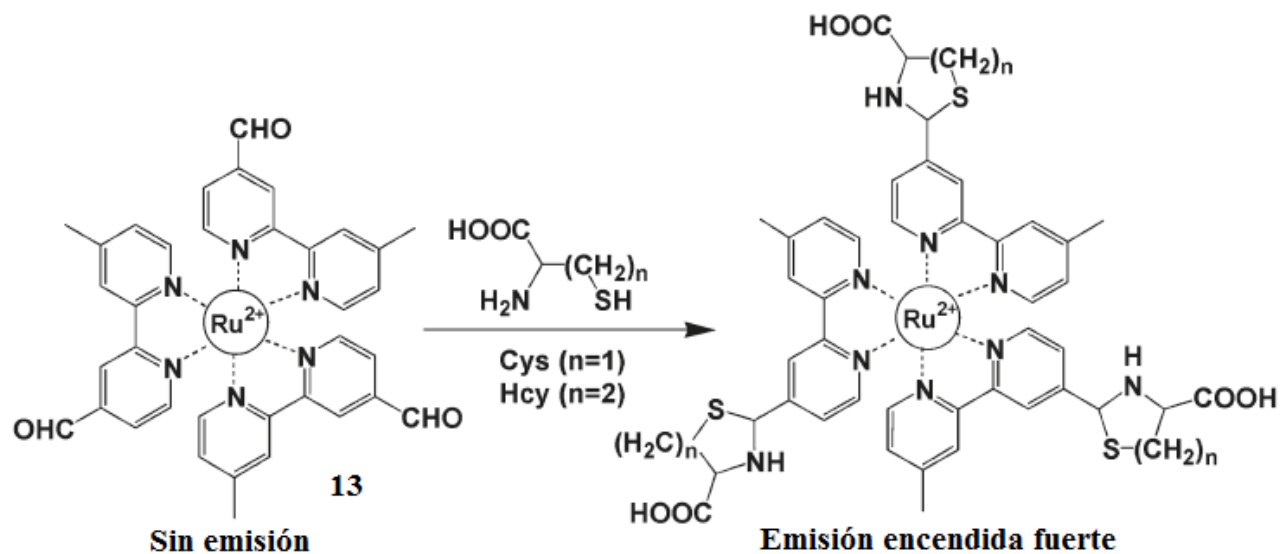


Fig. 2.20 Reacción de la detección de cisteína y homocisteína con el complejo de rutenio (II), 13.

HIPÓTESIS

Dos sistemas moleculares basados en una porfirina catiónica y complejos organometálicos tipo pinza de paladio (II)-POCOP pueden funcionar como quimiosensores fluorescentes y cromogénicos para la multi-detección selectiva de halogenuros y cianuro; adicionalmente los complejos de Pd (II) pueden reconocer tioles biológicos.

OBJETIVOS

General

Sintetizar y evaluar una porfirina catiónica como quimiosensor fluorescente para aniones en medio acuoso y evaluar dos complejos organometálicos tipo pinza POCOP de paladio (II) para la unión selectiva de aniones y tioles biológicos.

Específicos

1. Sintetizar, purificar y caracterizar una sal de triflato de la porfirina tetra-catiónica (5,10,15,20-Tetra(4-piridil)-21*H*,23*H*-porfirina), **1.OTf**.
2. Estudiar las propiedades fotofísicas de absorción UV-Vis y de emisión fluorescente de la porfirina **1.OTf** en medio acuoso a pH 7.4 y de los dos complejos tipo pinza POCOP de paladio (II) (**2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**) en acetonitrilo y otros solventes inorgánicos.
3. Realizar estudios de reconocimiento molecular de la porfirina **1.OTf** en medio acuoso a pH 7.4 con aniones inorgánicos y acetato
4. Realizar cristalizaciones de la porfirina **1.OTf** en disolventes próticos para obtener monocristales adecuados para la difracción de rayos-X.
5. Realizar estudios de reconocimiento molecular de los dos complejos tipo pinza POCOP de paladio (II) (**2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**) con una serie de analitos biológicos: aniones (en acetonitrilo) y tioles (medio micelar acuoso - CTAB 5.0mM/ MOPS 10.0mM, pH=7.4).
6. Llevar a cabo la cristalización de los dos complejos tipo pinza POCOP de paladio (II) con cianuro de tetrabutilamonio en acetonitrilo.
7. Determinar las constantes de asociación entre los dos sistemas moleculares mencionados y los analitos por medios de titulaciones espectroscópicas (absorción UV-Vis, emisión fluorescente y RMN de ¹H).

Capítulo 3 Desarrollo experimental

1. Reactivos y disolventes

Todos los reactivos para las síntesis y estudios espectroscópicos fueron de grado analítico y sin purificación previa. 5,10,15,20-tetra(4-piridil)-21H,23H-porfirina (Sigma-Aldrich 97%), dimetilformamida anhidra (99,8%), bromuro de bencilo (98%), acetato de etilo (99,8%), metanol anhidro (99,8%), triflato de plata (98%). Los disolventes se purificaron y se secaron usando procedimientos estándar. Agente de filtro Celite® 540. Malla molecular ACS ($\geq 97.0\%$).

Reactivos analitos (Sigma-Aldrich): acetato de sodio ($\geq 98.0\%$), bromuro de sodio ($\geq 98.0\%$), cloruro de sodio ($\geq 99.0\%$), cianuro de sodio ($\geq 97.0\%$), fluoruro de sodio ($\geq 98.0\%$), fosfato de sodio monobásico dihidrato ($\geq 99.0\%$), bicarbonato de sodio ($\geq 99.7\%$), nitrato de sodio ($\geq 99.0\%$), sulfato de sodio anhidro ($\geq 99.0\%$), yoduro de sodio (99.99%), cianuro de tetrabutilamonio ($\geq 95.0\%$), solución de hidróxido de tetrabutilamonio (40 wt. % en H₂O), solución de fluoruro de tetrabutilamonio (1.0M en THF), acetato de tetraetilamonio tetrahidratado ($\geq 99.0\%$), fosfato monobásico de tetrabutilamonio ($\geq 99.0\%$), cloruro de tetrabutilamonio ($\geq 99.0\%$), bromuro de tetrabutilamonio ($\geq 99.0\%$), yoduro de tetrabutilamonio ($\geq 99.0\%$), hidrogeno-sulfato de tetrabutilamonio (97.0%), nitrato de tetrabutilamonio (97.0%). L-Cisteína (97.0%), DL-Homocisteína ($\geq 95.0\%$), L-glutación reducido ($\geq 98.0\%$), N-Acetil-L-cisteína ($\geq 99.0\%$).

Reactivo buffer (Sigma-Aldrich): MOPS (ácido 4-morfolinopropanosulfónico $\geq 99.5\%$). Reactivo surfactante (Sigma-Aldrich): CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio $\geq 99.0\%$). Las soluciones tampón MOPS se prepararon ajustando el pH con NaOH a los valores deseados con agua destilada.

2. Instrumentación

Estudios cristalográficos de **1.Br**, **1.OTf**, **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**

Los cristales de **1.Br**, **1.OTf**, **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** se analizaron con el difractor Bruker APEX II a 100K, usando radiación de Cu con un detector de área CCD ($\lambda_{CuK\alpha}=1.5418 \text{ \AA}$) de una fuente Incoatec ImuS y un monocromador óptico Helios. Los cristales adecuados se recubrieron con aceite de hidrocarburo, se recogieron con un bucle de nylon y se montaron en la corriente de nitrógeno frío del difractor. Las estructuras se resolvieron mediante el uso de fases intrínsecas (SHELXT) y se refinaron con una matriz completa de mínimos cuadrados en F2 utilizando GUI de shelXle. Los átomos de hidrógeno de los enlaces C–H se colocaron en posiciones idealizadas, mientras que los

átomos de hidrógeno de los motivos N-H se localizaron de la diferencia del mapa de la densidad electrónica y se refinaron isotrópicamente con $U_{\text{iso}}(\text{H})=1.5$ y $1.2 U_{\text{eq}}$ para N. Los átomos de H unidos a los átomos de C fueron colocados en posiciones geoméricamente idealizadas y refinados en sus átomos primarios, con $\text{C-H}=0.95 \text{ \AA}$ para grupos aromáticos y $\text{C-H}=0.99 \text{ \AA}$ para grupos metileno con $U_{\text{iso}}(\text{H})=1.2U_{\text{eq}}$. Los gráficos moleculares se prepararon utilizando ORTEP, Mercury, POV-RAY y GIMP. El modelo refinado muestra picos de densidad electrónica residual alta, posiblemente debido a una mezcla de solventes de cristalización (metanol y agua) en diferentes posiciones desordenadas que no fue posible modelar, por lo que fue necesario usar el programa Platon Squeeze eliminando 2 Picos de 12 electrones en 27 angstroms cúbicos cada uno. El pico de densidad electrónica residual que se encontró en el centro del anillo de porfirina en un centro de inversión cristalográfico no se pudo modelar.

Estudios de RMN de ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P y espectrometría de masas.

Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P se realizaron en un espectrómetro Bruker Advance DPX 300 MHz. Los espectros de masas se obtuvieron por las técnicas: ionización por electrospray positivo ESI^+ (equipo Bruker Micro TOF II.), MALDI-TOF (Bruker Daltonics flexAnalysis), ionización química CI (Shimadzu, GCMS-QP2010 Plus).

Mediciones de emisión fluorescente, de absorción UV-Vis y de RMN.

Los espectros de emisión se realizaron en un espectrofotómetro Cary Eclipse Agilent equipado con un soporte de celdas termostatzado y una lámpara de xenón. Las mediciones de absorción UV-Vis se obtuvieron en un espectrofotómetro Cary Agilent 100 UV-Vis. Para los experimentos de titulación de RMN ^1H se emplearon los espectrómetros Bruker Advanced de 300 MHz y Bruker Avance III 400 MHz usando como disolventes DMSO-d_6 , D_2O y CD_3CN .

Estudios Teóricos y Experimentales de la interacción de 1.OTf con yoduro

Los cálculos de Teoría Funcional de Densidad (DFT) en el nivel teórico B3LYP/lanl2dz se llevaron a cabo para obtener una idea de la estructura electrónica del complejo 1.OTf-yoduro, así como para calcular su energía de interacción y así establecer la naturaleza de su enlace. Todos los cálculos se realizaron con el conjunto de programas Gaussian 09 Rev. D2 y las energías de interacción se calcularon bajo el formalismo de Natural Bond Orbitals (NBO) con el programa NBO3.1 proporcionado en el conjunto mencionado.

Mediciones de fluorescencia de tiempo de vida media de 1.OTf

Se usó un sistema de conteo de fotones individuales correlacionados en el tiempo (TCSPC) acoplado a un microscopio confocal hecho a la medida para adquirir los tiempos de vida de la fluorescencia. Un láser de picosegundo a 405 nm pulsado a 10 MHz (LDH-D-C 405, PicoQuant) se enfocó en una celda de cuarzo de 1 cm con el objetivo de microscopio 0.25 NA. La fluorescencia recogida con el mismo objetivo pasó a través de un espejo dichroico de paso largo de 485 nm (Chroma T510lpxrxt), un filtro de muesca de 405 nm (Chroma ZET405nf), un filtro de emisión de paso largo de 425 nm (Chroma ET425lp) y se enfocó a un fotodiodo de avalancha (PD-050-CTE, MPD). El controlador láser (PDL-800-D, PicoQuant) y el APD se conectaron a una tarjeta TCSPC (PicoHarp 300, PicoQuant). El poder de la irradiación se controló para obtener menos del 1% de los eventos de detección para evitar los efectos de acumulación en la gráfica registrada. Se usó Allura Red (estándar analítico Sigma-Aldrich) para obtener el IRF en las mismas condiciones de irradiación. Todos los datos fueron obtenidos y tratados en el software SymphoTime 64 (PicoQuant).

3. Síntesis y caracterización de la sal triflato de 5,10,15,20-tetra(4-bencilpiridinio)-21H,23H-porfirina, 1.OTf

La síntesis del sensor 1.OTf consta de dos reacciones, la primera corresponde a la bencilación para cuaternizar las cuatro piridinas en las posiciones meso de la porfirina, la segunda reacción es el intercambio iónico con triflato de plata.

Se pesaron 99.7 mg de 5,10,15,20-Tetra(4-piridil)-21H,23H-porfina (0.161 mmol) y se disolvieron en 30 ml de dimetilformamida seca en un matraz bola de 100 ml previsto de agitación a una temperatura de 70°C. Se le adicionaron 200µL de bromuro de bencilo (1.68 mmol) y se llevó a reflujo durante 24 horas a temperatura de 80 °C en un baño de sal. El solvente se eliminó a presión reducida y se obtuvo un polvo brillante color marrón-violeta, el cual se lavó tres veces en un sistema de acetato de etilo y metanol 9:1, mediante agitación y temperatura de 80°C, durante hora y media y se filtró al vacío en 24 horas; así se obtuvo la sal bromuro de 5,10,15,20-tetra(4-bencilpiridinio)-21H,23H-porfirina, 1.Br, un polvo color marrón con un rendimiento del 90%.

Posteriormente se realizó la reacción de intercambio iónico, se pesaron 52 mg de la sal bromuro de 5,10,15,20-tetra(4-bencilpiridinio)-21H,23H-porfirina (0.03mmol) y se disolvieron en 100 ml de metanol a una temperatura de 80°C, se le adicionaron 39.0 mg de triflato de plata (0.15mmol- 4.1 equiv.) ya disueltos en 3 ml de metanol, la reacción se dejó 24 horas de agitación a 80°C, al abrigo de la luz. Para separar el precipitado de bromuro de plata formado se ocupó una columna de celita,

obteniendo la sal triflato de la porfirina en solución, el solvente se eliminó a presión reducida, consiguiendo un polvo oscuro. Dicho producto se volvió a lavar tres veces en el sistema de acetato de etilo: metanol 9:1 con las mismas condiciones mencionadas en el lavado anterior. Se obtuvo un polvo color marrón con rendimiento del 80%. (Fig. 3.1)

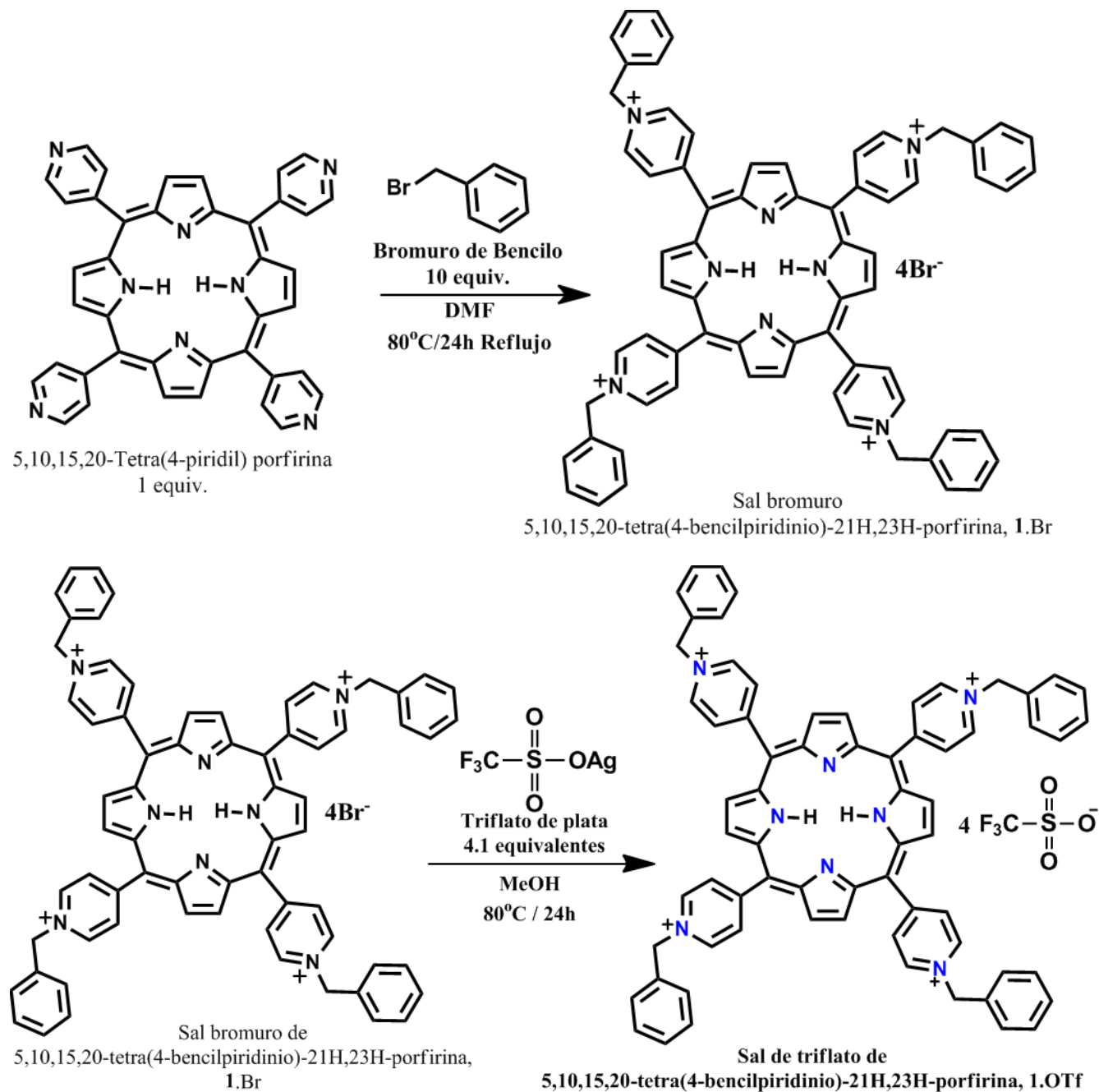


Fig. 3.1 Síntesis de la sal triflato de 5,10,15,20-tetra(4-bencilpiridinio)-21H,23H-porfirina, 1.OTf.

Caracterización de 1.OTf

RMN ¹H (300 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆) δ 9.70 (d, *J*=6.3Hz, 8H), 9.24 (s, 8H, H pirrol), 9.06 (d, *J*=6.2 Hz, 8H), 7.92 (d, *J*=7.0 Hz, 8H), 7.63 (m, 12H), 6.28 (s, 8H, H metileno), -3.50 (s, 2H, NH)

RMN ¹³C (75 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆) δ 156.79, 143.54, 143.47, 133.99, 132.88, 129.56, 129.33, 117.46, 115.80, 63.24 (una señal no fue detectada).

RMN ¹⁹F (282 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆) δ -77.75.

MS-ESI (+): [1+(OTf)₃]⁺= 1430.30 m/z

IR-ATR (cm⁻¹): 3268 (w, N-H), 3114 (w, Ar-H), 1668 (s, br, C=C, C=N+), 1666 (m, Ar-H), 1610 (m, Ar-H), 1564 (m, br), 1240 (s, OTf -), 1092 (s), 805 (m), 740 (m).

Análisis elemental: Calculado: C₇₂H₅₄F₁₂N₈O₁₂S₄: C, 54.75; H, 3.45; N, 7.09.

Experimental: C, 54.73; H, 3.48, N, 7.07.

4. Estudios de reconocimiento molecular

Los estudios de reconocimiento molecular se siguieron mediante tres métodos: espectroscopía UV-Vis, de emisión fluorescente y por RMN de ¹H.

4.1. Titulaciones de emisión fluorescente de 1.OTf con aniones como sales de sodio.

En una celda de cuarzo se preparó 2.5 ml de una solución acuosa tamponada de 1.OTf con concentración 4.0 μM (MOPS 40 mM, pH=7.4) para proceder a la adición de alícuotas de soluciones stock de los aniones como sales de sodio (0.1 mM para yoduro de sodio y 20.0 mM para el resto de los aniones). Después de dichas adiciones, las soluciones se estabilizaron durante 2.0 minutos a temperatura ambiente antes de obtener el espectro de emisión (λ_{exc} = 430nm).

4.2. Titulaciones de absorción UV-Vis de 1.OTf con aniones como sales de sodio.

Los espectros de absorción se registraron después de adicionar alícuotas de soluciones de los aniones (200.0 μM) a una solución acuosa tamponada de 1.OTf (4.0 μM) (MOPS 40 mM, pH=7.4). El experimento de titulación de 1.OTf con yoduro de sodio se llevó a cabo mediante la adición consecutiva de una solución stock acuosa de dicho anión (5.0 mM).

4.3. Titulaciones de RMN ¹H de 1.OTf con NaI

En un tubo de RMN se preparó una solución de 1.OTf con concentración 5.0 mM en un sistema DMSO-*d*₆/D₂O (1/1, v/v) y se le agregaron alícuotas de una solución de yoduro de sodio (0.1 M) preparado en el mismo sistema.

4.4. Titulaciones de absorción UV-Vis y emisión fluorescente de **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** con aniones como sales de **TBA⁺**.

Se preparó en una celda de cuarzo 2.5 ml de una solución de **2Tbu.Cl** en CH_3CN , con concentración $100.0\mu\text{M}$ para proceder a la adición de alícuotas de soluciones stock de los aniones como sales de tetrabutilamonio con concentración 31.2mM . Después de dichas adiciones, las soluciones se estabilizaron durante 3.0 minutos a temperatura ambiente antes de obtener el espectro de absorción UV-vis y consecutivamente el de emisión (las longitudes de onda de excitación corresponden al máximo de absorbancia u punto isobéptico, según sea el caso).

Se realizó el mismo procedimiento para **3Iso.Cl**

4.5. Titulaciones de absorción UV-vis y emisión fluorescente de **2Tbu.Cl** con los tioles biológicos.

En una celda de cuarzo se preparó 2.5 ml de una solución de **2Tbu.Cl** con concentración $100.0\mu\text{M}$ en medio acuoso tamponado micelar (bromuro de cetiltrimetilamonio CTAB, 5.0mM /MOPS 10.0mM , $\text{pH}=7.4$) para la adición de alícuotas de soluciones stock de los tioles biológicos: cisteína (Cys), glutatión (GSH), homocisteína (Hcy) y N-Acetyl cisteína (NAC), todos con concentración 31.2mM . Después de dichas adiciones, las soluciones se estabilizaron durante 3.0 minutos a temperatura ambiente para obtener el espectro de absorción UV-vis y consecutivamente el de emisión (las longitudes de onda de excitación corresponden al máximo de absorbancia u punto isobéptico, según sea el caso).

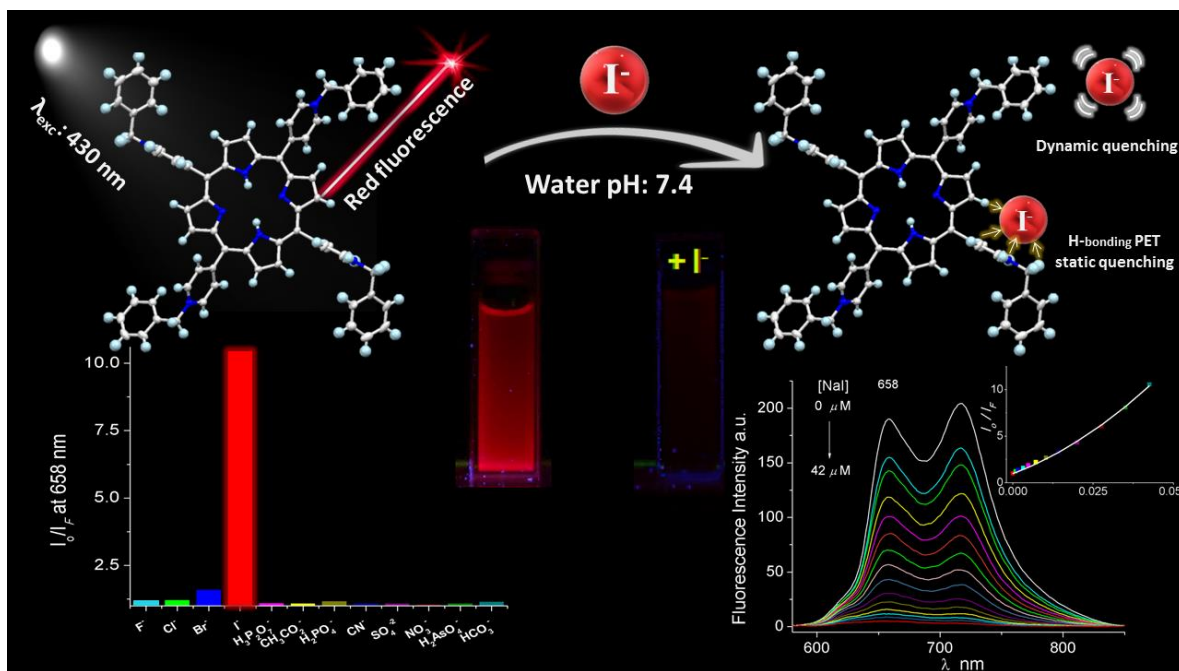
Para todas las titulaciones de **1.OTf**, **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** por UV-vis, emisión y RMN de ^1H , los datos experimentales se ajustaron a las ecuaciones correspondientes mediante regresión de mínimos cuadrados no lineales con MicroLab Origin 8.6 y los programas HySpec.

5. Obtención de monocristales

Una solución de **1.Br** en metanol se dispuso a 70°C por 30 minutos, se dejó a evaporación lenta y se obtuvieron monocristales adecuados para la difracción de rayos X, de la misma forma se cristalizó **1.OTf** pero en un sistema $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$, 1:1.

El monocristal del ciano-complejo **2Tbu.CN** se obtuvo mediante el siguiente procedimiento: se pesó 30.0 mg del cloro-complejo **2Tbu.Cl** para disolverlo en 5.0 ml de CH_3CN con posterior adición de 1.1 equiv. de cianuro de tetrabutilamonio, se sometió a reacción por microondas a 80.0°C por una hora y se cristalizó por evaporación lenta. El mismo procedimiento resultó para **3Iso.CN**.

Capítulo 4 Resultados y discusión del quimiosensor basado en porfirina 1.OTf



A continuación se muestran los resultados más relevantes enfocados a la caracterización espectroscópica de la porfirina tetra-catiónica **1.OTf**, así como sus estudios de reconocimiento molecular para aniones inorgánicos y acetato en medio acuoso a pH 7.4.

El capítulo está dividido en cinco secciones; la primera se refiere a la caracterización de la porfirina **1.OTf** por técnicas espectroscópicas; en la segunda se hace un análisis estructural en estado sólido de los monocristales obtenidos de la porfirina en forma de sal bromuro **1.Br** y en forma de sal triflato **1.OTf**; el reconocimiento molecular y detección de aniones por la porfirina **1.OTf** se describe en la tercer sección; en la cuarta sección se exponen los tiempos de vida media y rendimiento cuántico de **1.OTf** ya que presenta fluorescencia y finalmente en la quinta sección se redacta de forma breve los estudios teóricos DFT acerca de la interacción de **1.OTf** con el ion yoduro.

1. Caracterización espectroscópica del sensor 1.OTf

La caracterización de 1.OTf se realizó mediante RMN de: ^1H , ^{13}C , ^{19}F ; MS-ESI(+); IR-ATR y análisis elemental.

RMN de ^1H

El espectro de RMN de ^1H de 1.OTf de la Fig. 4.1 muestra los 54 hidrógenos totales de la molécula.

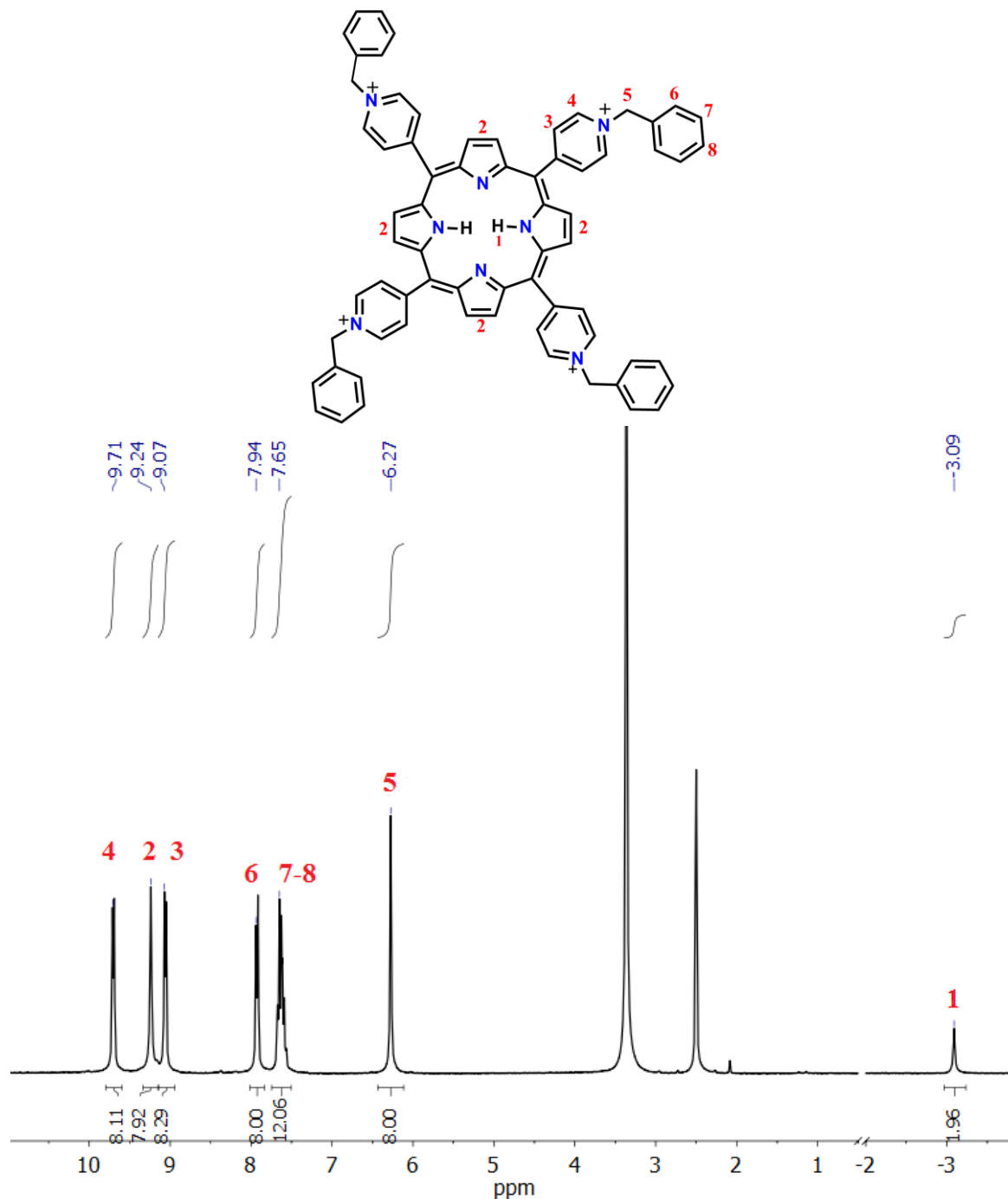


Fig.4.1 Espectro de RMN ^1H de 1.OTf en DMSO- d_6 , 300 MHz.

El sistema central π de conjugación proporciona a la porfirina una fuerte corriente de electrones en el macrociclo que causa apantallamiento en los hidrógenos $-NH$ de los pirroles localizados en su interior provocando una intensa protección desplazándolos a campo alto de -3.09 ppm (1), la señal integra para los dos hidrógenos y confirma que 1.OTf es una porfirina de base libre.

Los ocho hidrógenos de los C-H pirrólicos (2) en principio no son equivalentes, sin embargo, debido al rápido movimiento (dentro de la escala de tiempos de RMN) que ocurre a temperatura ambiente sus señales se promedian y sólo se observa una señal singulete a campo bajo de 9.24 ppm ya que estos están desprotegidos por el efecto de conjugación del anillo.

La señal a mayor campo bajo es un doblete en 9.71 ppm y corresponde a los hidrógenos en posición orto al nitrógeno con carga positiva del piridinio (4) debido al efecto electroattractor de este mismo; el doblete a 9.07 ppm corresponde a los hidrógenos en posición meta (3).

Los ocho hidrógenos de los metilenos $-CH_2-$ (5) se encuentran como una señal singulete en 6.27 ppm, relativamente a campo más bajo por la fuerza electroattractora de los nitrógenos con carga positiva. El grupo fenilo se presenta en dos señales: un doblete de los hidrógenos adyacentes al carbono *ipso* a 7.94 ppm (6) y un multiplete en 7.65 ppm perteneciente a los hidrógenos restantes 7-8. En la Fig. 4.2 se muestra la expansión del espectro de 5.8 a 9.8 ppm.

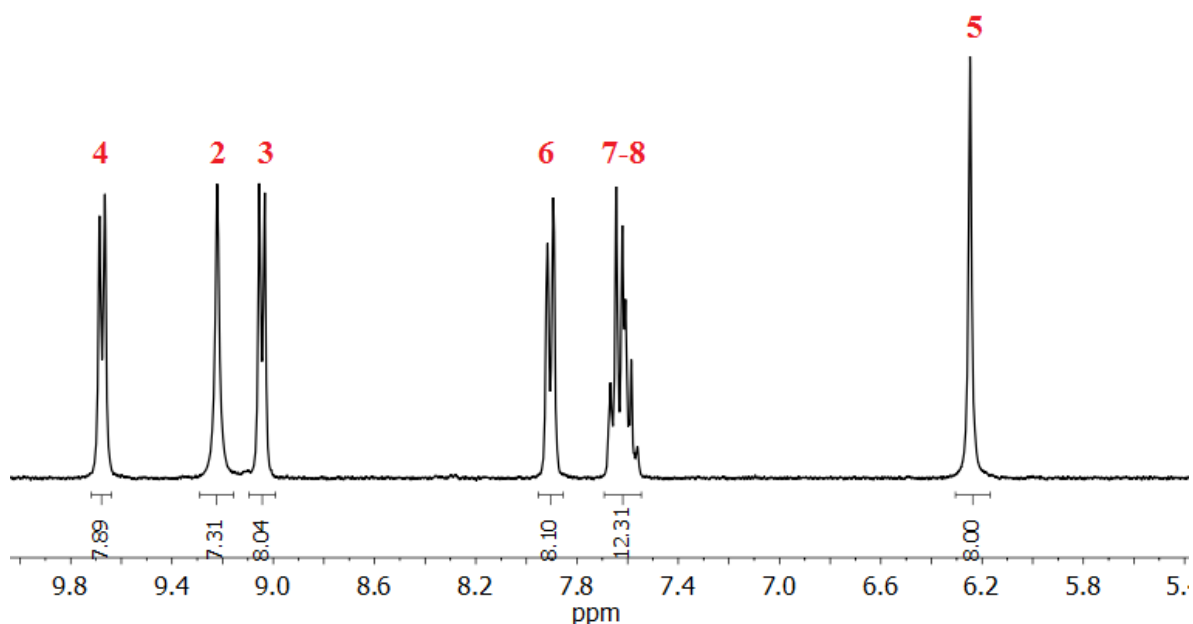


Fig. 4.2 Expansión del espectro de RMN de 1H de 1.OTf, DMSO d_6 , 300 MHz.

RMN de ^{13}C

Para explicar el espectro de RMN de ^{13}C de 1.OTf se usará el sistema de numeración y nomenclatura Fisher de las porfirinas.

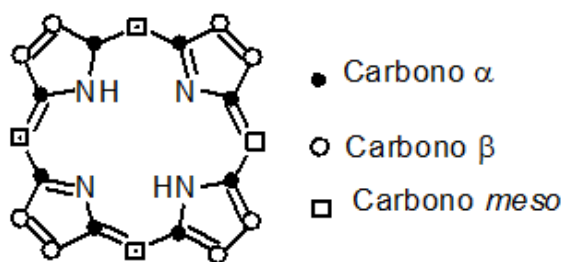


Fig. 4.3 Sistema Fischer para el anillo de la porfirina.

En la Fig. 4.4 se muestra el espectro de RMN de ^{13}C de 1.OTf. Se ha reportado que porfirinas meso-tetrasustituidas presentan señales de sus carbonos α y β de baja intensidad y anchas. Dado que éste efecto es ausente en metaloporfirinas y porfirinas dianiónicas, se propuso que se debe al tautomerismo NH entre los sitios α y β de porfirinas de base libre, reflejándose más en los carbonos α , que en muchos casos están cerca de la coalescencia a temperatura ambiente y no llegan a detectarse.⁴⁹

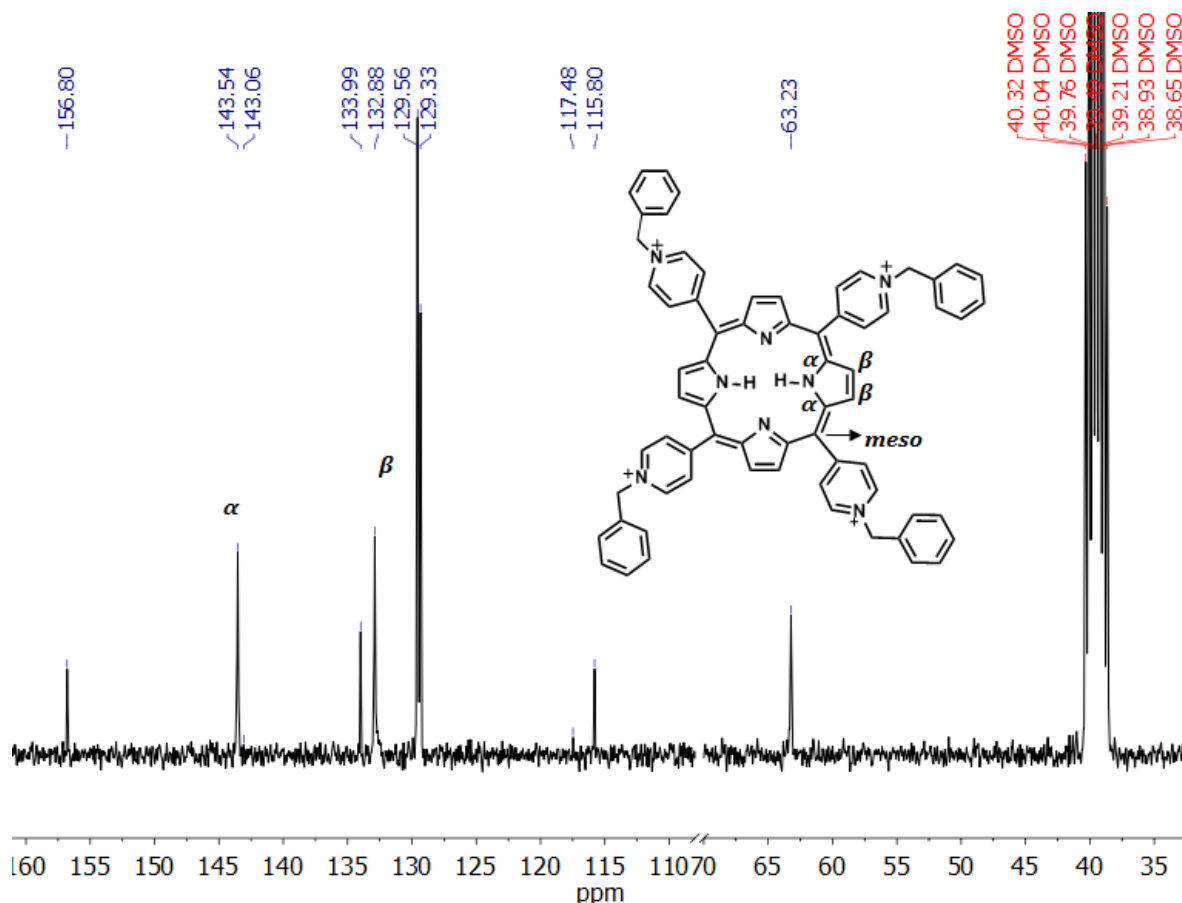


Fig. 4.4 Espectro de RMN de ^{13}C de 1.OTf en DMSO d_6 , 300 MHz.

Para el caso de 1.OTf los carbonos β se asignan a las señales con desplazamientos entre 129.33 y 133.99 ppm, las cuales se traslapan con los carbonos del fragmento de bencilpiridinio; la señal en 132.88 ppm se observa ancha por el tautomerismo NH mencionado.

Los carbonos α se encuentran desplazados a campo más bajo que los β , por lo tanto la señal ancha en 143.54 ppm se les asigna.

Los carbonos *meso* se sitúan en 117.48 ppm, señal de mínima intensidad por la naturaleza de carbonos cuaternarios.⁵⁰

Finalmente, los carbonos de los metilenos puente entre el fenilo y piridinio se presentan en 63.23 ppm, relativamente a campo bajo porque son adyacentes al nitrógeno con carga positiva.

RMN de ^{19}F

El espectro de RMN de ^{19}F para 1.OTf muestra la señal típica del anión triflato como contranión en -77.75 ppm en DMSO d_6 , demostrando que es la única especie con flúor presente.

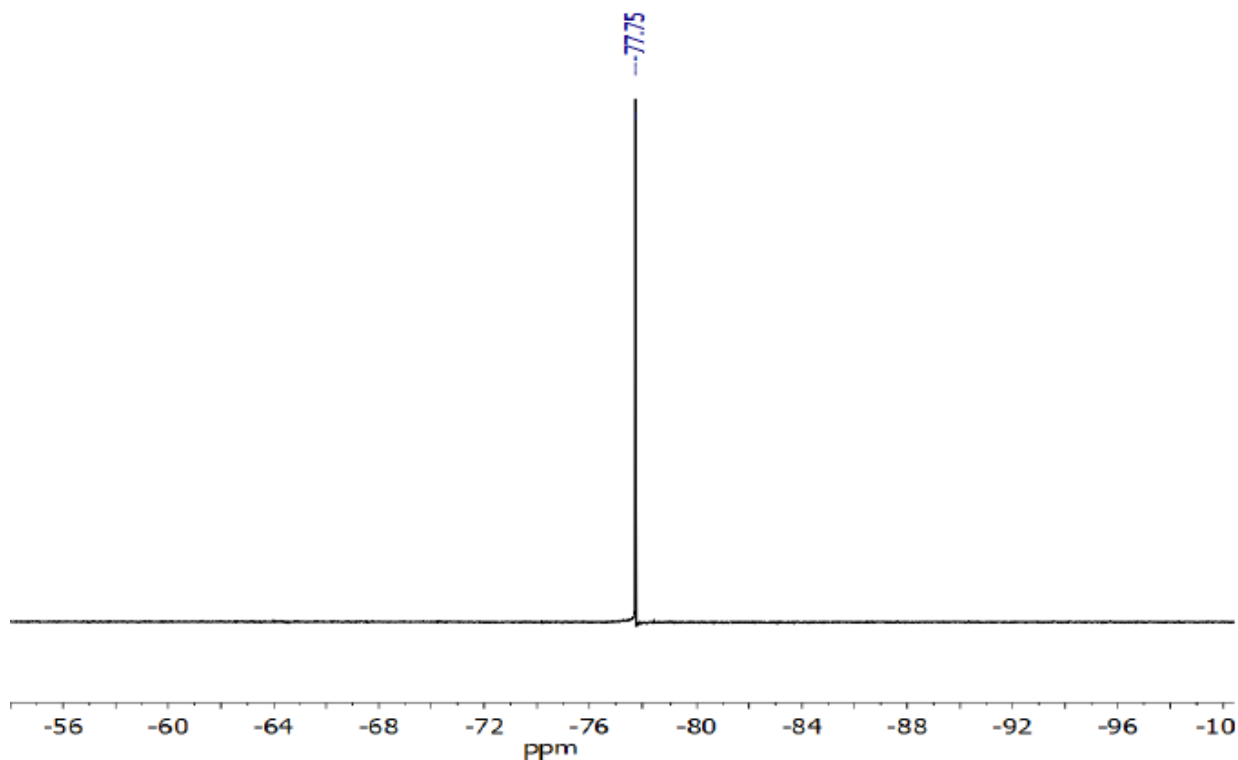


Fig. 4.5 Espectro de RMN de ^{19}F de 1.OTf en DMSO d_6 . 300 MHz.

Espectroscopía de masas de Ionización por electrospray ESI⁽⁺⁾

La ionización por electrospray (ESI) es una técnica de espectrometría de masas en la cual los analitos son ionizados para adquirir cargas positivas o negativas, luego un electrospray utiliza energía eléctrica para transferir los iones en solución a fase gaseosa para que lleguen a diferentes

partes del detector de acuerdo a masa/carga (m/z). Es una técnica de "ionización suave", ya que hay muy poca fragmentación. Esto es ventajoso en el sentido de que siempre se observa el ion molecular⁵¹. Por éstas razones se usó esta técnica para caracterizar a 1.OTf.

1.OTf al ser analizado por ESI⁽⁺⁾ se convierte en una especie catiónica con tres iones triflato con una relación m/z de 1430.3, Fig. 4.6.

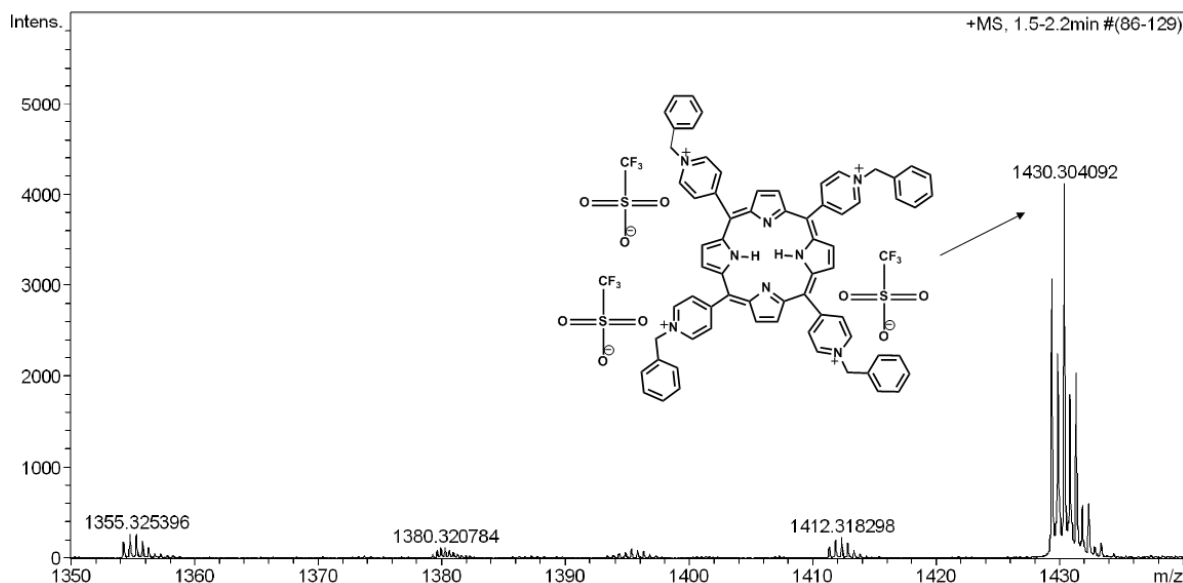
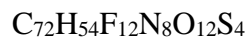


Fig. 4.6 Espectro de masas (ESI⁺) de 1.OTf en MeOH.

Análisis Elemental



Teórico: C, 54.75; H, 3.45; N, 7.09

Experimental: C, 54.73; H, 3.48, N, 7.07.

IR-ATR

1.OTf (cm^{-1}): 3268 (w, N-H), 3114 (w, Ar-H), 1668 (s, br, C=C, C=N+), 1666 (m, Ar-H), 1610 (m, Ar-H), 1564 (m, br), 1240 (s, OTf -), 1092 (s), 805 (m), 740 (m).

1.Br (cm^{-1}): 3409 (w, N-H), 3027 (w, Ar-H), 1633 (s, br, C=C, C=N+), 1442 (m, br), 977 (m), 721 (m).

2. Análisis estructural por difracción de rayos X de monocristal

En ésta sección se describen las estructuras cristalinas por difracción de rayos X de monocristal de 1.Br y 1.OTf, en la Tabla 4.1 se presentan sus datos cristalográficos y de refinamiento más importantes.

Tabla 4.1. Datos Cristalográficos y de refinamiento de 1.Br y 1.OTf

	1.Br	1.OTf
Fórmula Empírica	C ₆₈ H ₅₄ Br ₄ N ₈	C ₇₂ H ₆₁ F ₁₂ N ₈ O ₁₆ S ₄
Peso molecular	1302.83 g/mol	1655.21 g/mol
Temperatura	100(2) K	293(2) K
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P-1	P2 ₁ /c
a	8.7177(3) Å	10.4506(4) Å
b	13.1930(4) Å	15.6166(6) Å
c	13.7243(4) Å	22.3537(9) Å
α	84.8884(15)°	90°
β	82.3931(16)°	90.417(2)°
γ	83.5311(18)°	90°
Volumen	1550.20(8) Å ³	3648.1(2) Å ³
Z	1	2
Densidad (calculada)	1.396 Mg/m ³	1.507 Mg/m ³
Coefficiente Absorción	3.531 mm ⁻¹	2.177 mm ⁻¹
F(000)	658	1703
Tamaño del cristal	0.089 x 0.077 x 0.063 mm ³	0.487 x 0.285 x 0.150 mm ³
Rangos de índice	-10<=h<=9, -16<=k<=15, 16<=l<=16	-12<=h<=12, -18<=k<=18, - 26<=l<=26
Reflexiones	26847	50051
Reflexiones independientes	5720 [R(int) = 0.0270]	6684 [R(int) = 0.0348]
Método de Refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²	
Bondad de ajuste en F ²	1.035	1.036
Índices R[I>2sigma(I)]	R1 = 0.0584, wR2 = 0.1510	R1 = 0.0440, wR2 = 0.1264

2.1. Estructura cristalina 1.Br

El compuesto **1.Br**⁻ cristalizó en el sistema triclínico en el grupo espacial P-1 (Fig. 4.7) Los datos cristalográficos y de refinamiento están en la Tabla 4.1. La unidad asimétrica contiene la mitad de la molécula de porfirina y dos átomos de bromuro que presentan un desorden ocupacional en seis coordenadas diferentes, la ocupación de los átomos de bromuro es 55.95%, 50.79%, 50.90%, 32.85%, 5% y 4.51%, los cuatro átomos de bromuro con ocupación mayoritaria se muestran en la Fig. 4.7. El macrociclo de tetrapirrol es plano; los anillos piridinio unidos a los metilenos en la porfirina se colocan en dos disposiciones diferentes. El primer anillo piridinio forma una disposición casi ortogonal entre el plano formado por la porfirina y el anillo piridinio, con un ángulo entre planos de 81.3°, mientras que el segundo anillo de piridinio forma un ángulo entre planos de 57.3°. Los átomos de hidrógeno N-H en el núcleo de la porfirina forman interacciones de enlace de hidrógeno intramolecular con el átomo de nitrógeno de los pirroles no protonados.

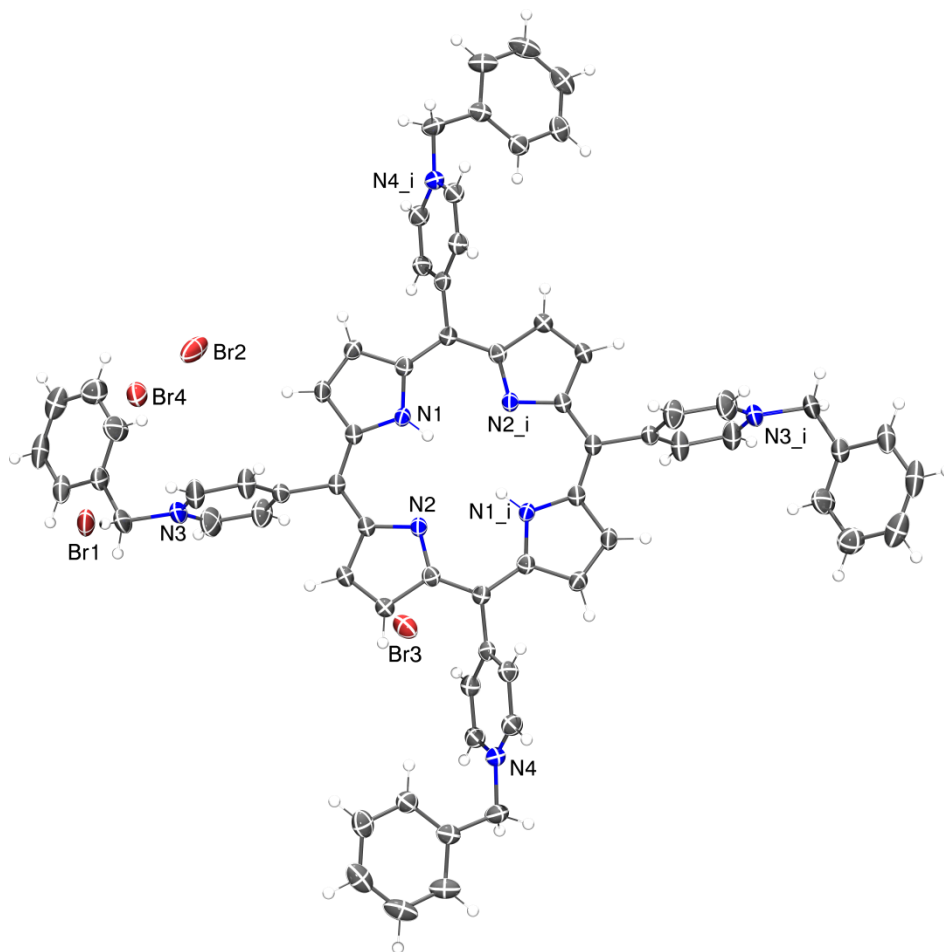


Fig. 4.7. Vista en perspectiva de la estructura molecular de **1.Br**. Los elipsoides se dibujan al nivel de probabilidad del 50%, código de simetría para i: 1-x, -y, -z.

Los resultados cristalográficos para $1.Br^-$ en el empaquetamiento muestran contactos cortos $4CH \cdots Br1^-$ y $5CH \cdots Br1^-$ alrededor de las cargas positivas (N^+-CH_2-) con distancias $H \cdots Br$ en el intervalo de 2.765 a 3.036 Å (Fig. 4.8).

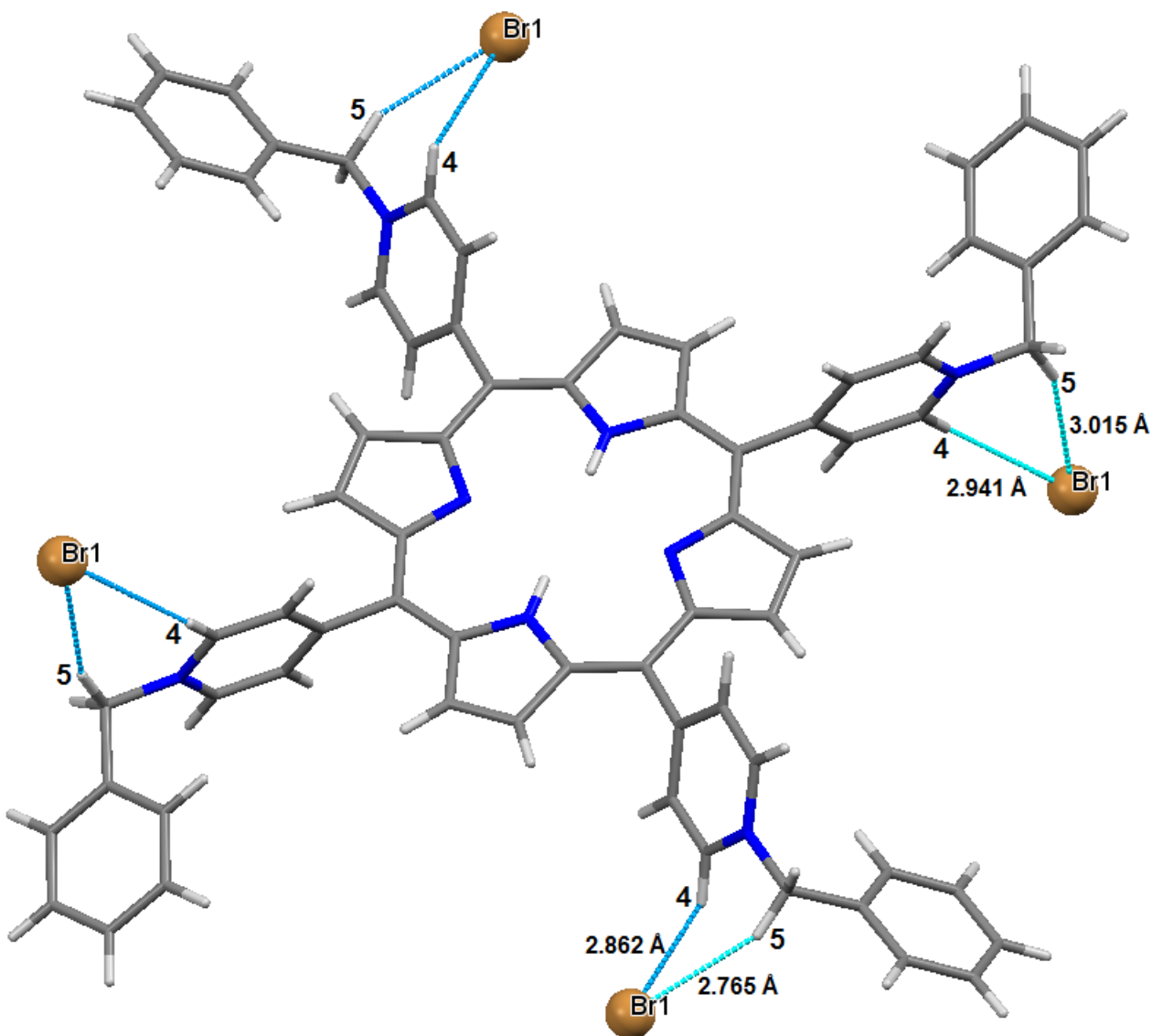


Fig. 4.8 Interacciones enlace de hidrógeno $C-H \cdots Br^-$ en el cristal de $1.Br$

Cada anión bromuro ($1.Br^-$) es enlazado a través de ocho interacciones $C-H \cdots Br^-$ con grupos CH aromáticos y alifáticos de los anillos piridinio y fragmentos metileno de las cuatro porfirinas catiónicas vecinas, como se muestra en la Fig. 4.9. Las distancias $5-CH \cdots Br^-$, 2.765 (5) Å, en el cristal $1.Br^-$ son prácticamente las mismas que para el valor promedio de las interacciones comunes de enlaces de hidrógeno, (NC) $C_{sp^2}-H \cdots Br^-$, 2.75 (2) Å y $Cl_2C(sp^3)-H_2 \cdots Br^-$, 2.73 (4) Å. Los resultados cristalográficos descritos en el presente documento sugieren que los fragmentos de N-bencilpiridinio podrían usarse como unidades receptoras para sensores de yoduro/bromuro.

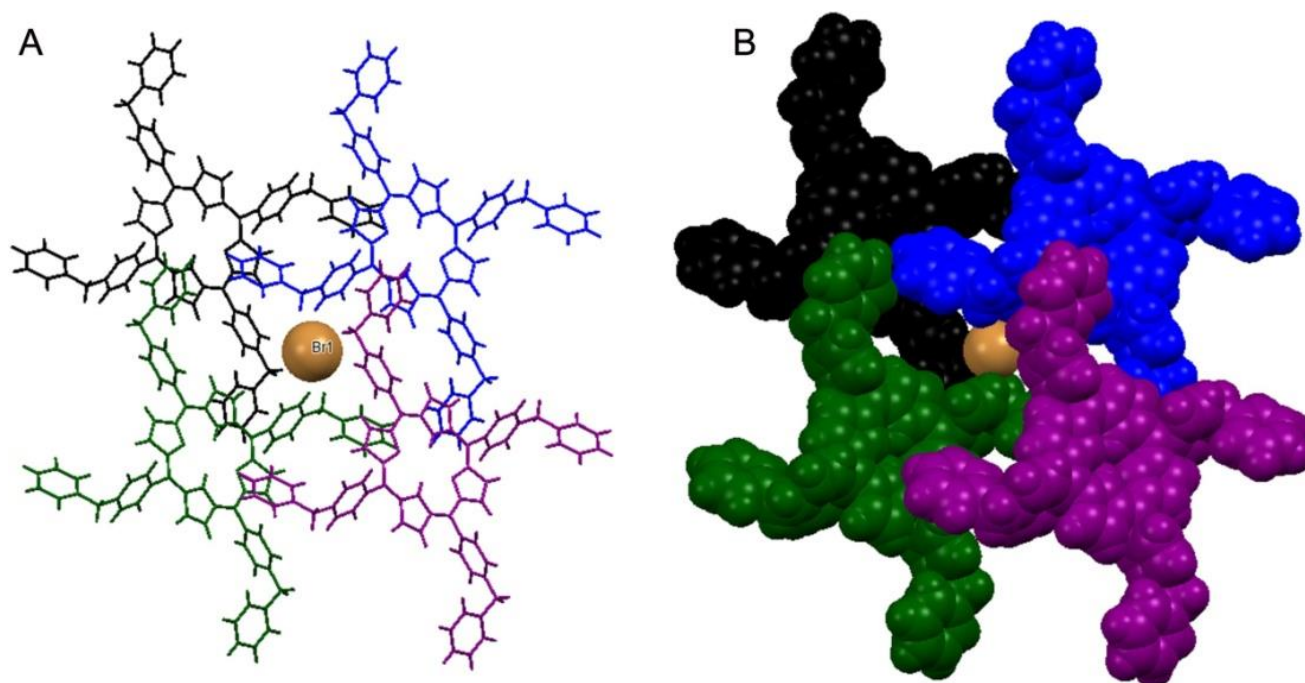


Fig. 4.9. Modelos de palos (A) y relleno espacial (B) de un fragmento de la estructura cristalina de **1·Br**, que muestra la encapsulación de iones bromuro por cuatro porfirinas catiónicas vecinas a través de los contactos $\text{CH}\cdots\text{Br}^-$ (se omitieron tres iones bromuro por claridad).

2.2. Estructura cristalina 1.OTf

Los datos obtenidos de difracción de rayos X de monocristal de **1.OTf** no son de calidad confiable debido al grado de desorden de las moléculas de triflato y agua en el cristal. Sin embargo, se realizó un modelo de conectividad y con este se hará una comparación con el monocristal de **1.Br**.

La diferencia principal entre las estructuras cristalinas de **1.Br** y **1.OTf** son los contraiones que mantienen la neutralidad eléctrica de la porfirina, dando por consiguiente diferentes tipos de interacciones intermoleculares que estabilizan sus redes cristalinas y conformaciones supramoleculares.

El compuesto **1.OTf** cristalizó en el sistema monoclinico en el grupo espacial $\text{P2}_1/\text{c}$ (datos cristalográficos y de refinamiento en Tabla 4.1). La unidad asimétrica contiene la mitad de la molécula de porfirina, dos moléculas de agua y dos moléculas de triflato cuyos átomos de flúor, oxígeno y azufre se encuentran en posiciones desordenadas, los de ocupación mayoritaria se muestran en la Fig. 4.10. En éste cristal la interacción porfirina tetracatiónica con los triflatos como contraiones es meramente electrostática a diferencia de **1.Br** en donde además de la fuerza eléctrica intervienen enlaces de hidrógeno débiles del tipo $\text{C-H}\cdots\text{Br}^-$, debido a esto, el ángulo entre el plano

de la porfirina y el primer anillo piridinio mide 85.15° acercándose más a la ortogonalidad que el ángulo de **1.Br**, mientras que con el segundo anillo piridinio el ángulo entre planos es de 61.54° , 4.24° más que en **1.Br**.

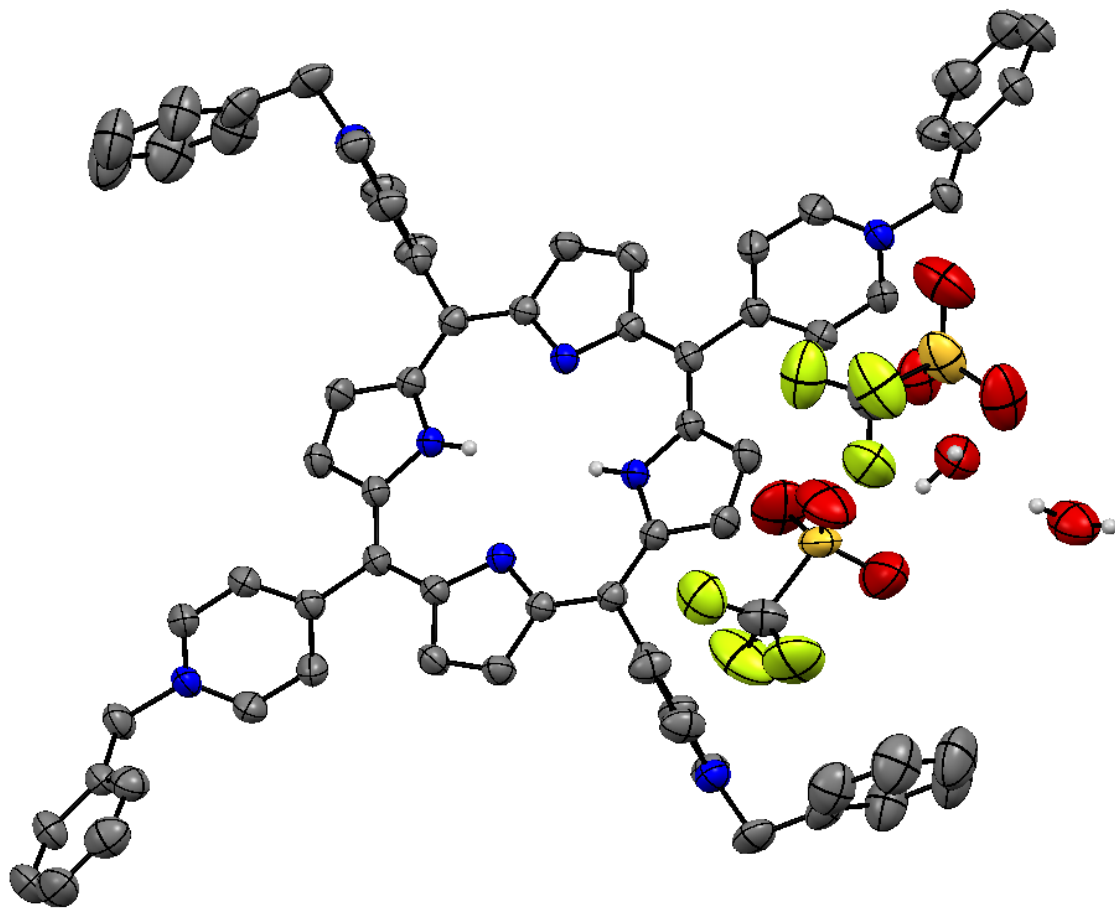


Fig. 4.10. Vista en perspectiva de la estructura molecular de la sal de triflato de **1.OTf**. Los elipsoides se dibujan al nivel de probabilidad del 50%, se omiten hidrógenos de porfirina para mayor claridad.

3. Estudios de reconocimiento molecular y detección de aniones

3.1. Titulación de RMN de ^1H

La primera evidencia de la asociación de yoduro con la sal de porfirina **1.OTf**, fue obtenida por una titulación de RMN de ^1H . La adición de NaI (4.0 equiv.) a una solución de **1.OTf** (2.0 mM) en DMSO- d_6 /D $_2$ O (1/1, v/v) indujo un considerable desplazamiento a campo bajo ($\Delta\delta=0.75$ ppm) de los metilenos adyacentes 5-CH $_2$ a los átomos de N $^+$ con simultáneo desplazamiento ($\Delta\delta=0.50$ ppm) de los átomos de hidrógeno 4-CH aromáticos correspondientes a la posición orto de los anillos de piridina (ver Fig. 4.8) que sugieren las interacciones de enlace de hidrógeno CH \cdots I.^{52,53} La adición de 2.0 equiv. de yoduro ensancha las señales de los ocho hidrógenos de los pirroles y disminuye la intensidad; al aumentar la concentración de NaI (≥ 8.0 mM) da como resultado la formación inmediata de un precipitado, posiblemente por la autoagregación inducida por el incremento de la fuerza iónica²⁴ el cual que no se observa a baja concentración. El cambio del desplazamiento químico de estos protones con el aumento de la concentración de NaI (0-3.8 equiv.) se ajusta perfectamente a una isoterma de unión 1:1 (Fig. 4.12) con una constante de asociación $K_{1,I^-} = 1520 \pm 70 \text{ M}^{-1}$.

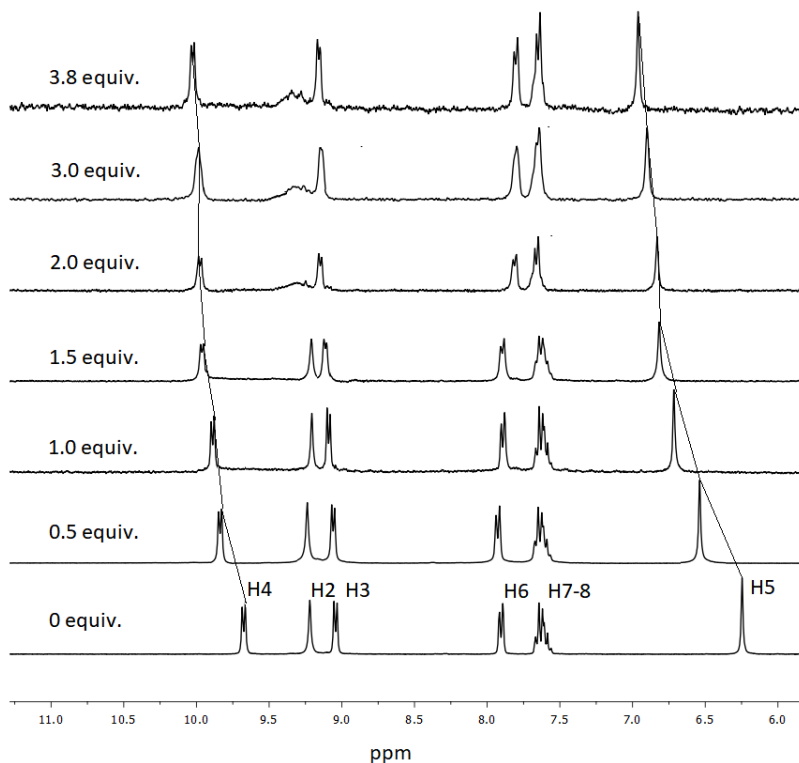


Fig. 4.11 Cambio espectral de RMN de ^1H de **1.OTf** (2.0 mM) en DMSO- d_6 /D $_2$ O (1/1, v/v) durante la adición de hasta 3.8 equiv. de NaI.

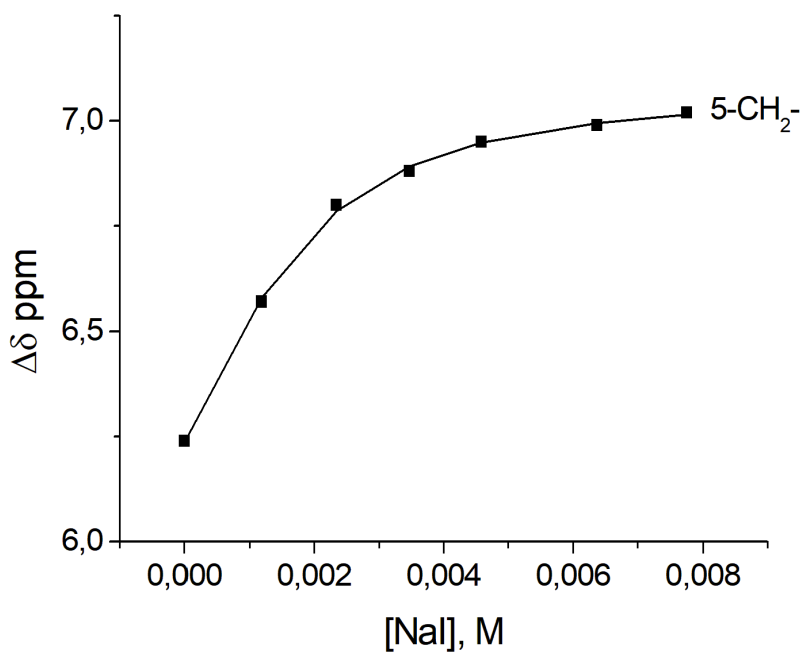


Fig. 4.12 Perfil que se ajusta a un modelo de unión 1: 1 para los protones de metileno 5-CH₂-(B).

También se realizaron estudios de titulación de RMN de ¹H para bromuro, cloruro y fosfato por comparación. La adición de NaBr produce desplazamientos modestos a campo bajo de los hidrógenos 4-CH ($\Delta\delta=0.11$ ppm) y 5-CH ($\Delta\delta=0.18$ ppm), pero son significativamente más bajos que los observados con NaI. La constante de unión para el bromuro se calculó en las mismas condiciones que en la Fig. 4.12 y resultó con un valor resultante de $K_{1.Br^-} = 120 \pm 10 M^{-1}$, un orden de magnitud inferior al de yoduro. La adición de cloruro y fosfato no genera desplazamiento de las señales de la porfirina.

3.2. Propiedades Fotofísicas de 1.OTf

Antes de describir los resultados más importantes de la detección de aniones con 1.OTf por espectroscopía de fluorescencia y de absorción UV-Vis es importante hacer hincapié en sus propiedades fotofísicas.

1.OTf es soluble en agua en concentraciones milimolares y su espectro de absorción UV-Vis corresponde al esperado para una porfirina tetra-sustituida en las posiciones meso.²² Presenta su banda máxima de absorción Soret a 429 nm y cuatro bandas Q a 517, 556, 591 y 649 nm, espectro típico para porfirinas monoméricas asimétricas de base libre. Ver Fig. 4.13

Martin Gouterman propuso por primera vez en 1960 el modelo de los cuatro orbitales para explicar los espectros de absorción de las porfirinas. (Los niveles electrónicos de las moléculas: fundamental, primer nivel excitado y segundo nivel excitado son representados por S_0 , S_1 , y S_2 , respectivamente). Según esta teoría, las bandas de absorción surgen de las transiciones electrónicas $\pi^* \leftarrow \pi$ entre los dos orbitales moleculares ocupados de más energía (HOMO) y los dos orbitales moleculares desocupados de más baja energía (LUMO) dentro de un anillo macrocíclico de 18 miembros. Por lo tanto, la banda Soret corresponde a la transición del estado fundamental al segundo estado excitado $S_2 \leftarrow S_0$ y se asigna como $a_{2u} \rightarrow e_g$ (transición con intervención de los pares de electrones libres de los nitrógenos del pirrol). Las bandas Q denotan la transición del estado fundamental al primer estado excitado $S_1 \leftarrow S_0$ y se asignan a_{1u} , $a_{2u} \rightarrow e_g$ (transferencia de carga de los carbonos de pirroles a los otros átomos del macrociclo).²⁵ Las transiciones entre estos orbitales dan lugar a los estados excitados, la mezcla de los orbitales los divide creando un estado de alta energía con mayor fuerza del oscilador, dando lugar a la banda de Soret, y un estado de menor energía con menos fuerza del oscilador, dando las bandas Q las cuales están débilmente influenciadas por la presencia de grupos periféricos en las porfirinas sustituidas.⁵⁴ Fig. 4.14

Otra interpretación, en particular para el tipo de transiciones ha sido discutido por Corwin *et al.* En el análisis sostienen que las bandas de absorción potencialmente surgen a partir de las transiciones $\pi^* \leftarrow n$ y $\pi^* \leftarrow l$ del par de electrones solitario en los nitrógenos del anillo macrocíclico. Hasta la fecha no existe un modelo capaz de predecir con exactitud el espectro de absorción del estado fundamental de las porfirinas de base libre.²²

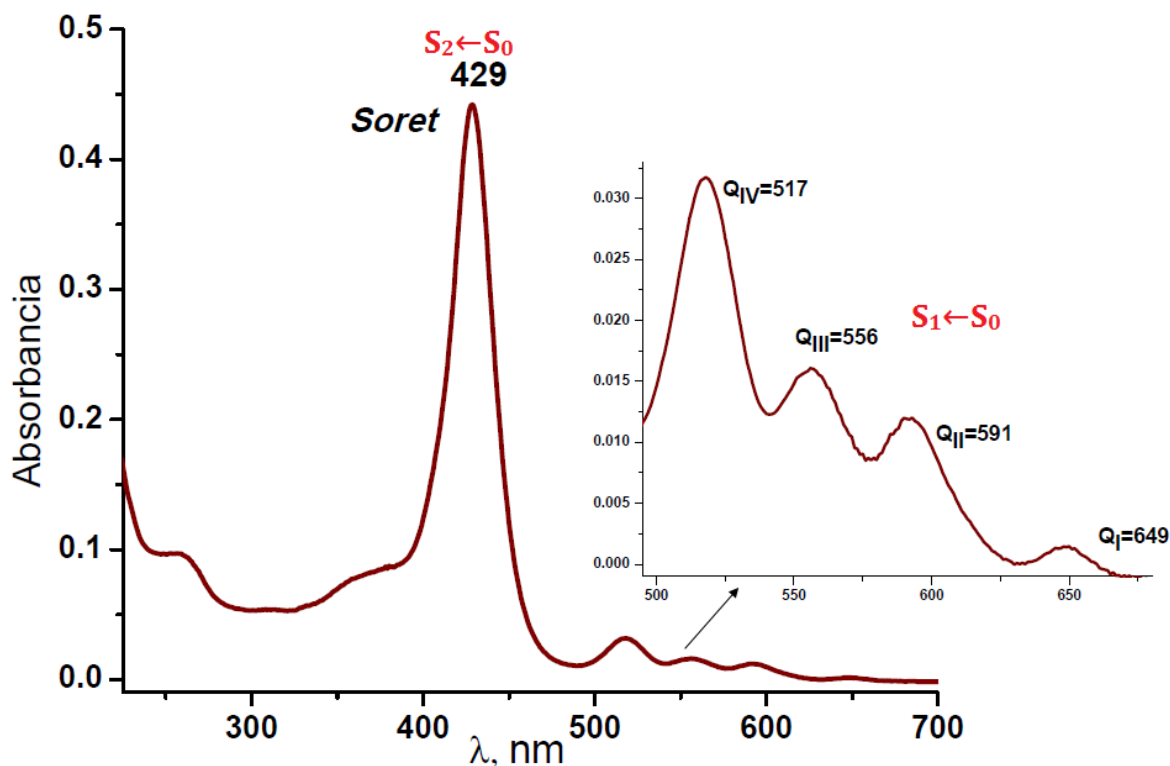


Fig. 4.13 Espectro de absorción de 1.OTf (4 μ M) en H₂O/ MeOH (96:4, v/v) (MOPS 40mM, pH 7.0)

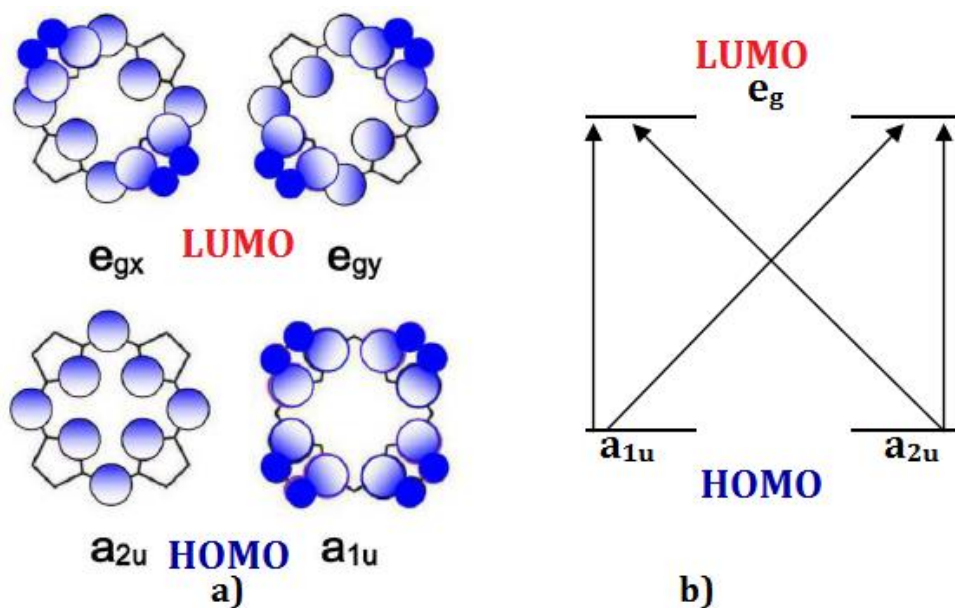


Fig. 4.14 a) Representación de los cuatro orbitales Gouterman en porfirinas. b) Diagrama de orbitales con las posibles transiciones, si bien se muestra que los orbitales están degenerados, las energías relativas reales dependerán de la sustitución de los anillos.

Por otro lado, el espectro de emisión fluorescente consiste en dos bandas de emisión fuerte a longitudes de onda mayor que la banda Q_I (649nm) encontrándose a 658 y 717 nm y se deben a la transición $\pi \leftarrow \pi^*$ ($S_0 \leftarrow S_1$).²² 1.OTf bajo radiación ultra-violeta de 365 nm emite fluorescencia roja intensa, ver Fig. 4.15.

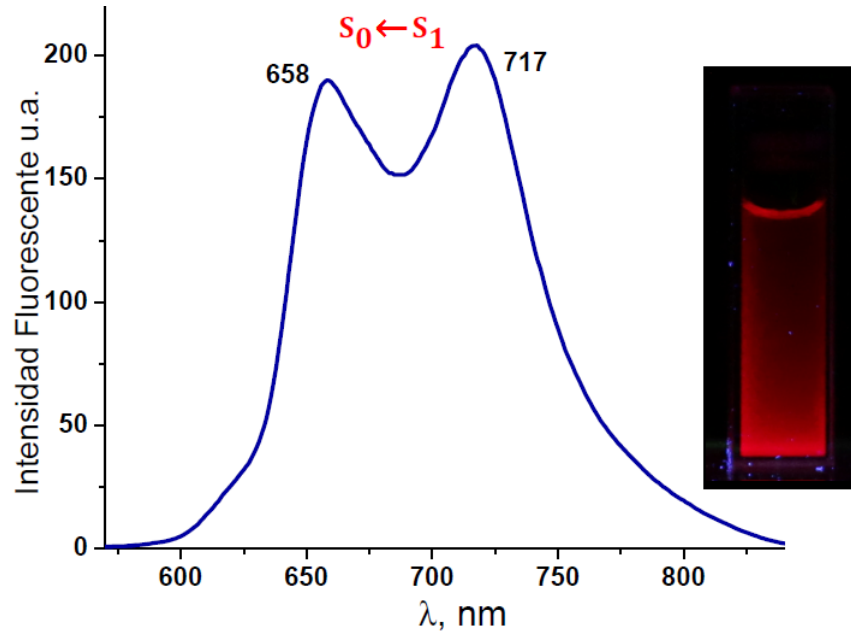


Fig. 4.15 Espectro de emisión fluorescente de 1.OTf ($\lambda_{exc} = 430$ nm) en $H_2O/MeOH$ (96:4, v/v) (Buffer MOPS 40mM, pH 7.0) y 1.OTf bajo irradiación de luz UV a 365 nm.

Tabla 4.2 Absorción y emisión de 1.OTf (4 μ M) en $H_2O/MeOH$ (96:4, v/v) MOPS 40mM, pH 7.0)

Absorción		Emisión
λ (nm)	log ϵ	λ (nm)
<i>Soret</i> 429	5.04	658
<i>Q_{IV}</i> 517	4.50	
<i>Q_{III}</i> 556	4.20	717
<i>Q_{II}</i> 591	4.07	
<i>Q_I</i> 649	3.17	

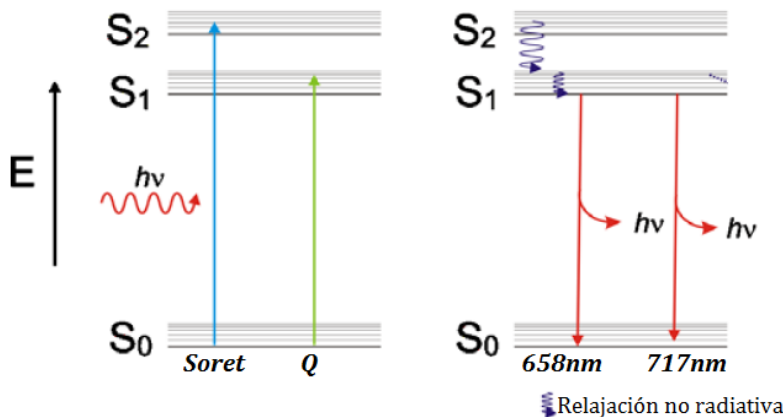


Fig. 4.16 Diagrama de Jablonski propuesto para los procesos de absorción y emisión fluorescente en porfirinas tetrasustituidas.²²

3.3. Estudios por espectroscopía de fluorescencia

Las soluciones acuosas de **1.OTf** bajo excitación de 430nm emiten en el rojo, con máximos de emisión a 658 y 717nm, cualidad atribuida a la estructura del anillo de la porfirina con un total de 26 electrones π de los cuales 18 electrones π forman el ciclo continuo de resonancia, plano y rígido. Valiéndonos de ésta propiedad, se efectuaron titulaciones de espectrofotometría de emisión fluorescente de **1.OTf** a concentración 4 μM con aniones inorgánicos y acetato en $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (96:4, v/v) y en un medio buffer MOPS 40mM pH 7.4. Las soluciones de **1.OTf** a las condiciones mencionadasse mantuvieron estables durante varios días y siguieron la ley de Lambert-Beer hasta 20.0 μM .

La titulación de **1.OTf** (4.0 μM) con NaI (0-42.0 μM) indujo una extinción total de la fluorescencia roja como se muestra en la Fig. 4.17. El perfil de Stern-Volmer a 658 nm ($\lambda_{\text{exc}}=430$ nm) muestra un perfil curvado hacia arriba tras la adición de NaI, pero al aumentar la concentración de dicho anión presenta comportamiento lineal (recuadro de la Fig. 4.17).

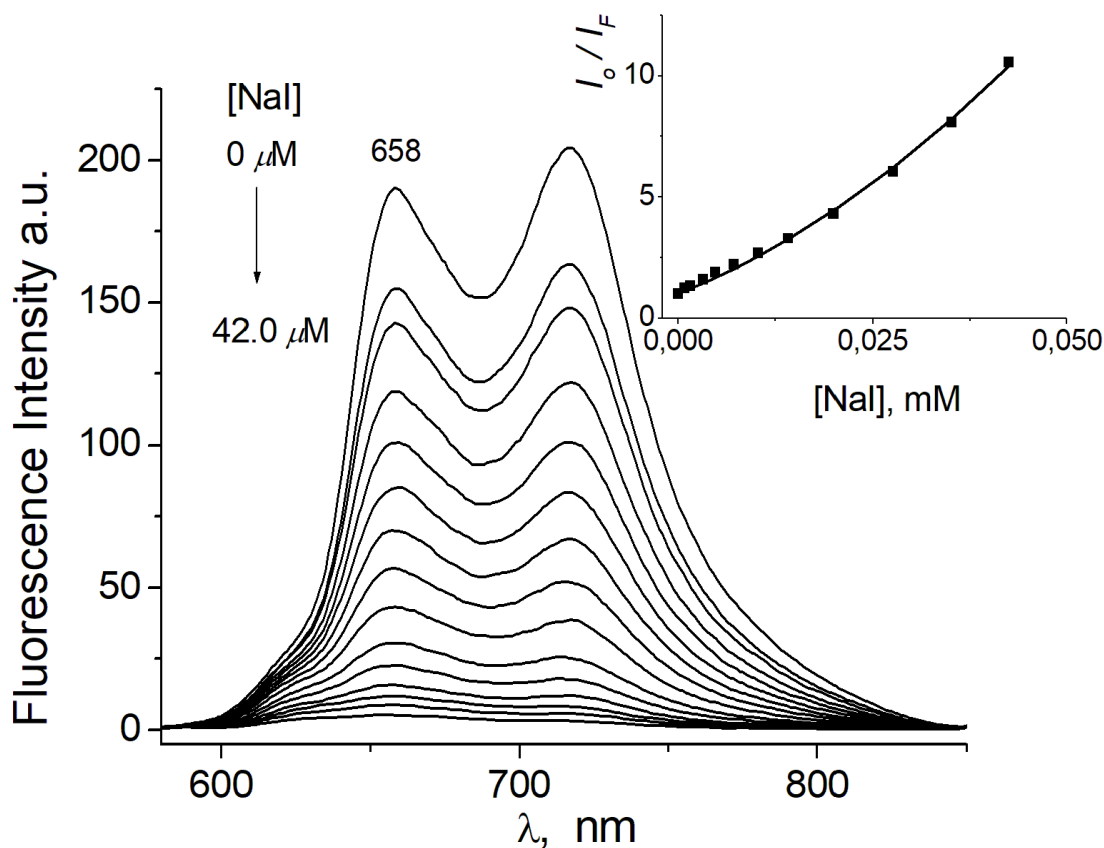


Fig. 4.17. Titulación fluorimétrica ($\lambda_{\text{exc}} = 430$ nm) de **1.OTf** (4.0 μM) con NaI (0- 42.0 μM) en agua neutra (40.0 mM MOPS, pH = 7.4). El recuadro muestra la gráfica de Stern-Volmer a 658 nm. La línea continua se obtuvo ajustando la ecuación correspondiente (1).

Los perfiles de Stern-Volmer dan información de los procesos fotofísicos que suceden con la concentración de un inhibidor de la fluorescencia (en éste caso el inhibidor es el anión yoduro), se determinan con gráficas $[Q]$ vs I_0/I_F , donde $[Q]$ es la concentración del inhibidor, I_0 la intensidad de emisión de la especie fluorescente antes de la adición del anión y I_F la intensidad de emisión en presencia del anión. El perfil de Stern-Volmer del recuadro de la Fig. 4.17 puede ajustarse perfectamente a la ecuación (1) propuesta por Fabbrizzi *et al.*,⁵⁵ que tiene en cuenta la **extinción estática y dinámica** simultáneas cuando la complejación (fluoróforo-anión) en el estado fundamental apaga la emisión por completo. Las dos especies forman dicho complejo estable no fluorescente, por lo que una parte del apagamiento se atribuye a colisiones y otra a la formación del complejo. El perfil se caracteriza por tener un comportamiento parabólico, por lo que se hace uso de la ecuación:

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV} [anion])(1 + K_A[anion]) \quad (1)$$

Los parámetros pertinentes para I son $K_{1,I} = 1.9 (\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ y $K_{SV} = 1.1 (\pm 0.1) \times 10^5$. El perfil de Stern-Volmer con yoduro muestra una curvatura ascendente a altas concentraciones que puede ser atribuida a la extinción tanto estática como dinámica. Posteriormente se llevaron a cabo las titulaciones de 1.OTf (4.0 μM) con los aniones Br^- , Cl^- , F^- , CN^- , H_2PO_4^- , H_3AsO_4^- , HCO_3^- , NO_3^- , $\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7^-$, SO_4^{2-} y CH_3COO^- como sales de sodio, todos con concentración $[\text{X}^-] = 50 \mu\text{M}$ (12.5 eq.) en $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (96:4, v/v) y medio buffer MOPS 40mM, pH 7.4. Con estos aniones se observó la disminución gradual de la intensidad de emisión a 648 nm, pero no considerable como el apagamiento total de la emisión con yoduro. Así, todos los oxoaniones, fluoruro y cianuro dieron una respuesta muy baja (Fig. 4.18).

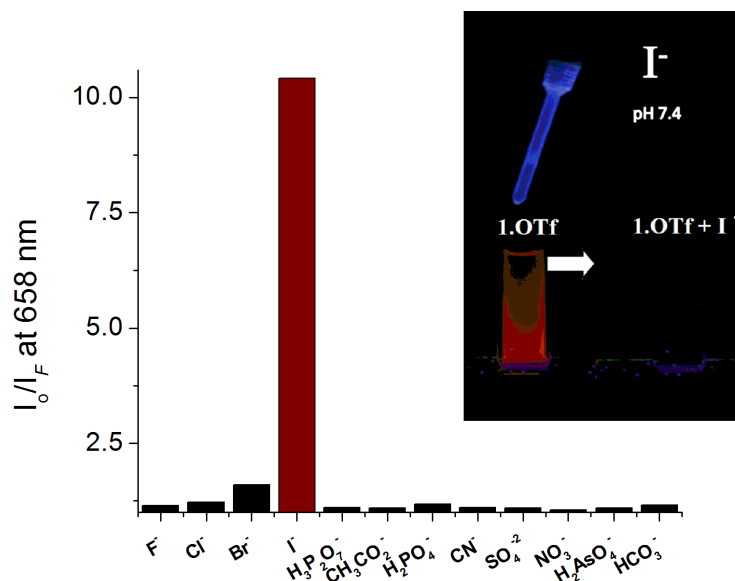


Fig. 4.18 Histograma que muestra la extinción de la emisión de 1.OTf (4 μM) a 648 nm con diferentes aniones como sales de sodio 200.0 μM . En el recuadro, 1.OTf bajo luz UV a 365 nm tras la adición de I^- .

En las Figuras 4.19-4.20 se presentan los cambios en los espectros de emisión de 1.OTf tras la adición de los aniones mencionados.

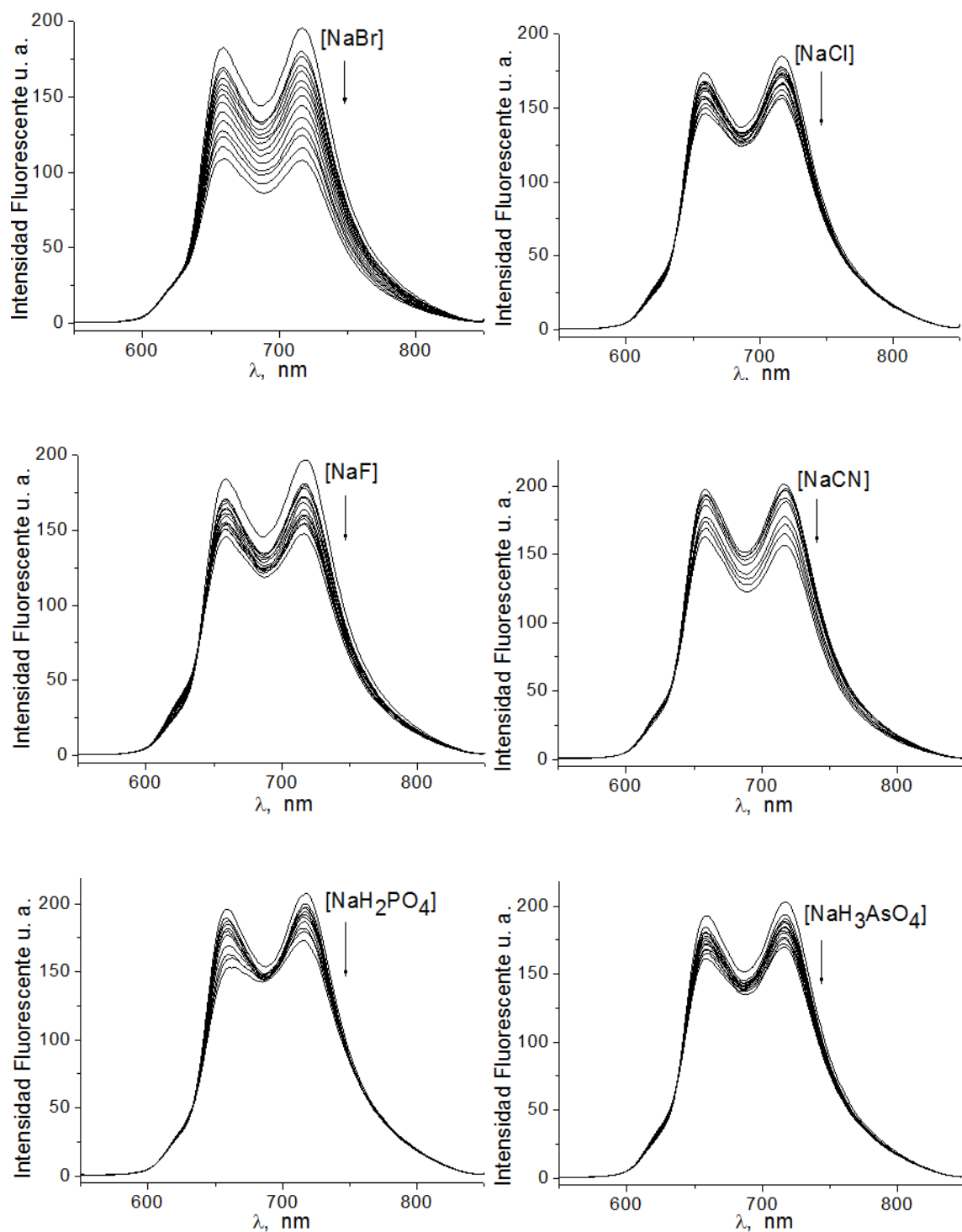


Fig. 4.19 Cambios en los espectros de emisión fluorescente de 1.OTf (4 μM) tras la adición de diferentes aniones (200.0 μM) en H₂O/MeOH (96:4, v/v) (Buffer MOPS 40mM, pH 7.0). La extinción de la fluorescencia no es significativa.

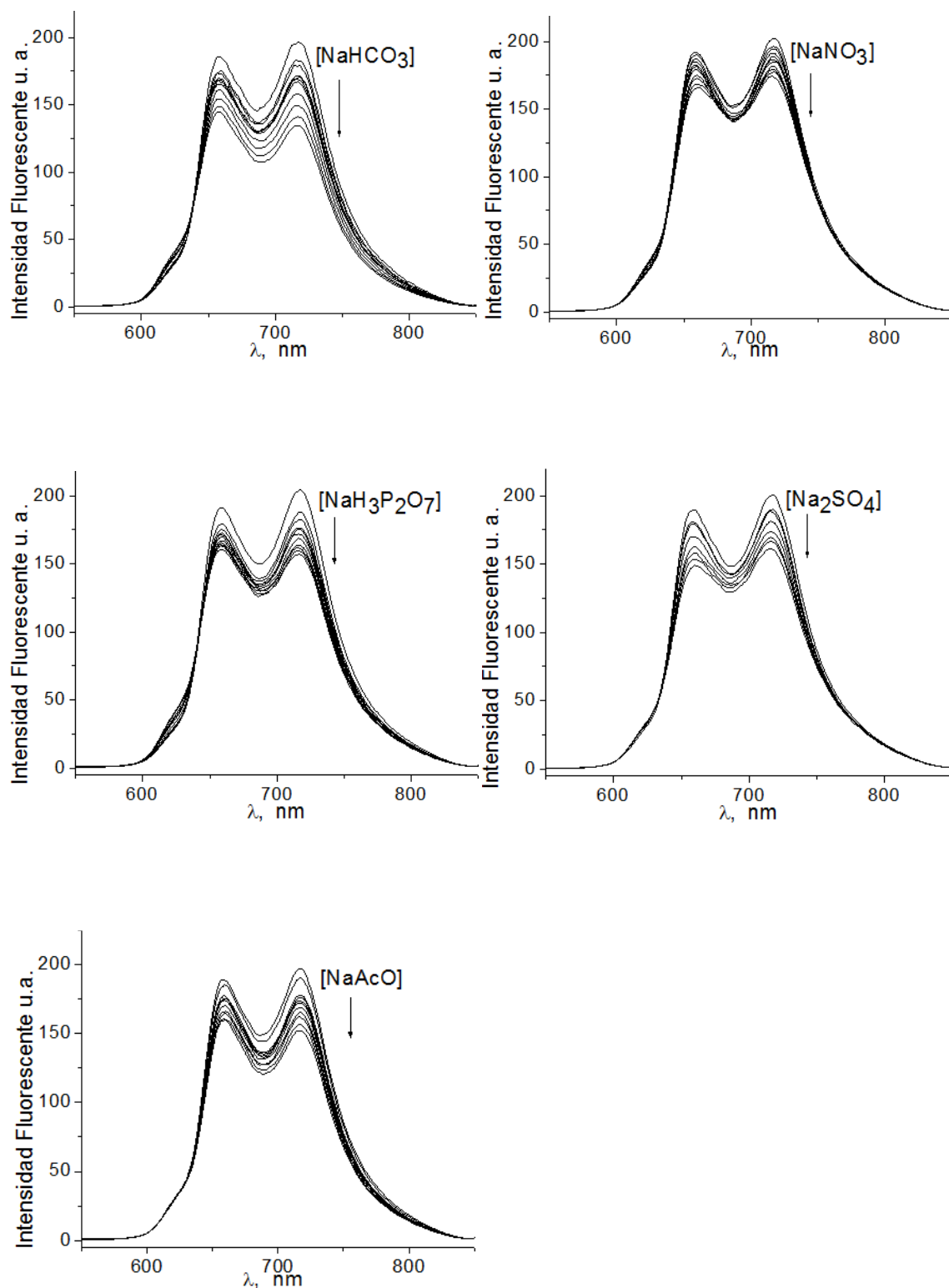


Fig. 4.20 Cambios en los espectros de emisión fluorescente de **1.OTf** (4 μM) tras la adición de diferentes aniones (200.0 μM) en H₂O/MeOH (96:4, v/v) (Buffer MOPS 40mM, pH 7.0). La extinción de la fluorescencia no es significativa.

Los cambios observados con halogenuros pesados y pseudohaluros no son inesperados, especialmente con bromuro y cianuro. Aún así, es notable que el reconocimiento óptico de 1.OTf sea altamente selectivo para I⁻. La adición de NaBr produjo una modesta emisión de extinción ($I_0/I_F \sim 1.6$), pero aún fue significativamente menor que la observada para NaI ($I_0/I_F \sim 10.4$).

En la Fig. 4.21 los perfiles de Stern-Volmer a 658 nm tras la adición de Br⁻, Cl⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻ y CH₃CO₂⁻ en el rango de 0-2 mM, muestran claramente un perfil curvado hacia abajo en concentraciones bajas, pero con dependencia lineal a mayores concentraciones. Estos perfiles pueden ajustarse bien a la ecuación teórica (2), que también considera la extinción estática y dinámica simultáneas, pero la formación del complejo en el estado fundamental no apaga la emisión por completo, entonces el complejo fluoróforo-anión aún tiene una emisión residual calculada como factor ρ . En este caso se considera que el complejo formado es fluorescente por sí mismo, es decir, que la emisión no es completamente inhibida por la especie adicionada. Los parámetros K_a , K_{sv} y ρ del Br⁻ y demás aniones se calcularon en las mismas condiciones que en la Fig. 4.21 y se compilan en la Tabla 4.3.

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{sv} [\text{anion}])(1 + K[\text{anion}]) / (1 + \rho K_A[\text{anion}]) \quad (2)$$

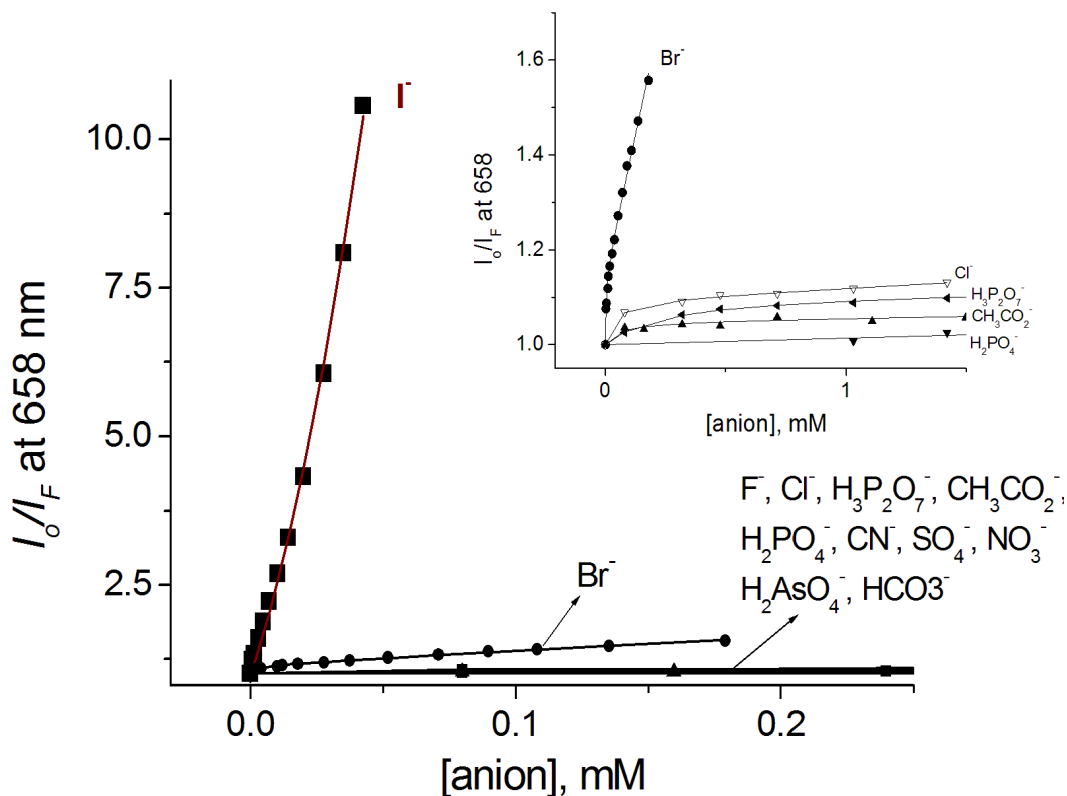


Fig. 4.21. Perfiles Stern-Volmer ajustadas a 658 nm ($\lambda_{ex} = 430$ nm) de 1.OTf (4.0 μ M, MOPS 40 mM, pH 7.4) al agregar aniones inorgánicos.

Tabla 4.3. Parámetros de asociación y extinción de la emisión de 1.OTf con aniones a pH 7.4.

Anión	K_A	K_{SV}	ρ^b	I_o/I_F
F ⁻	$2.6(\pm 0.08) \times 10^2$	1.2 ± 0.1	0.87	1.15
Cl ⁻	$1.9(\pm 0.1) \times 10^3$	8.0 ± 0.5	0.85	1.22
Br ⁻	$7.5(\pm 0.1) \times 10^3$	51.0 ± 1	0.76	1.60
I ⁻	$1.9(\pm 0.08) \times 10^4$	$1.1(\pm 0.1) \times 10^{5a}$	-	10.42
H ₃ P ₂ O ₇ ⁻	$3.1(\pm 0.11) \times 10^3$	24 ± 2	0.89	1.13
CH ₃ CO ₂ ⁻	$4.6(\pm 0.5) \times 10^3$	7.0 ± 0.2	0.90	1.10
H ₂ PO ₄ ⁻	$1.4(\pm 0.4) \times 10^3$	7.0 ± 0.5	0.88	1.18
CN ⁻	-	13 ± 0.8^c	-	1.10
SO ₄ ²⁻	$2.8(\pm 0.2) \times 10^2$	1.0 ± 0.1	0.89	1.15
NO ₃ ⁻	$1.1(\pm 0.03) \times 10$	1.0 ± 0.1	0.93	1.08
H ₂ AsO ₄ ⁻	$4.0(\pm 0.08) \times 10^2$	2 ± 0.1	0.90	1.10
HCO ₃ ⁻	$8.0(\pm 0.2) \times 10$	2 ± 0.1	0.90	1.16

[a] Se usó la ecuación (1)

[b] Se usó la ecuación (2) :

[c] Se usó la ecuación típica de Stern-Volmer .

La constante de unión estimada para yoduro a partir de datos de fluorescencia es inesperadamente alta, $K_{I,I^-} = 1.9 (\pm 0.08) \times 10^4 M^{-1}$, probablemente debido a la formación de exciplex, como se señaló en trabajos anteriores.

Los valores resultantes con bromuro ($K_{I,Br^-} = 7.5 (\pm 0.1) \times 10^3$, $K_{sv} = 51.0 \pm 1$ y $\rho = 0.76$) son 1 y 3 órdenes de magnitud más bajos que para la unión y la extinción del yoduro respectivamente (ver Tabla 4.3). En la Fig. 4.22 se observan soluciones de 1.OTf bajo radiación UV (365nm) antes y después de la adición de sales de sodio de yoduro (extinción total de la emisión roja) y de cloruro (no se extingue por completo la emisión).

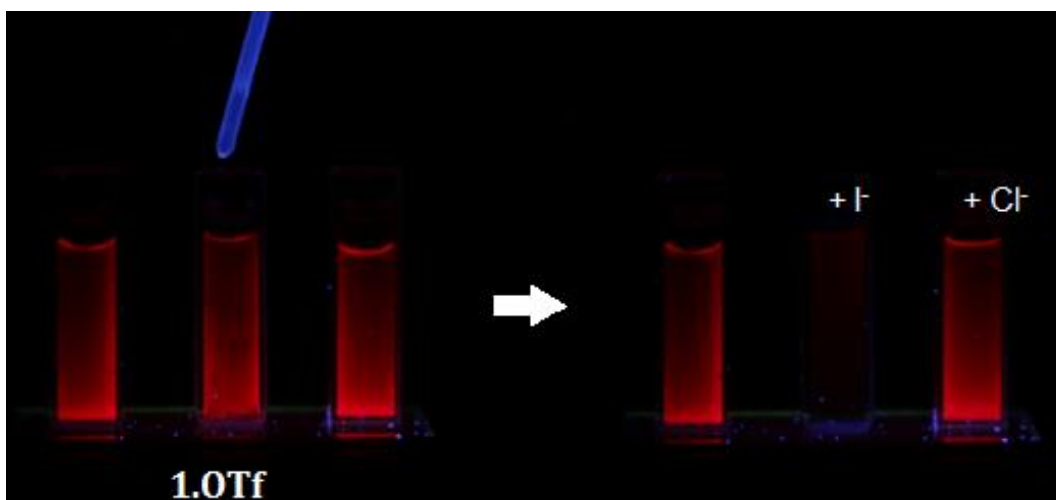


Fig. 4.22. 1.OTf antes y después de la adición de I⁻ y Cl⁻ bajo UV.

Interferencia de aniones sobre la unión 1.OTf-yoduro

Para conocer el efecto de los aniones interferentes comunes, se midió la emisión de una solución de 1.OTf titulada con iones I⁻ en presencia de sales de sodio de CN⁻, Cl⁻, F⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻, NO₃⁻ y SO₄⁻² (150 μM cada uno) en las mismas condiciones que las utilizadas en el experimento de la Fig. 4.21. Para concentraciones de [I⁻]_{tot} < 50 μM, las dos gráficas son prácticamente superponibles como se muestra en la Fig. 4.23. Por lo tanto, el sensor 1.OTf parece funcionar bien en presencia de un alto rango de concentración de posibles aniones interferentes, excepto el ion bromuro. Está claro que la sal de porfirina 1.OTf detecta el yoduro con una excelente sensibilidad y selectividad sobre otros aniones. De los experimentos de fluorescencia y titulación de RMN de ¹H, el orden de afinidad es I⁻ >> Br⁻ > Cl⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻, CH₃CO₂⁻ > CN⁻ y el resto de los oxoaniones.

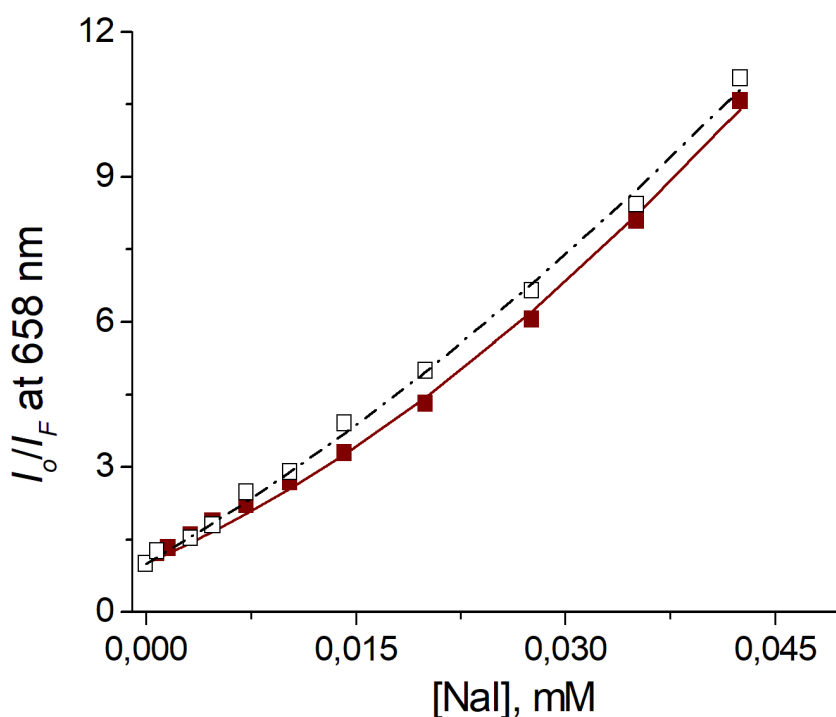


Fig. 4.23. Gráficas de Stern-Volmer con ajuste a 658 nm ($\lambda_{ex} = 430$ nm) de la titulación de 1.OTf (4.0 μM, MOPS 40 Mm, pH = 7.4) con NaI con (□) y sin (■) aniones interferentes inorgánicos (150 μM).

3.3.1. Efecto del pH sobre la unión 1.OTf-yoduro

Además, se estudió la emisión fluorescente roja de 1.OTf a diferentes valores de pH entre 5.0 y 8.0. Al aumentar el pH, las dos bandas de emisión a 658 y 717nm permanecen constantes sin desplazamientos. La estabilidad fotofísica de 1.OTf se puede asignar a: 1) la ausencia de la autoagregación de 1.OTf, que es la esperada debido a la carga positiva y la consiguiente repulsión intermolecular electrostática y 2) las especies ácido-base de 1.OTf están fuera de este rango de pH, por ejemplo, se supone que la desprotonación de los átomos de nitrógeno del pirrol (-NH) se

produce solo en un entorno altamente alcalino, $\text{pH} > 14$ y la protonación del núcleo para los dos nitrógenos imínicos se reportan en valores ≤ 4.0 . Se ha informado un comportamiento espectral similar para una porfirina de trimetilnilina fenil catiónica permanente, que también contiene cuatro grupos de carga positiva $-\text{N}(\text{Me})^3+$.

También exploramos el efecto del pH en la afinidad y la extinción de **1.OTf** por I^- a 5.5 y 8.0. (Fig. 4.24) En general, no se observa un cambio drástico en la extinción de la emisión que dependa del pH. Los parámetros correspondientes se muestran en la Tabla 4.5. Los resultados mencionados respaldan sustancialmente la existencia de interacción entre **1.OTf** y I^- , lo que facilita una extinción de fluorescencia muy alta de casi el 100% en un amplio intervalo de pH, alrededor de valores fisiológicos con límites de detección sensibles. Este hecho, presumiblemente es resultado de la estabilidad química y fotofísica de la porfirina **1.OTf** monomérica en soluciones acuosas tamponadas.

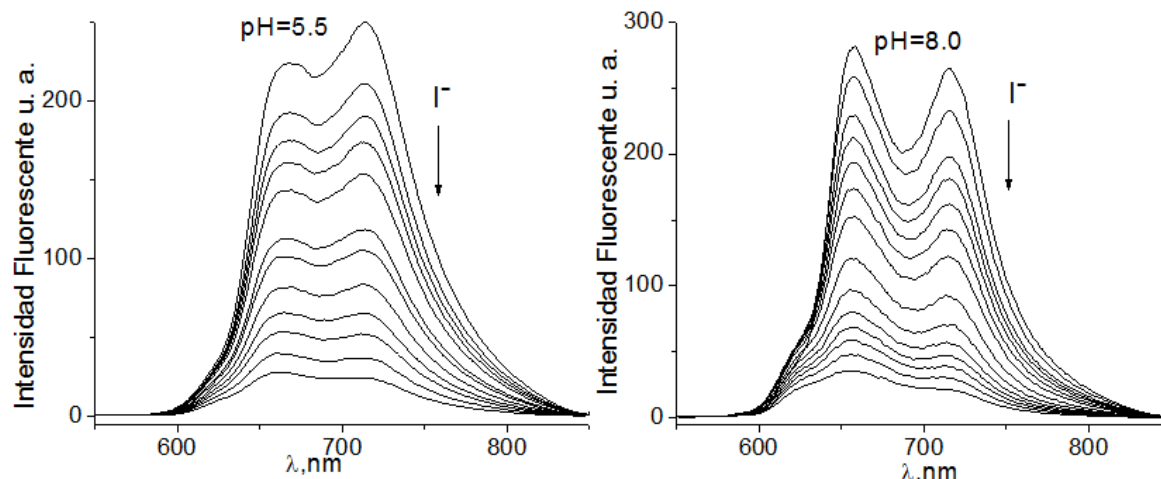


Fig. 4.24 Cambios en los espectros de emisión fluorescente de **1.OTf** ($4 \mu\text{M}$) tras la adición de NaI en $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (96:4, v/v) (Buffer MOPS 40mM, pH 7.0) a pH 5.5 y 8.0.

Tabla 4.4. Parámetros de asociación y extinción para **1.OTf** mediante la adición de NaI a diferentes valores de pH.

pH	K_a	K_{Sv}	I_0/I_F	LOD (nm L^{-1})
5.5	$1.85(\pm 0.05) \times 10^4$	$1.05(\pm 0.15) \times 10^5$	9.85	188
6.0	$1.81(\pm 0.07) \times 10^4$	$1.13(\pm 0.11) \times 10^5$	10.09	185
7.4	$1.93(\pm 0.08) \times 10^4$	$1.18(\pm 0.10) \times 10^5$	10.42	180
8.8	$1.69(\pm 0.10) \times 10^4$	$0.93(\pm 0.08) \times 10^5$	9.01	200

3.4. Estudios por espectroscopía de absorción UV-Vis

La constante de asociación entre 1.OTf-yoduro también se determinó mediante experimentos de titulación por absorción UV-Vis en las mismas condiciones (MOPS 40 mM, pH 7.4), pero con una solución más concentrada de 1.OTf de 20 μM . La Fig. 4.25 ilustra la familia de espectros de la titulación de 1.OTf con NaI.

La presencia de dos puntos isobéuticos claros distintos a 347 y 447 nm indica que coexisten solo dos especies en el equilibrio dentro de este rango de concentración de NaI <1.2 mM. La unión se acompaña de un cambio considerable en la banda Soret con una $\Delta A = 0.26$ y desplazamiento batocrómico de 429 a 436nm.

El recuadro en la Fig. 4.25 muestra la disminución de la absorbancia a 413 nm en la adición progresiva de I^- (0-1.2 mM). El perfil de titulación se ajusta a un modelo de unión 1:1 utilizando el tratamiento de mínimos cuadrados no lineal.

La constante de asociación se calculó de $K_{1,\text{I}^-} = 1980 \pm 50 \text{ M}^{-1}$ que es cercana a la obtenida por experimentos de RMN de ^1H ($K_{1,\text{I}^-} = 1520 \pm 70 \text{ M}^{-1}$). Este experimento confirma inequívocamente la asociación del sensor catiónico 1.OTf con I^- en medios acuosos. El valor mayor de la constante de asociación medida por el experimento de titulación fluorimétrica se debe a la contribución de la complejación con el yoduro en el estado de excitado.

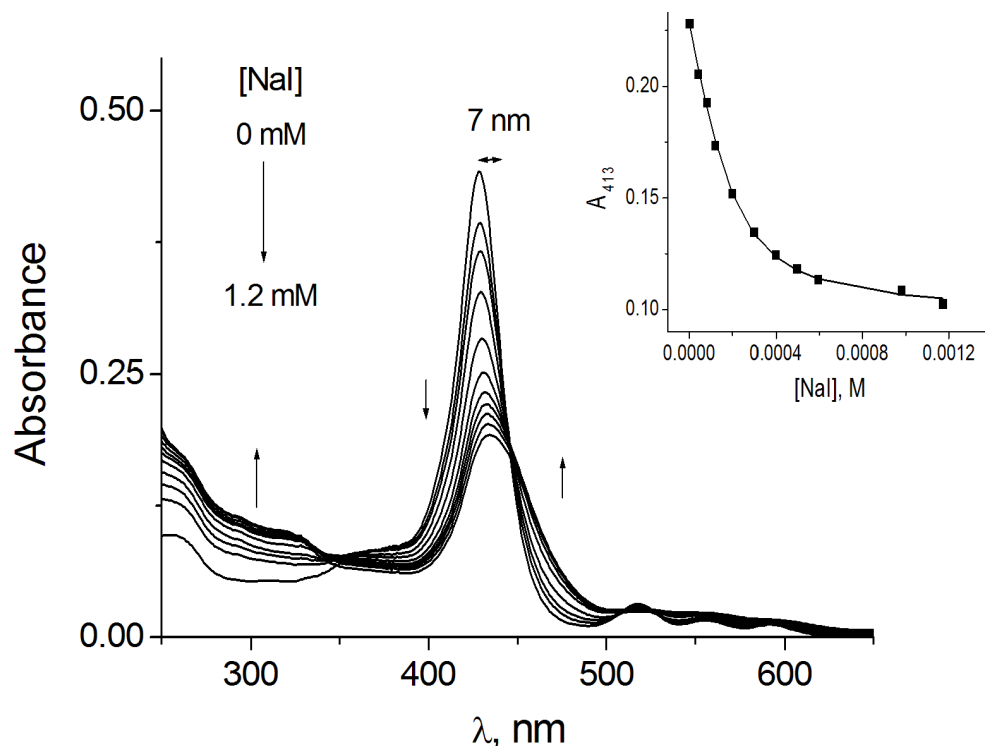


Fig. 4.25. Titulación UV-Vis de 1.OTf (20.0 μM) en solución acuosa tamponada (MOPS 40 mM a pH 7.4) con NaI. La flecha muestra la dirección de los cambios espectrales al adicionar NaI. En el recuadro, la línea se obtuvo ajustando los datos a un modelo de unión 1:1 a 413 nm.

Para confirmar la estequiometría de 1.OTf con yoduro a baja concentración ≤ 1.2 mM se realizó la gráfica de Job (Fig. 4.26) entre la diferencia en la absorbancia a 413 nm vs la fracción molar del yoduro, la gráfica muestra un máximo de absorción en torno a 0.5 fracción mol de 1.OTf, esto respalda el modelo de unión 1:1 observado por experimentos de titulación de fluorescencia y mediciones de RMN de ^1H . Vale la pena señalar que, a una alta concentración de yoduro, seguramente otras especies pueden coexistir en equilibrio con diferentes modelos estequiométricos, sin embargo, no es posible analizarlo porque el exceso de este anión forma de inmediato un precipitado.

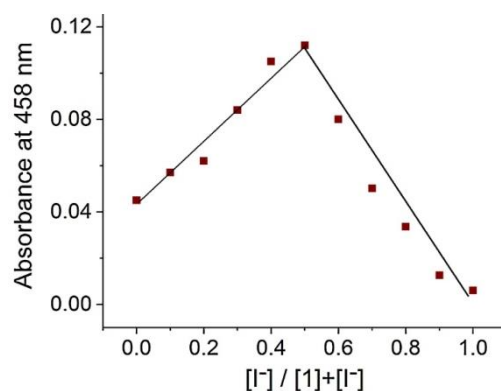


Fig. 4.26 Gráfica de Job de 1.OTf con I⁻ en agua a pH 7.4

4. Tiempo de vida de fluorescencia y rendimiento cuántico

El tiempo de vida de fluorescencia y el rendimiento cuántico son quizá las características más importantes de un fluoróforo.

El rendimiento cuántico es el número de fotones emitidos en relación con el número de fotones absorbidos. El tiempo de vida de fluorescencia es el tiempo transcurrido entre la activación del fluoróforo y la emisión de un fotón del mismo.⁵⁶

Para analizar el proceso de extinción o apagamiento de la emisión fluorescente, se midieron los tiempos de vida de 1.OTf con la adición de concentraciones crecientes de iones yoduro. Se sabe que, la extinción estática (complejación) no genera un cambio considerable en los valores de los tiempos de vida al agregar un inhibidor de la emisión, mientras que un cambio en los tiempos de vida se asigna a una extinción dinámica. Al producir la excitación con láser a 405 nm a una solución de 1.OTf (activación del fluoróforo) presenta un tiempo de vida bioexponencial de fluorescencia con $\tau_1=8.13\text{ns}$ y $\tau_2 = 1.22\text{ ns}$, ver Fig. 4.27. El primer exponencial (τ_1) disminuye con la adición gradual de yoduro (0 - 16 μM) a $\tau_1=4.78\text{ ns}$.

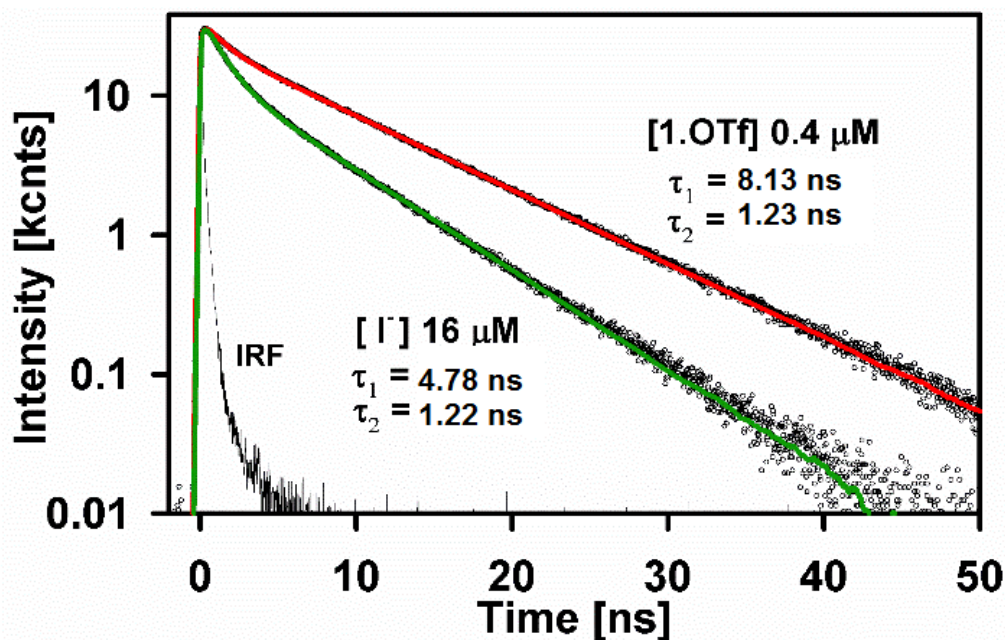


Fig. 4.27 Tiempo de vida de 1.OTf (0.4 μM , curva roja) y con 16 μM de I⁻ (curva verde).

Una gráfica del tiempo de vida contra la $[\text{I}^-]$ muestra un cambio lineal ($\Delta \sim 3$ ns) a una concentración baja $[0-1.0\mu\text{M}]$, y en un rango de concentración más alta, el tiempo de vida permanece prácticamente constante como se muestra en la Fig. 4.28. Los resultados de los experimentos de titulación de RMN ^1H en combinación con las mediciones de tiempo de vida demuestran que la extinción corresponde a una combinación de proceso dinámico con estático.

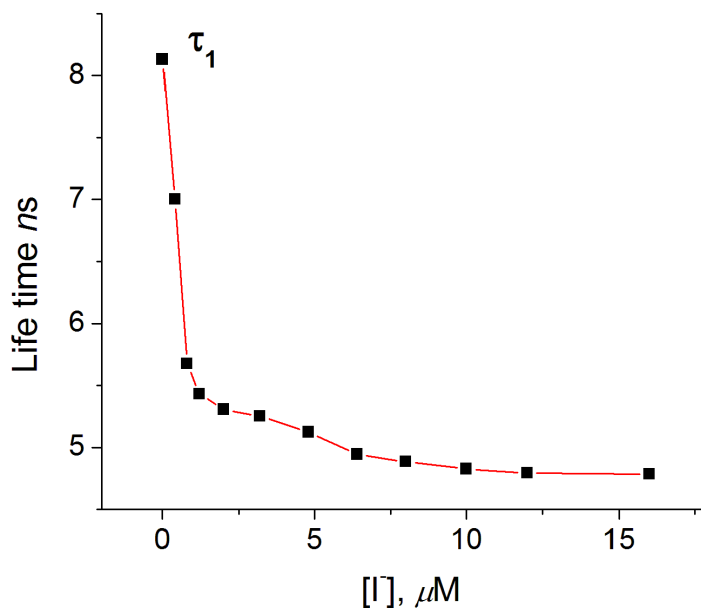


Fig. 4.28 Cambio en el tiempo de vida más largo τ_1 (ns) contra $[\text{I}^-]$

El rendimiento cuántico de fluorescencia calculado tras la excitación a $\lambda = 405$ nm fue de 0.09, se han reportado *tetrakis*-arilporfirinas con rendimientos cuánticos alrededor de 0.1 en porfirinas de base libre y 0.04 para porfirinas coordinadas a zinc (II) en solventes orgánicos. Estos resultados son consistentes con la fluorescencia promovida principalmente por el sistema central macrocíclico π y no se esperaría que se viera fuertemente afectado por los grupos arilo o piridinio que se encuentran casi ortogonales a su plano (como se observa en las estructuras cristalinas de **1.OTf** y **1.Br**).

Así mismo se han reportado porfirinas de base libre con tiempos de vida similares a **1.OTf** ($\tau_1=8.13$ ns) como una 5,10,15,20-tetrakis[4-(trimetilamonio)fenil]-21H,23H-porfirina con un $\tau=7.01$ ns usada como sensor para ácido úrico en medio acuoso.⁵⁷

5. Estudios de DFT

Se realizó una optimización de geometría parcial de la estructura cristalina de **1.OTf** en la que solo se dejaron relajar las posiciones de los átomos de hidrógeno. El anión yoduro se colocó en la parte superior del anillo porfirínico y la estructura completa se optimizó en el mismo nivel teórico. Un análisis de frecuencias vibracionales condujo a todos los valores positivos que indican que la estructura obtenida corresponde a un mínimo en la superficie de energía potencial. El potencial electrostático molecular mapeado en la densidad electrónica (isovalue 0.002) se muestra en la Fig. 4.29.

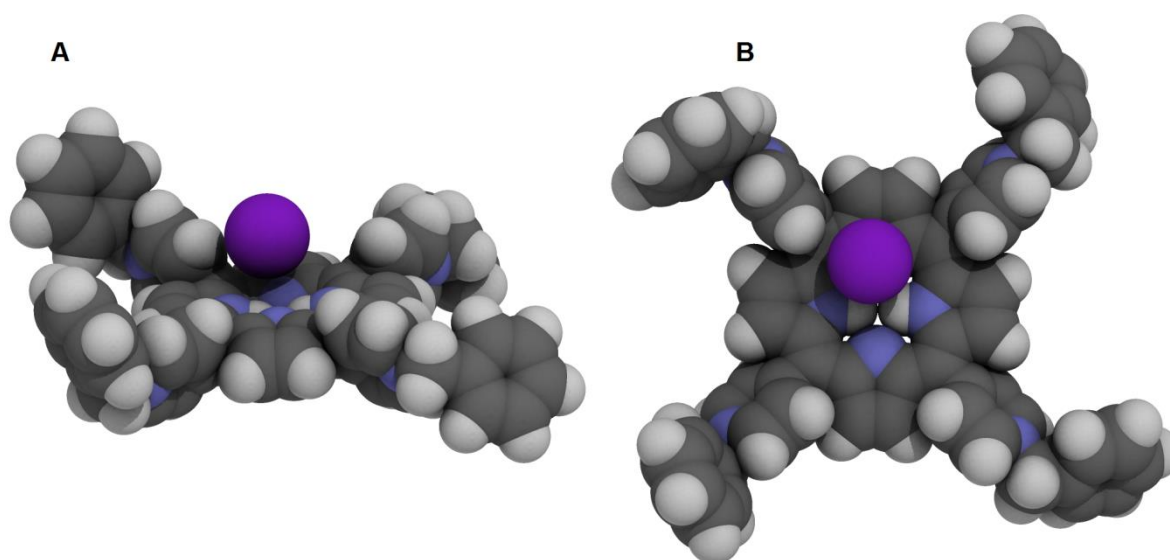


Fig. 4.29. Vistas lateral (A) y superior (B) del **1.OTf** con el anión yoduro optimizado en el nivel de teoría B3LYP / lanl2dz.

La energía de interacción se calculó con el procedimiento NBOD el en el que los elementos en la matriz Fock que involucran orbitales centrados en diferentes fragmentos se establecen en cero (por lo tanto, se eliminan) y la rediagonalización de la matriz resultante produce un nuevo conjunto de eigenfunciones y eigenvalores para los cuales la interacción entre fragmentos es inexistente. El aumento de energía para el complejo donde el yoduro se encuentra en el mismo plano que la porfirina y se ubica al lado de la misma es de $404.83 \text{ kcal mol}^{-1}$, mientras que para la conformación de energía mínima donde se encuentra el yoduro sobre el plano de la porfirina es de $402.79 \text{ kcal mol}^{-1}$. Estos valores y su semejanza independientemente a la posición del ion apuntan hacia la presencia de un carácter fuertemente iónico en su interacción. El índice total de enlace de Wiberg (TWBI) para el yoduro se calculó como la suma de los índices pares de enlace para yoduro y cada uno de los átomos restantes, dando un valor de 0.58; este TWBI es una estimación aproximada del número total de enlaces covalentes que forma un átomo dentro de una molécula, siendo significativamente más bajo que la unidad para el yoduro, así se puede determinar que la interacción es mayormente iónica. En consecuencia, el HOMO se encuentra principalmente en un orbital de tipo *p* en yoduro, mientras que el LUMO está deslocalizado a lo largo del anillo porfirínico, como se puede observar en la Fig. 4.30.

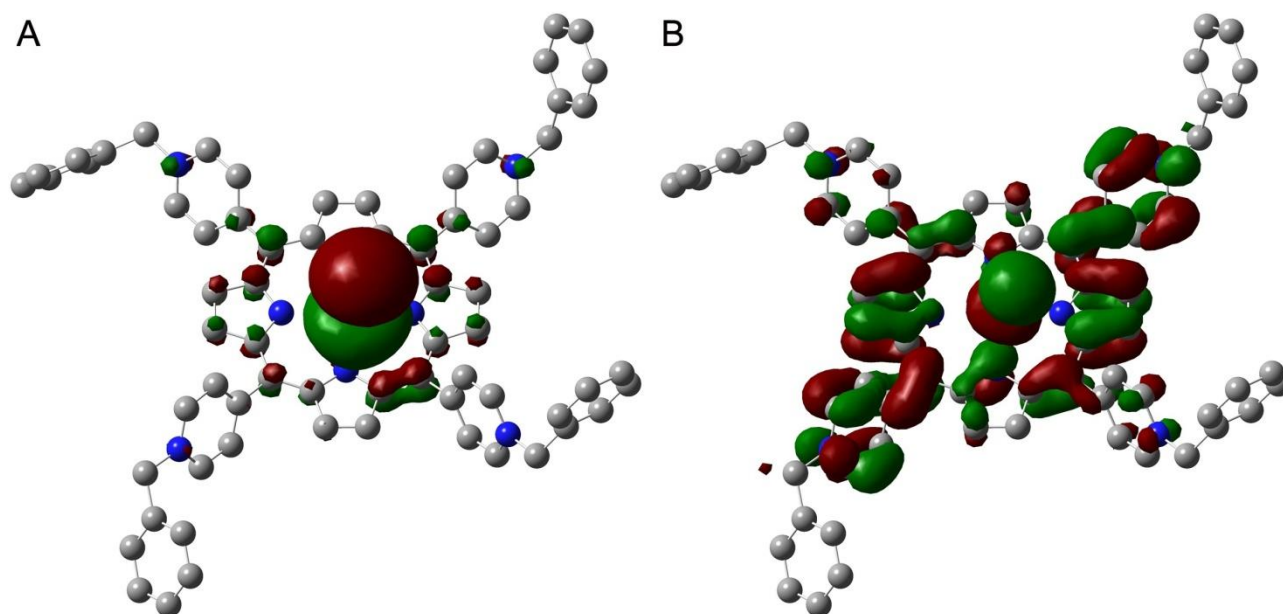


Fig. 4.30. Orbitales de frontera para el complejo de par iónico de **1.OTf**-yoduro. HOMO (A) y LUMO (B). Los átomos de H no se muestran para mayor claridad.

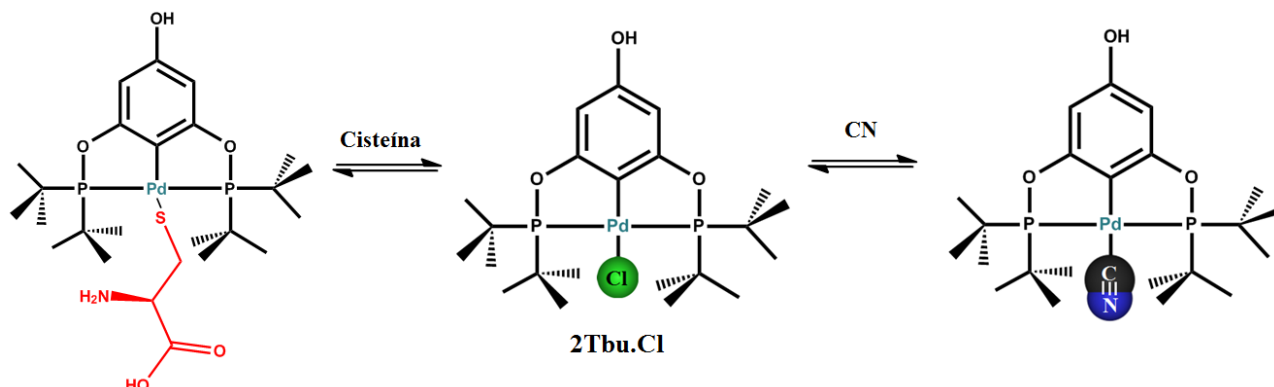
De esta forma los estudios de DFT y las mediciones del tiempo vida demuestran claramente que la extinción dinámica tiene la mayor contribución en la extinción de la emisión de **1.OTf** por el anión yoduro.

En la Tabla 4.5 se hace una comparación de los parámetros más importantes de los sensores para yoduro en medio acuoso reportados actualmente con el sensor de la porfirina catiónica 1.OTf de este trabajo.

Tabla 4.5 Quimiosensores y materiales recientes para la detección y cuantificación de yoduro en agua.

Quimiosensor	Método/Rango Analítico	Límite de detección (M)	Comentarios
Naftaleno-glicina conjugados	Cambio colorimétrico y apagamiento fluorescente 6.25-3.12 μ M	3.08 $\times 10^{-8}$	Alta sensibilidad y selectividad Tiempo de respuesta:500s Opera a 40°C
Puntos cuánticos de carbono incrustados en un papel hecho de nanofibras de celulosa	Apagamiento fluorescente 25-25 000.0 μ M	4.8 $\times 10^{-5}$	Baja sensibilidad Funciona en muestras reales
Polímero metal-orgánico basadas en cadmio (Cd-MOF)	Apagamiento fluorescente	6.3 $\times 10^{-7}$	Alta sensibilidad Usa un metal altamente tóxico
Puntos cuánticos de carbono N-dopados	Cambio colorimétrico y apagamiento fluorescente 0.09-50.0 μ M	6.0 $\times 10^{-5}$	Respuesta multiseñal Selectividad moderada Sensibilidad moderada
Sensor fluorescente basado en tiourea-Hg ²⁺	Apagamiento fluorescente 0-25.0 μ M	8.4 $\times 10^{-8}$	Prueba bifuncional para Hg ²⁺ y I ⁻ Alta selectividad Dependiente del pH Usa metal tóxico
Meso-tetraarilporfirina catiónica, 1.OTf	Apagamiento de la fluorescencia 0-50 μ M	8.4 $\times 10^{-8}$	Alta sensibilidad y selectividad Respuesta analítica rápida No depende del pH

Capítulo 5 Resultados y discusión de los quimiosensores basados en complejos de paladio (II) tipo pinza POCOP 2Tbu.Cl y 3Iso.Cl



En este capítulo se exponen los resultados más importantes de los estudios de reconocimiento molecular de los complejos de paladio (II) tipo pinza POCOP con aniones como sales de tetrabutilamonio en acetonitrilo y con tioles biológicos en medio acuoso micelar pH 7.4.

El capítulo está dividido en cuatro secciones; la primera expone las propiedades fotofísicas de los dos complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**; en la segunda se informa el reconocimiento molecular de ambos complejos con los aniones por estudios de absorción UV-Vis; en la tercer sección se hace un análisis estructural en estado sólido de los monocristales obtenidos **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** y finalmente en la cuarta sección se trata del reconocimiento molecular del complejo **2Tbu.Cl** con los tioles biológicos.

Se analizó un segundo sistema de quimiosensores para aniones y tioles biológicos a través de dos complejos tipo pinza de Pd (II) con un ligante *para*-hidroxil-POCOP: [PdCl{C₆H₂-4-OH-2,6(OPtBu₂)₂}], **2Tbu.Cl** y [PdCl{C₆H₂-4-OH-2,6-(OPiPr₂)₂}], **3Iso.Cl** los cuales se estudiaron por titulaciones de absorción UV-Vis y de emisión fluorescente con los aniones: Cl⁻, Br⁻, I⁻, AcO⁻, H₂PO₄⁻, CN⁻, F⁻, OH⁻, NO₃⁻, HSO₄⁻ y tioles biológicos como: cisteína, glutatión, homocisteína y N-Acetyl cisteína. La Fig. 5.1 muestra la estructura química de los complejos de paladio (II).

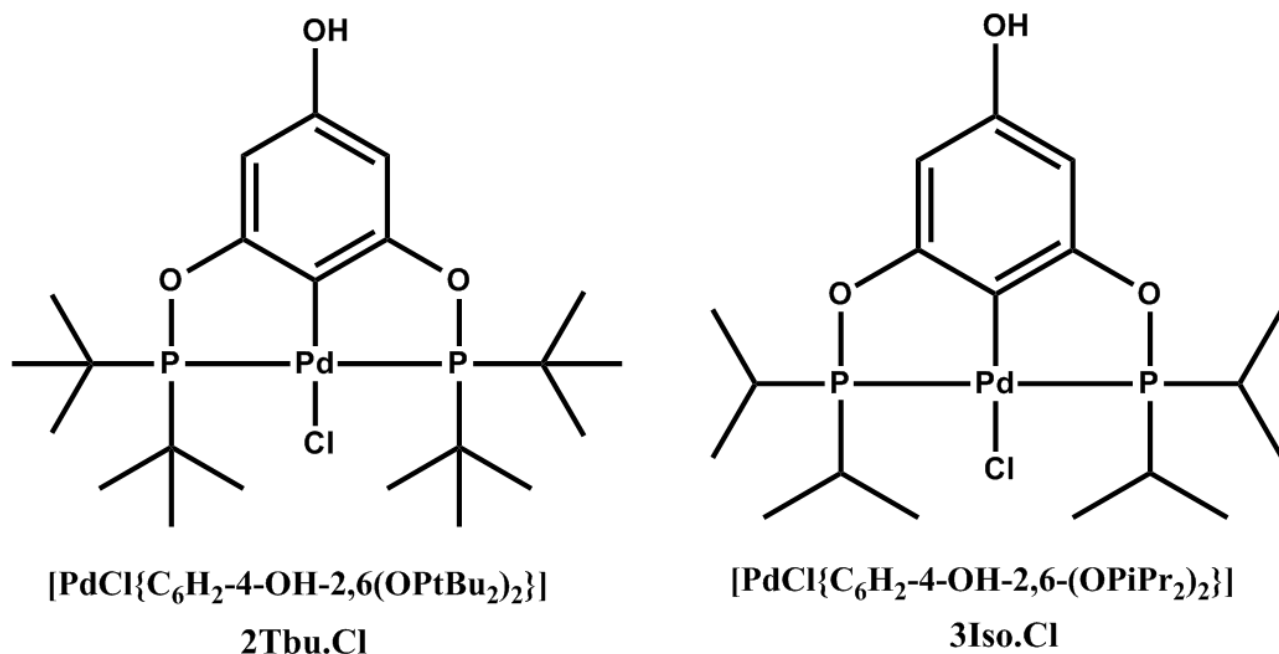


Fig. 5.1 Complejos de Pd (II)-POCOP **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** empleados en este estudio.

1. Propiedades fotofísicas

Antes de describir los resultados más importantes de la detección de aniones y tioles con los complejos tipo pinza POCOP de paladio (II) **2.Cl** y **3.Cl** por espectrofotometría de absorción UV-Vis y de fluorescencia es importante comenzar por sus propiedades fotofísicas.

Primeramente se llevaron a cabo pruebas solvatocrómicas que es el estudio de los espectros de absorción UV-Vis y emisión de un compuesto en varios disolventes orgánicos para los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** (100 μM), ya que las longitudes de bandas de absorción y emisión de los compuestos aromáticos dependen del solvente usado.

Los desplazamientos de las longitudes de las bandas de absorción de los complejos de paladio (II) **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**, tienen en cuenta una serie de factores, como la constante dieléctrica del disolvente (propiedad macroscópica de la medida de la polaridad de un solvente, C.D.) y su

capacidad de formar enlaces de hidrógeno. El conjunto de solventes estudiados son compuestos polares apróticos (dimetilsulfóxido C.D=47, acetonitrilo C.D=37, cloroformo C.D=4.8) y próticos (agua C.D=80, metanol C.D=33), por lo que tienen donadores y aceptores de enlaces de hidrogeno para interactuar con el grupo hidroxilo –OH del fenol en los dos complejos. En la Fig. 5.2 se muestran los espectros de absorción UV-Vis de los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** en dichos disolventes. Para ambos complejos, los máximos de absorción más grandes se producen con el agua y metanol que tienen las constantes dieléctricas más altas. Mientras que los máximos de absorción más pequeños corresponden a los solventes polares apróticos. Una característica importante es que el complejo **2Tbu.Cl** produce espectros UV-Vis con dos bandas de absorción en CH₃CN, CHCl₃ y DMSO, y espectros de una sola banda de absorción en H₂O y MeOH. Todos los espectros UV-Vis de **3Iso.Cl** sólo se constituyen por una sola banda de absorción. En la Tabla 5.1 se presentan las longitudes de los máximos de absorción y el logaritmo de sus coeficientes de absorptividad molar ϵ .

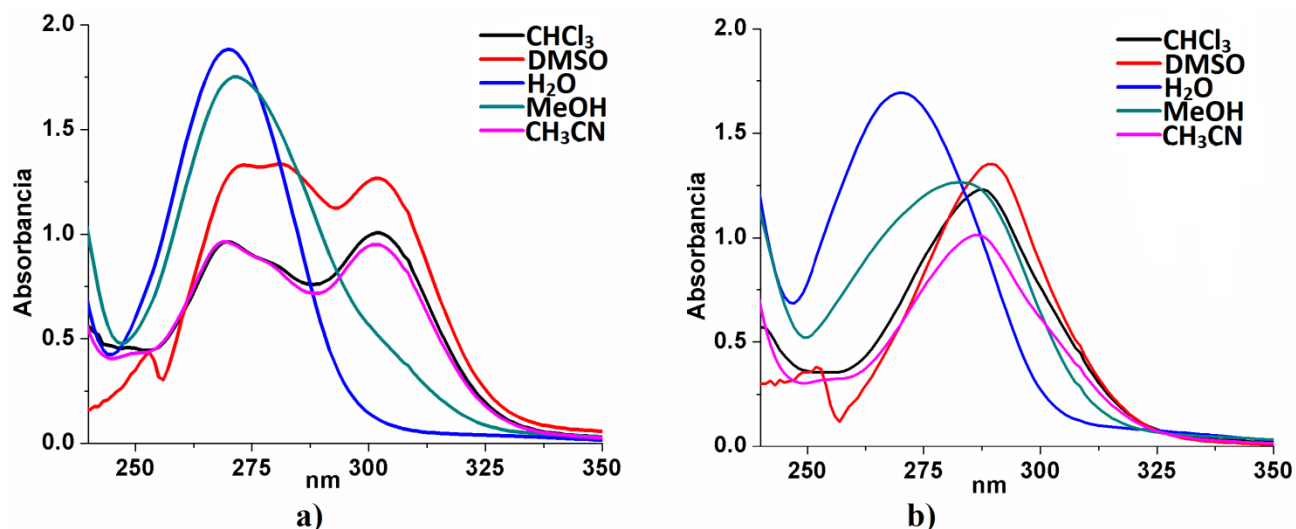


Fig. 5.2. Espectros de absorción UV-Vis de **2Tbu.Cl** a) y **3Iso.Cl** b) (100 μ M) en disolventes orgánicos.

Tabla 5.1 Absorción máxima (nm) de complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** en varios disolventes. $\lambda_{abs}(\log \epsilon)$

Complejo	MeOH	CH ₃ CN	CH ₃ Cl	H ₂ O	DMSO
2Tbu.Cl	271(4.24)	270(3.98)	269(3.98)	270(4.27)	272(4.12)
		301(3.97)	302(4.00)		281(4.12)
					302(4.10)
3Iso.Cl	284(4.10)	286(4.00)	287(4.09)	270(4.23)	289(4.13)

Así mismo, se obtuvieron espectros de emisión fluorescente de los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** (Fig. 5.3) con los mismos disolventes, la longitud de onda de excitación (λ_{exc}) depende de los

máximos de absorción en cada disolvente. En todos los disolventes el complejo **2Tbu.Cl** presenta la banda de emisión verde entre 542.4-558.0 nm aunque con mínima intensidad fluorescente (1.82-34.89 u. a.). Para el complejo **3Iso.Cl** solamente en CHCl_3 es visible una pequeña banda en 533.2nm. Se puede decir que en solución ambos complejos se extingue casi por completo la emisión fluorescente. En la Tabla 5.2 se presentan las longitudes de onda de emisión (λ_{em}) y sus respectivas longitudes de excitación (λ_{exc}).

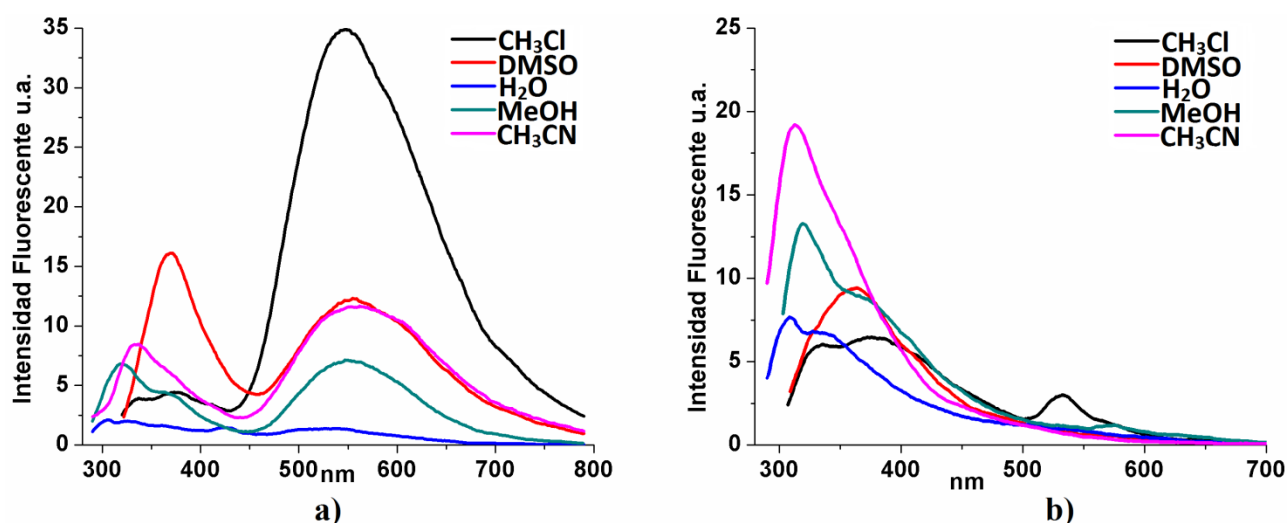


Fig. 5.3. Espectros de emisión fluorescente de **2Tbu.Cl** a) y **3Iso.Cl** b) (100 μM) en varios disolventes orgánicos.

Tabla 5.2. Emisión máxima (nm) de los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** en varios disolventes. λ_{em}

Complejo	MeOH $\lambda_{exc}=271\text{nm}$	CH ₃ CN $\lambda_{exc}=270\text{nm}$	CH ₃ Cl $\lambda_{exc}=301\text{nm}$	H ₂ O $\lambda_{exc}=270\text{nm}$	DMSO $\lambda_{exc}=302\text{nm}$
2Tbu.Cl	320.0	334.8	375.5	330.0	369.9
	364.9	558.0	547.4	542.4	555.4
	552.2				
3Iso.Cl	319.6	328.9	336.1	308.9	364.1
	373.0		376.8	337.4	
	577.2		533.2		

El solvente de elección para proceder con los estudios de reconocimiento molecular de los dos complejos con los aniones es el CH_3CN , a pesar de que en otros disolventes hubo mayor emisión fluorescente y absorptividad molar ϵ , ya que en dicho solvente la solubilidad de **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** es mayor. Así que a continuación se detallan las propiedades fotofísicas de **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** en CH_3CN .

En las Figuras 5.4-5.5 se muestran los espectros de absorción UV-Vis de **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**, 100 μM en CH_3CN . El espectro de **2Tbu.Cl** se constituye por dos bandas de absorción en 270 y 301 nm, mientras que **3Iso.Cl** solamente exhibe una sola banda en 286 nm. Estos máximos de absorción

están en el rango típico observado para compuestos con el grupo fenol debido a las transiciones electrónicas $\pi-\pi^*$.⁵⁸ Ambos compuestos en estado sólido son blancos a simple vista y también forman soluciones color transparente. En contraste con sus análogos complejos de Ni (II)⁴⁴ que en estado sólido y solución son de color amarillo, sin embargo, cabe mencionar que el espectro UV-Vis de **3Iso.Cl** es semejante a su análogo de Ni (II) que también presenta una sola banda máxima de absorción pero en 333 nm.

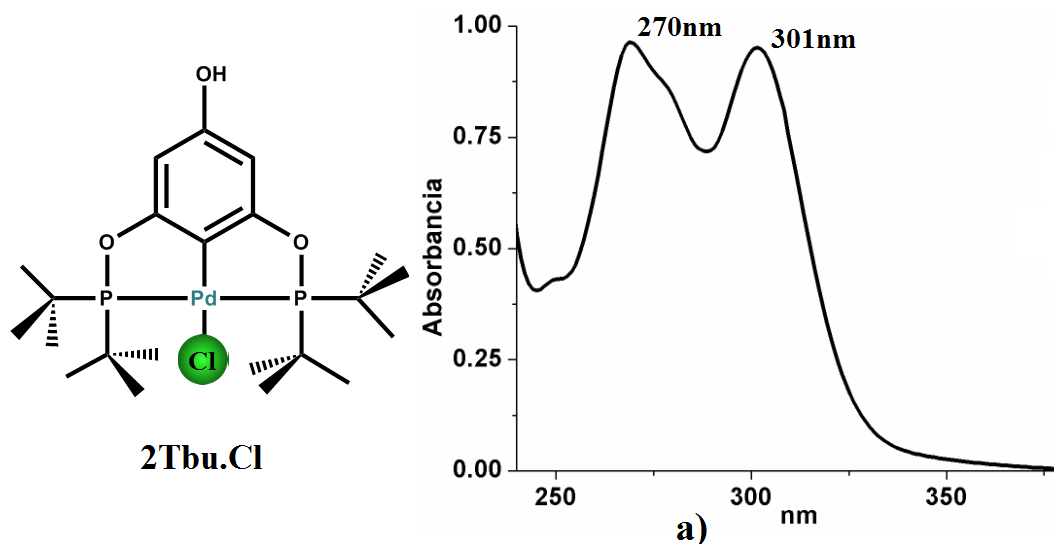


Fig. 5.4 a) Espectro de absorción UV-Vis del complejo **2Tbu.Cl** (100.0 μM) en CH_3CN .

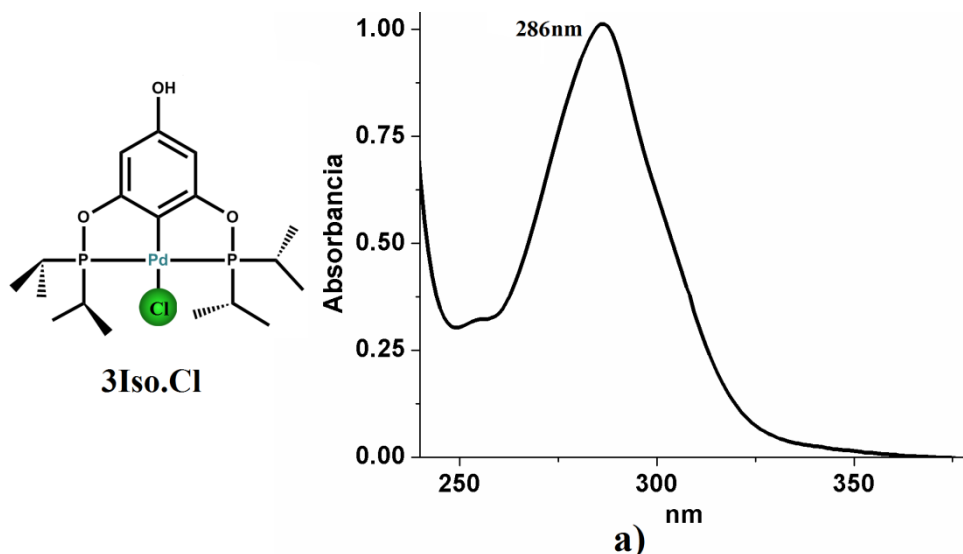


Fig. 5.5 a) Espectro de absorción UV-Vis del complejo **3Iso.Cl** (100.0 μM) en CH_3CN .

En las Figuras 5.6-5.7 se muestran los espectros de emisión fluorescente a concentración 100 μM , en CH_3CN ; el de **2Tbu.Cl** tiene dos bandas de emisión en 334 y 558nm ($\lambda_{\text{exc}}=270\text{nm}$) de muy baja intensidad fluorescente (8.4 y 11.5 u. a. respectivamente); mientras que para **3Iso.Cl** sólo tiene una

banda de emisión en 328nm ($\lambda_{exc}=286nm$), pero con el doble de intensidad fluorescente que la de **2Tbu.Cl** (19.2 u. a.). Bajo radiación UV-Vis (365 nm) en estado sólido **2Tbu.Cl** presenta una emisión verde intensa y **3Iso.Cl** una amarilla intensa, no obstante, estas emisiones no son visibles bajo dicha radiación de los dos complejos en solución.

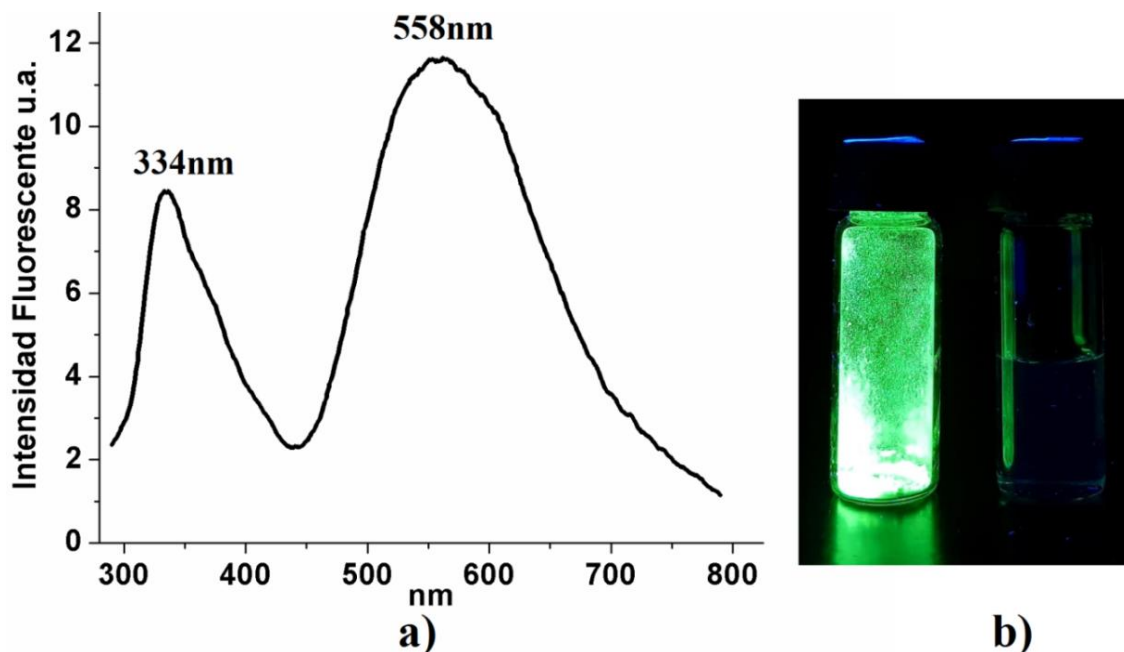


Fig. 5.6 a) Espectro de emisión fluorescente de **2Tbu.Cl** 100.0 μM en CH_3CN . $\lambda_{exc}=270nm$. b) **2Tbu.Cl** en estado sólido y en solución bajo radiación UV (365nm).

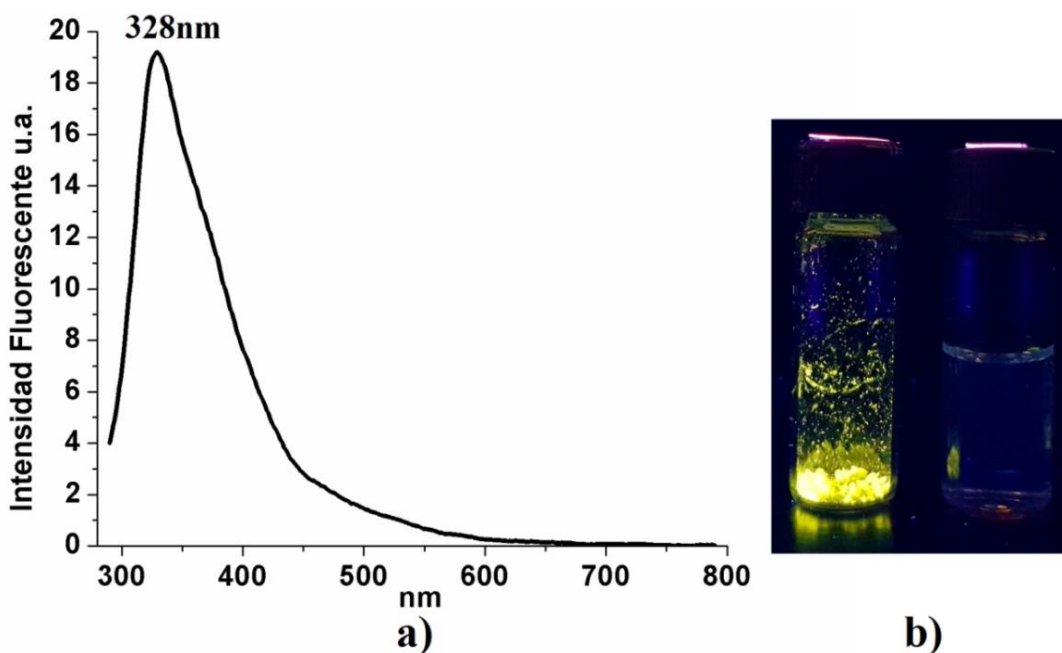


Fig. 5.7 a) Espectro de emisión fluorescente de **3Iso.Cl** 100.0 μM en CH_3CN . $\lambda_{exc}=286nm$. b) **3Iso.Cl** en estado sólido y en solución bajo radiación UV (365nm).

2. Estudios de reconocimiento molecular y detección de aniones

2.1. Respuesta colorimétrica

Se estudió la respuesta colorimétrica de las soluciones de los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equivalentes de los siguientes aniones: Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , H_2PO_4^- , CN^- , F^- , OH^- , NO_3^- , HSO_4^- . Se observó un cambio drástico de color de transparente a amarillo brillante y naranja para F^- y CN^- , respectivamente, no se observó ningún cambio de color para los demás aniones. (Fig. 5.8).

La alta basicidad del fluoruro en los solventes orgánicos como CH_3CN , combinada con la formación de la especie estable $[\text{HF}_2]^-$, conduce a la desprotonación del grupo fenol en ambos complejos, lo que resulta en el cambio drástico de color.⁵⁹ Por otra parte, el ion cianuro participa en un enlace de retrodonación π con el centro metálico del Pd (II), provocando un incremento en la densidad electrónica π del grupo fenol.^{60,61}

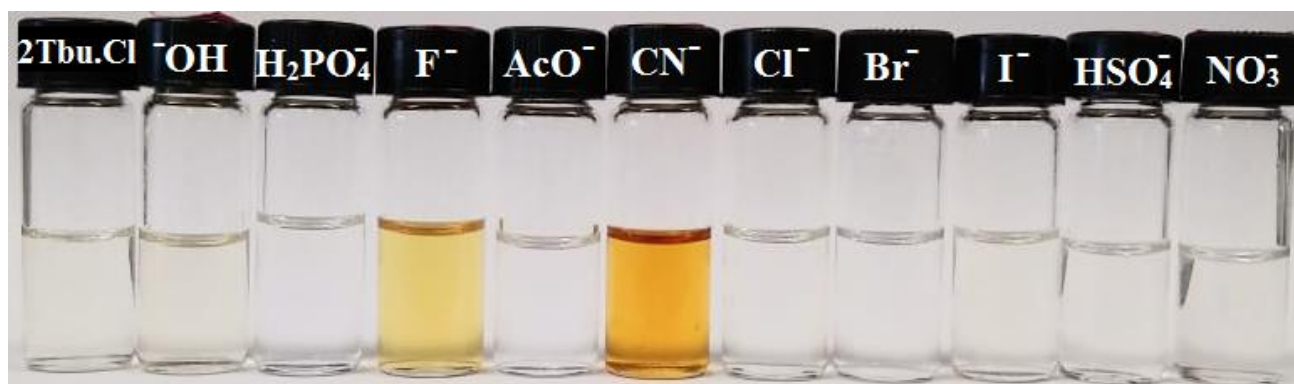


Fig. 5.8. Cambio de color de **2Tbu.Cl** (100 μM) en CH_3CN con la adición de 3.0 equiv. de varios aniones.

De acuerdo con estos resultados se realizaron titulaciones por absorción UV-Vis de los dos complejos con dichos aniones.

2.2. Estudios por espectrofotometría de absorción UV-Vis

Se llevaron a cabo titulaciones de espectrofotometría de absorción UV-Vis de los complejos **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** a concentración 100 μM con aniones inorgánicos y acetato en CH_3CN . De forma general, tras la adición de 3.0 equivalentes de cada uno de los aniones se forman puntos isobésticos que indican que en solución están presentes dos o más especies, además hay una disminución de la absorbancia en la banda de 301 nm del complejo **2Tbu.Cl** y en la banda de 286 nm del complejo **3Iso.Cl**.

Detección de CN^- y aniones coordinantes por intercambio del ligante Cl^-

Uno de los cambios más significativos se produjo con el anión CN^- , ya que tras la adición de sólo 1.0 equivalente de éste a **2Tbu.Cl** se forma un punto isobéptico claro y definido en 283.0 nm, la banda en 270 nm tiene desplazamiento hipsocrómico hasta 255nm con aumento de absorbancia ($\Delta A=0.856$) y la banda a 301 nm disminuye su absorbancia hasta casi extinguirla por completo ($\Delta A=0.772$). En el caso de **3Iso.Cl** también se forma un punto isobéptico muy bien definido en 270 nm y el máximo de absorción de 286 nm disminuye drásticamente la absorbancia ($\Delta A=0.953$). (Fig. 5.9) Estos cambios radicales se atribuyen al intercambio del CN^- por el Cl^- en ambos complejos, este hecho es interesante debido a que el equilibrio dinámico de intercambio de anión puede ser fácilmente establecido (Fig. 5.10) y las mediciones se analizan con ecuaciones isotérmicas de asociación comunes 1:1. Además se observó el cambio de color de transparente a naranja.

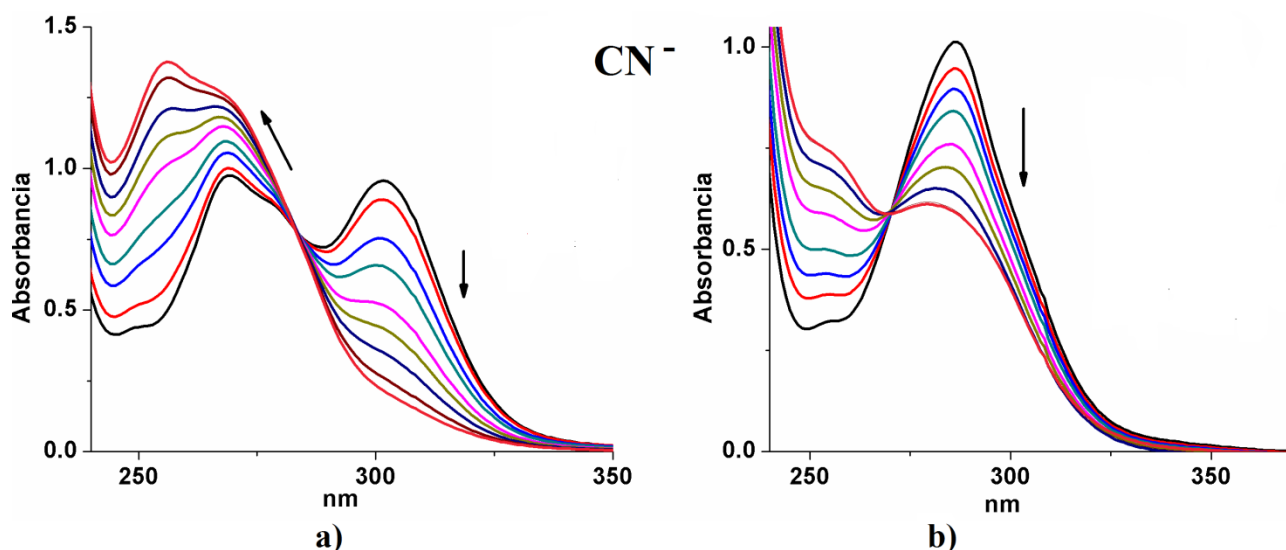


Fig.5.9 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.TbuCl** y b) **3Iso.Cl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 1.0 equiv. de TBACN.

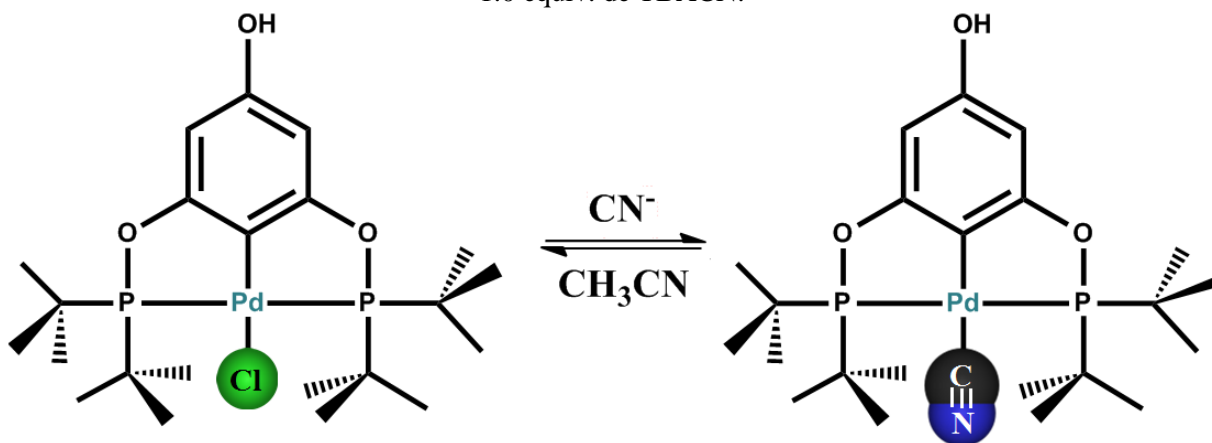


Fig. 5.10 Equilibrio de intercambio aniónico entre el Cl^- y CN^- .

De esta manera, se propone que el fenómeno de intercambio de ligante Cl^- se produce con aniones no tan básicos como los halogenuros Br^- y I^- . La titulación del complejo **2Tbu.Cl** ($100\ \mu\text{M}$) con 3.0 equivalentes de I^- , produce dos puntos isobásticos en 289 y 323 nm junto la formación simultánea de una nueva banda de absorción en 338 nm; cambios similares para **3Iso.Cl** con puntos isobásticos en 276 y 316 nm y la nueva banda de absorción en 328 nm (Fig. 5.11). Con 3.0 equiv. de Br^- se origina un solo punto isobástico en 310 nm (**2Tbu.Cl**) y 305 nm (**3Iso.Cl**). (Fig. 5.13) En el caso de Cl^- no hubo ningún cambio espectral. (Fig. 5.14). No hubo cambio de color con estos tres aniones.

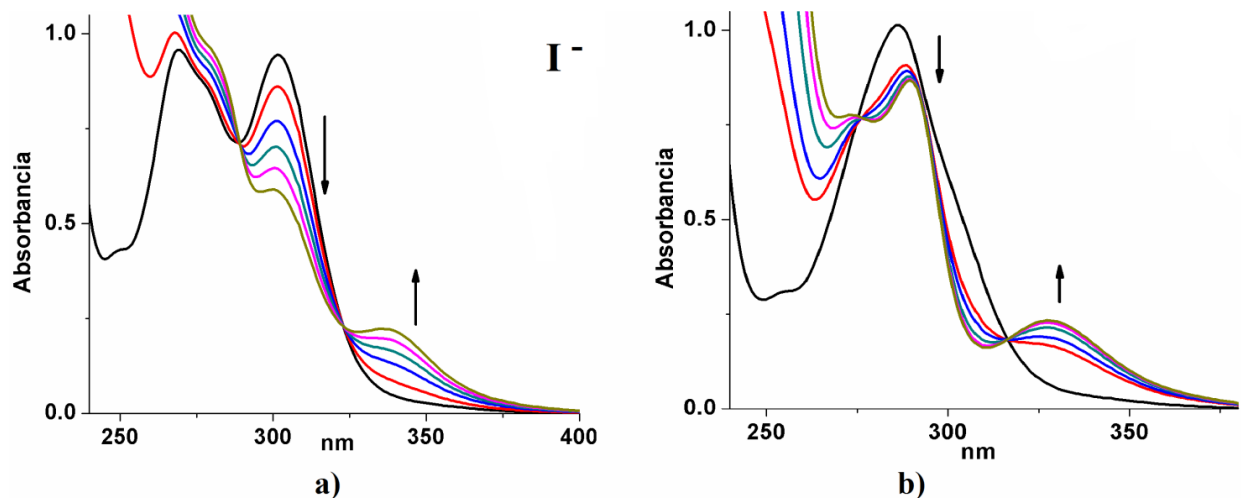


Fig. 5.11 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.TbuCl** y b) **3Iso.Cl** ($100\ \mu\text{M}$) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de TBAI.

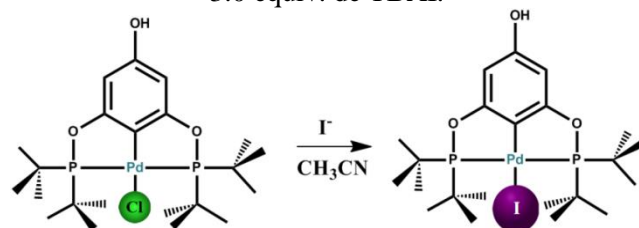


Fig. 5.12. Equilibrio de intercambio aniónico entre el Cl^- y I^- .

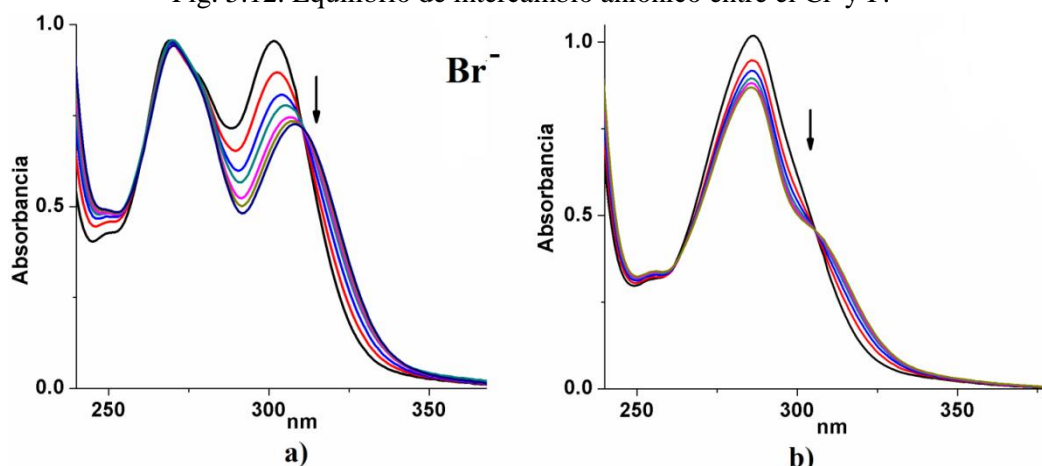


Fig. 5.13 Cambios en los espectros UV-vis de a) **2.TbuCl** y b) **3Iso.Cl** ($100\ \mu\text{M}$) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de TBABr.

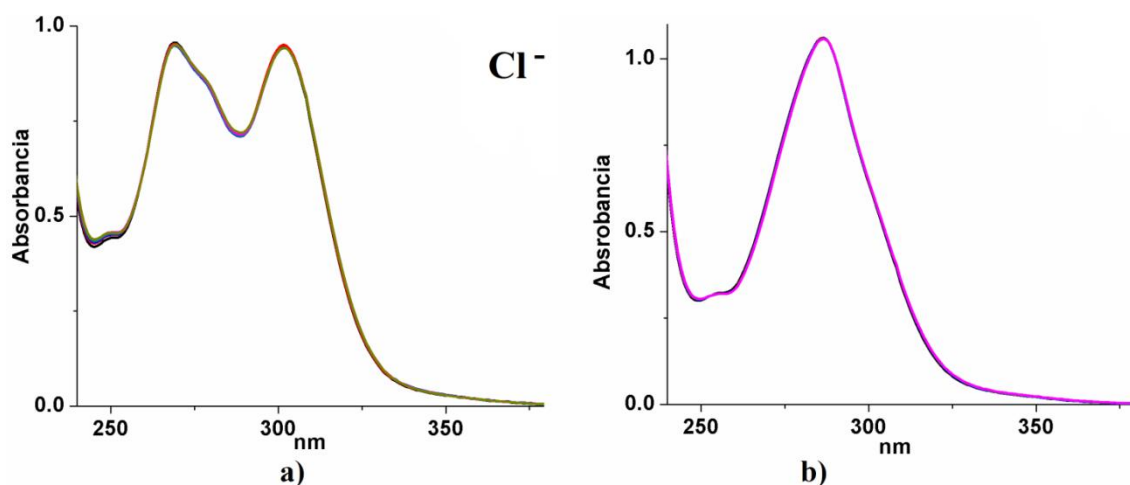


Fig. 5.14 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.Tbu.Cl** y b) **3.Iso.Cl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de TBACl.

Detección de F^- y aniones básicos por desprotonación del grupo fenol.

El segundo cambio significativo se presentó con el F^- , el anión más básico de todos. La primera alteración a simple vista fue el cambio drástico de color de transparente a amarillo brillante. La adición de 1.0 equivalente de F^- al complejo **2Tbu.Cl** formó un punto isobéptico en 373 nm y con un pequeño efecto hipercrómico en la banda máxima de 301 nm ($\Delta A=0.05$), mientras que para el complejo **3Iso.Cl**, hubo también un pequeño efecto, pero hipocrómico en la única banda máxima de 286 nm ($\Delta A=0.10$). (Fig. 5.15) Estos efectos se asignan al fenómeno de desprotonación del grupo hidroxilo $-\text{OH}$ del fenol, estructura base de los dos complejos, por este motivo se presenta el cambio de color de transparente a amarillo brillante, pues se produce una transferencia de carga intramolecular.⁶² (Fig. 5.16)

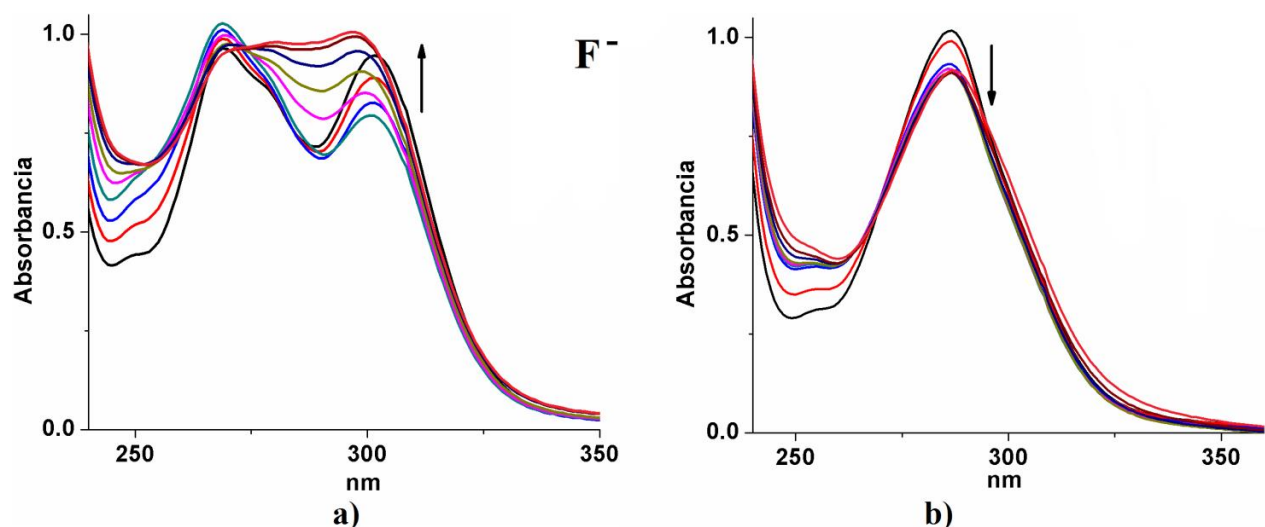


Fig. 5.15 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.Tbu.Cl** y b) **3.Iso.Cl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 1.0 equiv. de TBAF.

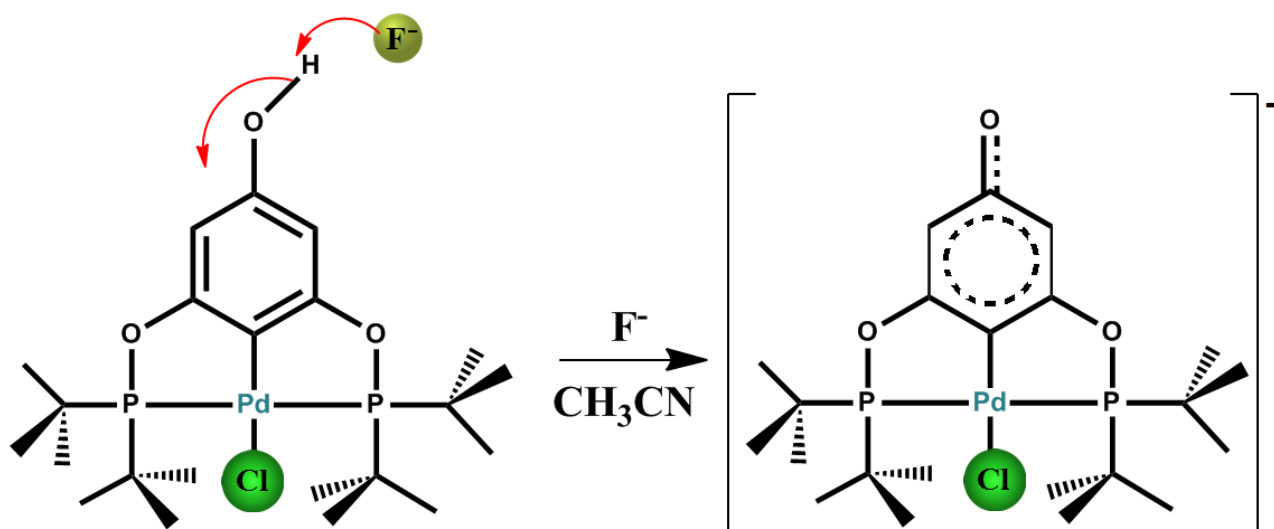


Fig. 5.16. Desprotonación del grupo -OH del fenol en **2Tbu.Cl** por F^- .

La desprotonación también sucede con los otros aniones básicos como el OH^- , AcO^- y $H_2PO_4^-$. La titulación del complejo **3Iso.Cl** con OH^- da dos puntos isobásticos en 270 y 310 nm, con una disminución de absorbancia a 286 nm ($\Delta A=0.38$); con **2Tbu.Cl** origina un solo punto isobástico en 2780nm. (Fig. 5.17)

Con AcO^- solo **2Tbu.Cl** presentó dos puntos isobásticos claros en 268 y 300nm, mientras que con $H_2PO_4^-$ los puntos isobásticos son menos definidos y para ambos complejos hay disminución de absorbancia en las bandas máximas de emisión **2Tbu.Cl** ($\lambda=301$ nm, $\Delta A=0.19$), **3Iso.Cl** ($\Delta A=0.17$). Con aniones menos básicos como HSO_4^- y NO_3^- no se produjeron cambios significativos. (Fig. 5.18-5.19) No se presentó cambio de color con ninguno de estos aniones.

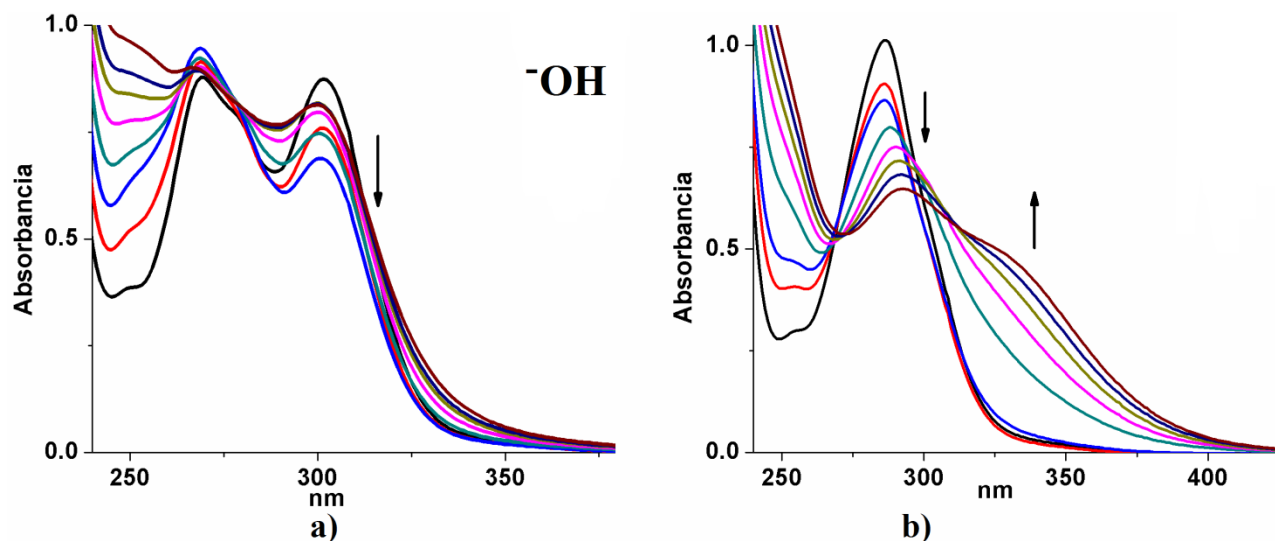


Fig. 5.17 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.TbuCl** y b) **3Iso.Cl** (100 μ M) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de OH^- como sal de TBA^+ .

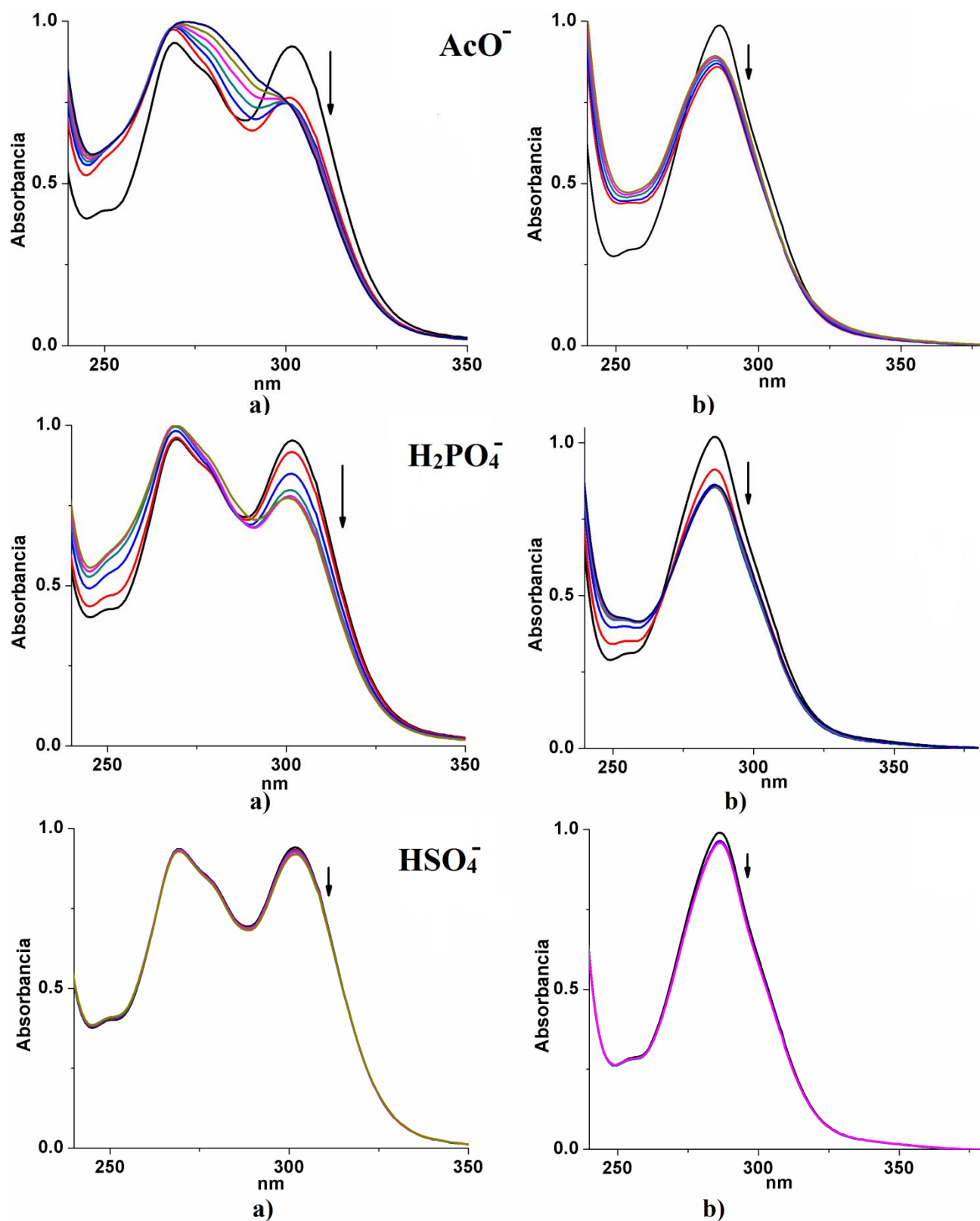


Fig. 5.18 Cambios en los espectros UV-Vis de a) *2.Tbu.Cl* y b) *3Iso.Cl* ($100 \mu\text{M}$) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de AcO^- , H_2PO_4^- y HSO_4^- como sales de TBA^+ .

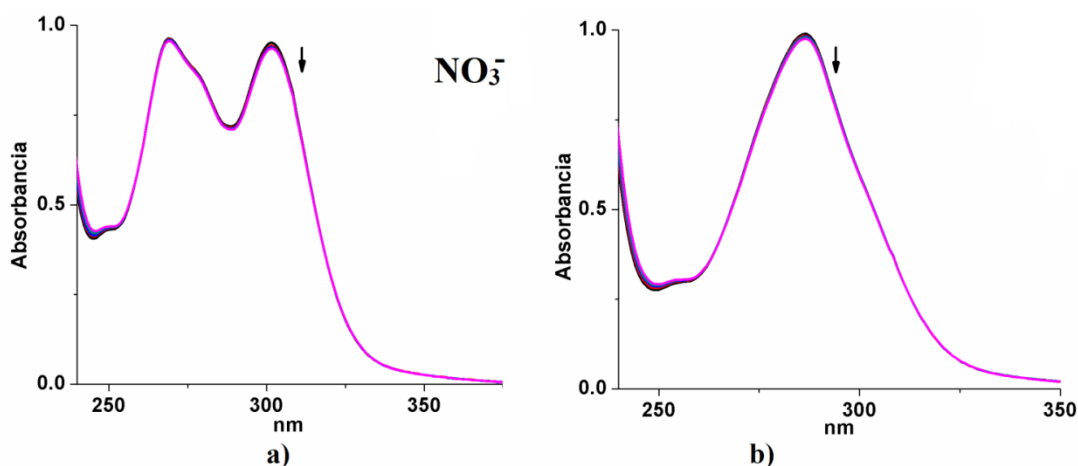


Fig. 5.19 Cambios en los espectros UV-Vis de a) **2.TbuCl** y b) **3Iso.Cl** (100 μ M) en CH_3CN tras la adición de 3.0 equiv. de NO_3^- como sal de TBA^+ .

2.2.1. Constantes de asociación por UV-vis

Las constantes de asociación del complejo **2Tbu.Cl** obtenidas por absorción UV-Vis se colectan en la Tabla 5.3, se muestra que **2Tbu.Cl** tiene una constante de asociación hacia el anión CN^- ($5.01 \times 10^5 \text{M}^{-1}$) dos órdenes de magnitud más grande que las constantes de los halogenuros Br^- y I^- ($3.4\text{-}7.1 \times 10^3 \text{M}^{-1}$), por lo tanto, la tendencia de afinidad es: $\text{CN}^- \gg \text{Br}^- > \text{I}^-$; estos resultados son consistentes con el tamaño de los aniones y la capacidad del CN^- para formar enlace de retrodonación π con el centro metálico de Pd (II). Aniones básicos producen la desprotonación del grupo fenol, por eso no se calculan constantes de asociación y con aniones como Cl^- , NO_3^- y HSO_4^- no se detectó asociación, pues no produjeron cambios significativos en las titulaciones de UV-Vis

Tabla 5.3. Constantes de asociación K_a (M^{-1}) con aniones (sales de TBA^+) en CH_3CN .

Anion	2.TbuCl K_a
OH^-	desprotonación
F^-	desprotonación
Cl^-	^a
Br^-	$7.16 \times 10^3 \pm 0.03$
I^-	$3.40 \times 10^3 \pm 0.02$
AcO^-	desprotonación
CN^-	$5.01 \times 10^5 \pm 0.03$
H_2PO_4^-	desprotonación
HSO_4^-	^a
NO_3^-	^a

^a No se detectó asociación

En la Fig. 5.20 se muestra el perfil de absorbancia de **2Tbu.Cl** tras la adición de CN^- . El perfil se ajusta a un modelo de relación estequiométrica 1:1.

Fig. 5.20 Perfil de las absorbancia de **2.TbuCl** a 255 y 303 nm en función de concentraciones crecientes de CN^- . Las líneas solidas fueron obtenidas por un ajuste para un modelo 1:1.

En la Fig. 5.21 se observa que la variación de absorbancia a 303 nm del complejo **2Tbu.Cl** con CN^- es significativamente más grande que para los halogenuros, se ajusta a un modelo 1:1 y da las constantes de asociación K_a , discutidas anteriormente.

Fig. 5.21 Titulaciones espectrofotométricas de **2.TbuCl** (100 μM) con halogenuros y cianuro. Las líneas sólidas fueron obtenidas por un ajuste no lineal para un modelo 1:1.

2.3. Estudios por espectrofotometría de emisión fluorescente.

Como se describió en las propiedades de emisión fluorescente, el complejo **2Tbu.Cl** (100 μM , CH_3CN) presenta una banda de emisión verde en 558.0 nm de mínima intensidad (11.5 u. a.); sin embargo, **3Iso.Cl** pierde totalmente su emisión fluorescente amarilla, por este motivo los estudios por emisión fluorescente con los aniones sólo se llevaron a cabo con el complejo **2Tbu.Cl**, los resultados se muestran a continuación.

En forma general, el complejo **2Tbu.Cl** ($\lambda_{\text{exc}}=270$ nm) tras la adición de 1.0 equivalente de aniones básicos como F^- , OH^- , AcO^- y H_2PO_4^- disminuye la intensidad de emisión en la banda verde de 558.0 nm, mientras que la banda en 334 nm aumenta la intensidad, aunque para ambos casos el efecto es mínimo. (Fig. 5.22)

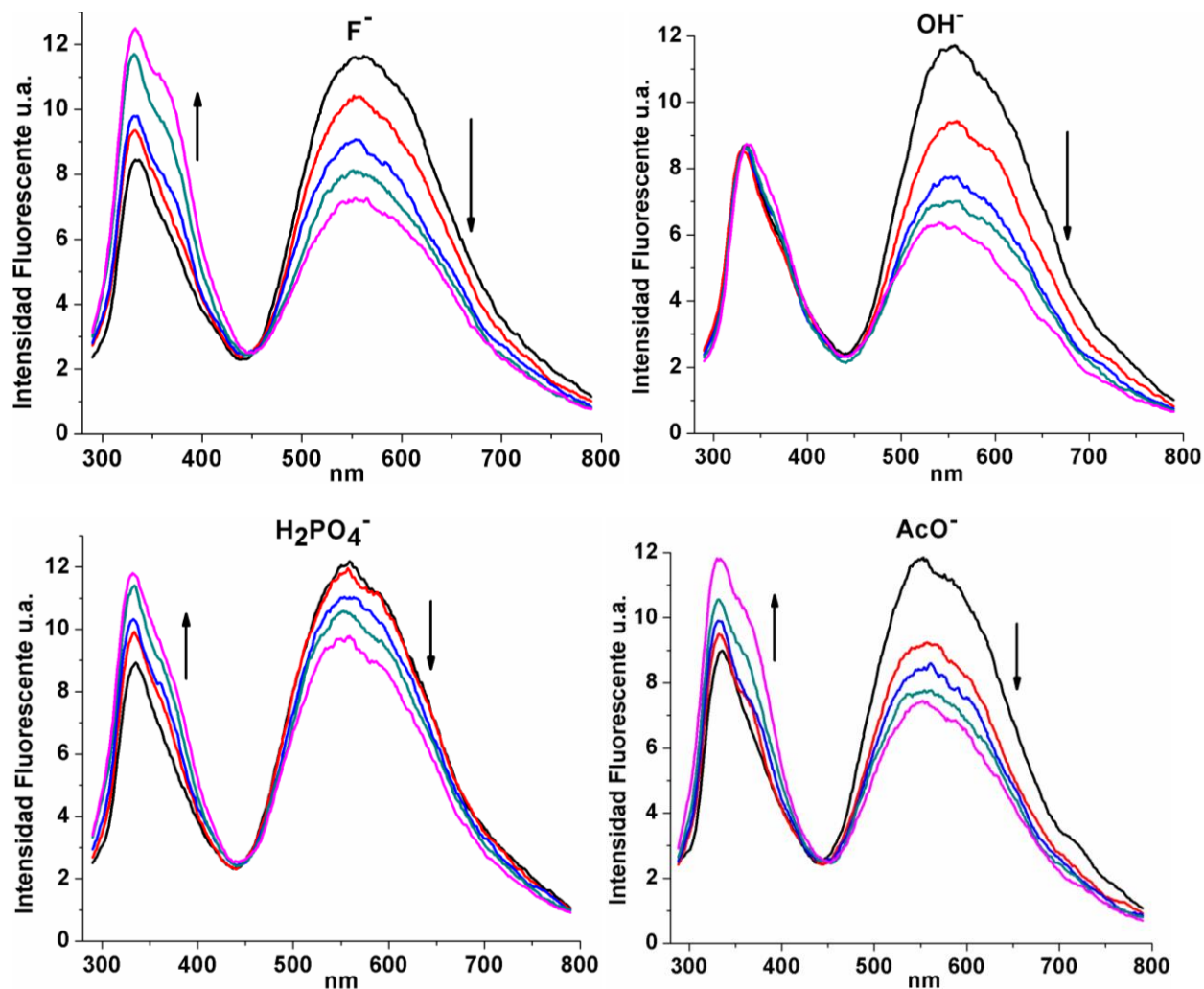


Fig. 5.22 Cambios en los espectros de emisión de **2.TbuCl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 1.0 equiv. de F^- , OH^- , H_2PO_4^- y AcO^- como sales de TBA^+ . ($\lambda_{\text{exc}}=270$ nm)

La adición de 1.0 equivalente de CN^- al complejo **2Tbu.Cl** apaga por completo la mínima emisión fluorescente de la banda verde en 558.0 nm, en contraste con los demás aniones coordinantes no básicos como los halogenuros Cl^- , Br^- y I^- se produce un aumento de la fluorescencia en esa misma banda, aunque no significativo. (Fig. 5.23)

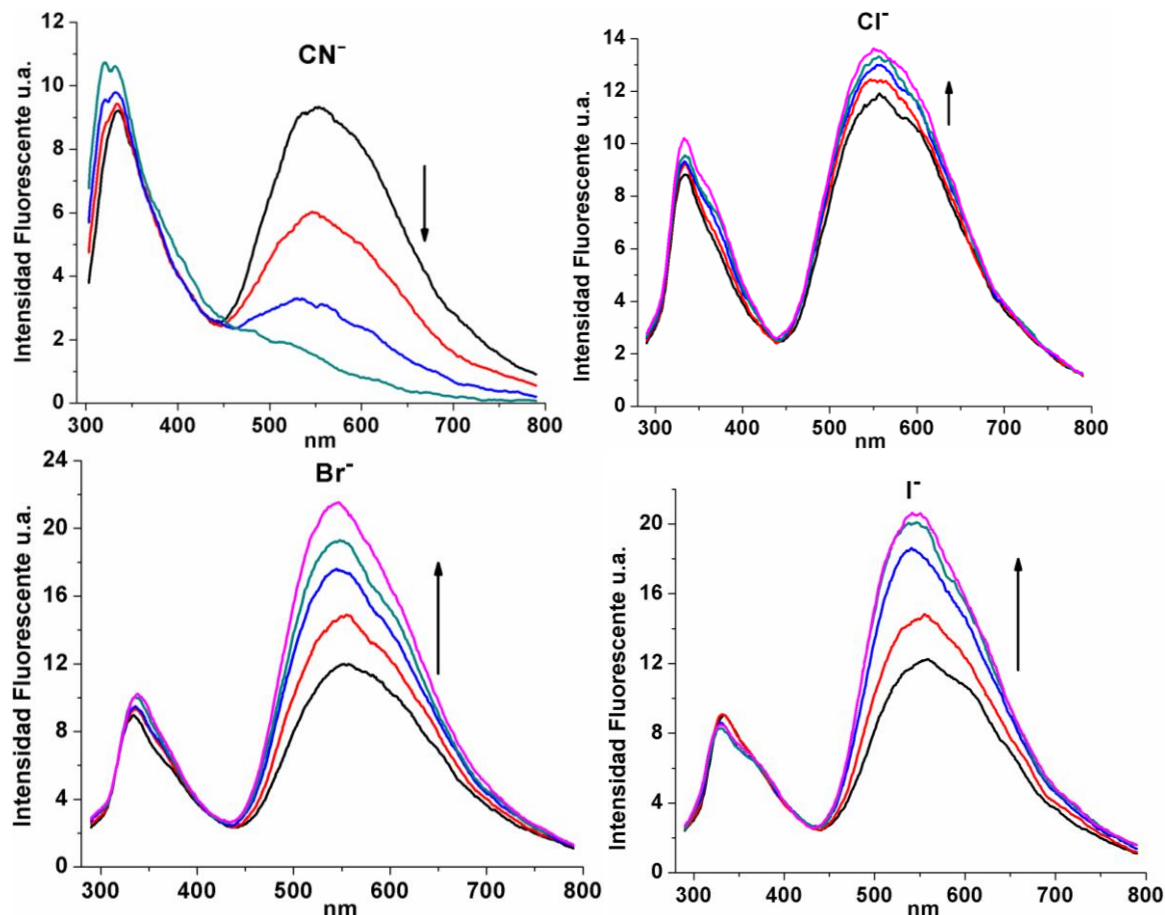


Fig. 5.23 Cambios en los espectros de emisión de **2.TbuCl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 1.0 equiv. de CN^- , Cl^- , Br^- y I^- como sales de TBA^+ . ($\lambda_{\text{exc}}=270 \text{ nm}$)

Las titulaciones con los aniones HSO_4^- y NO_3^- no produjeron cambios espectrales de emisión.

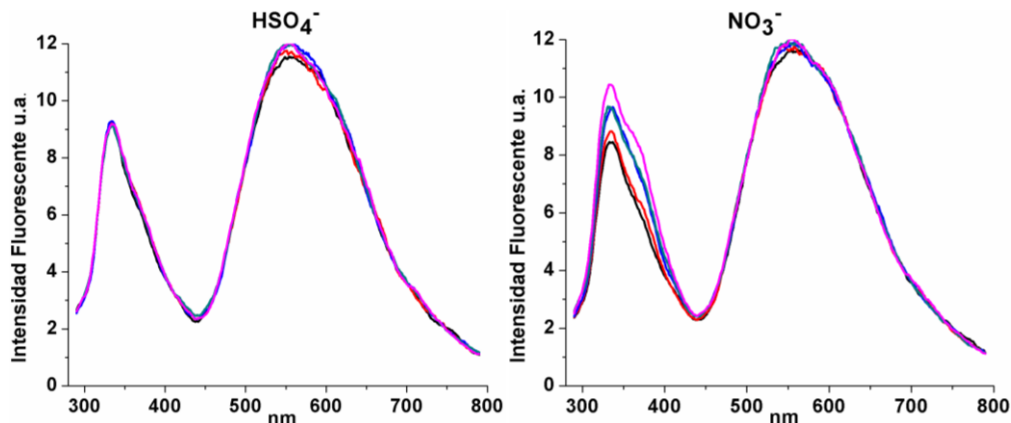


Fig. 5.24 Cambios en los espectros de emisión de **2.TbuCl** (100 μM) en CH_3CN tras la adición de 1.0 equiv. de CN^- , Cl^- , Br^- y I^- como sales de TBA^+ . ($\lambda_{\text{exc}}=270 \text{ nm}$)

3. Análisis estructural en estado sólido de 2Tbu.CN y 3Iso.CN

Exitosamente se obtuvieron cristales de los dos complejos a través del intercambio del ligante Cl⁻ por CN⁻: **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**; este proceso se llevó a cabo por reacción en microondas y una posterior evaporación lenta en CH₃CN. En ésta sección se describen dichas estructuras cristalinas por difracción de rayos X de monocristal, en la Tabla 5.4 se presentan sus datos cristalográficos y de refinamiento más importantes.

Tabla 5.4. Datos Cristalográficos y de refinamiento de **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**.

	2Tbu.CN	3Iso.CN
Fórmula Empírica	C ₂₃ H ₃₉ NO ₃ P ₂ Pd	C ₁₉ H ₃₁ NO ₃ P ₂ Pd
Peso molecular	545.89 g/mol	489.79
Temperatura	100(2) K	100(2) K
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n
A	9.9217(4) Å	10.1324(3) Å
B	20.1370(8) Å	18.0826(6) Å
C	14.1496(6) Å	12.8023(4) Å
A	90°	90°
B	106.7313 (8)°	b= 106.5366 (6)°
Γ	90°	90°
Volumen	2707.31(19) Å ³	2248.62(12) Å ³
Z	4	4
Densidad (calculada)	1.339 Mg/m ³	1.447 Mg/m ³
Coefficiente Absorción	0.825 mm ⁻¹	0.985 mm ⁻¹
F(000)	1136	1008
Tamaño del cristal	0.378 x 0.372 x 0.275 mm ³	0.380 x 0.214 x 0.213 mm ³
Rangos de índice	-12<=h<=12, -26<=k<=25, -18<=l<=18	-13<=h<=13, -23<=k<=23, -16<=l<=16
Reflexiones	29373	24390
Reflexiones independientes	6166 [R(int) = 0.0267]	5086 [R(int) = 0.0262]
Método de Refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²	
Bondad de ajuste en F ²	1.038	1.033
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0215, wR2 =0.0499	R1 = 0.0199, wR2 = 0.0460

Ambos complejos **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**, cristalizaron en el sistema monoclinico y grupo espacial $P2_1/n$. Los análisis cristalográficos muestran que los dos cristales tienen una geometría cuadrada plana distorsionada (Figs. 5.25-5.26), como puede observarse en las distancias y ángulos alrededor del centro de paladio (II), d^8 (Tablas 5.5 y 5.6).

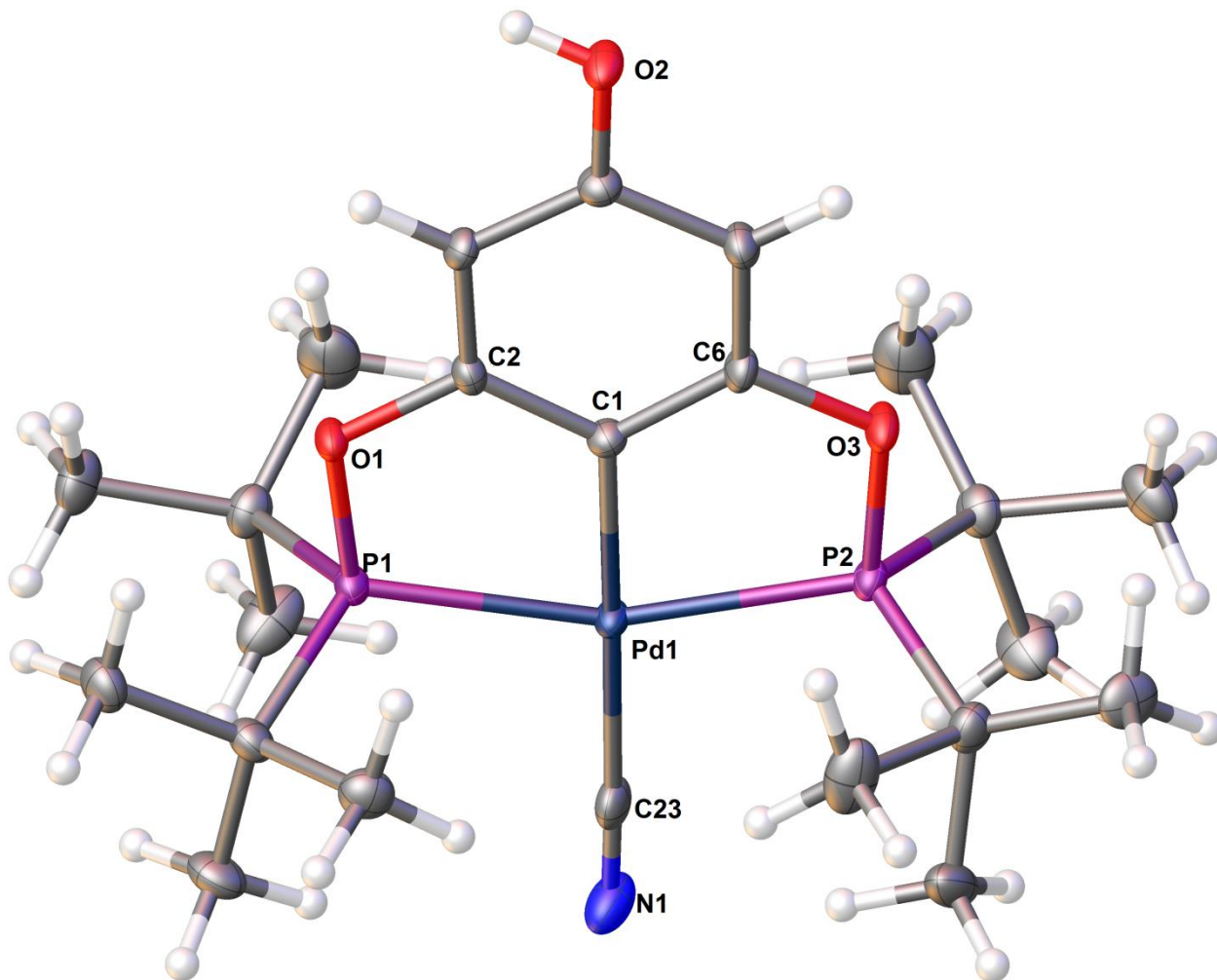


Fig.5.25 Diagrama ORTEP al 50% de probabilidad del complejo neutro **2Tbu.CN**.

Tabla 5.5. Distancias (Å) y ángulos de enlace (°) del cristal **2Tbu.CN**

Distancias de enlace (Å)		Ángulos de enlace (°)	
Pd(1)-C(23)	2.0572(16)	C(23)-Pd(1)-P(1)	99.59(4)
Pd(1)-C(1)	2.0075(14)	C(1)-Pd(1)-P(1)	79.55(4)
Pd(1)-P(1)	2.2856(4)	C(23)-Pd(1)-P(2)	101.36(4)
Pd(1)-P(2)	2.2912(4)	C(1)-Pd(1)-P(2)	79.51(4)
N(1)-C(23)	1.116(2)	C(1)-Pd(1)-C(23)	179.09(6)
P(1)-O(1)	1.6531(10)	P(1)-Pd(1)-P(2)	159.046(14)

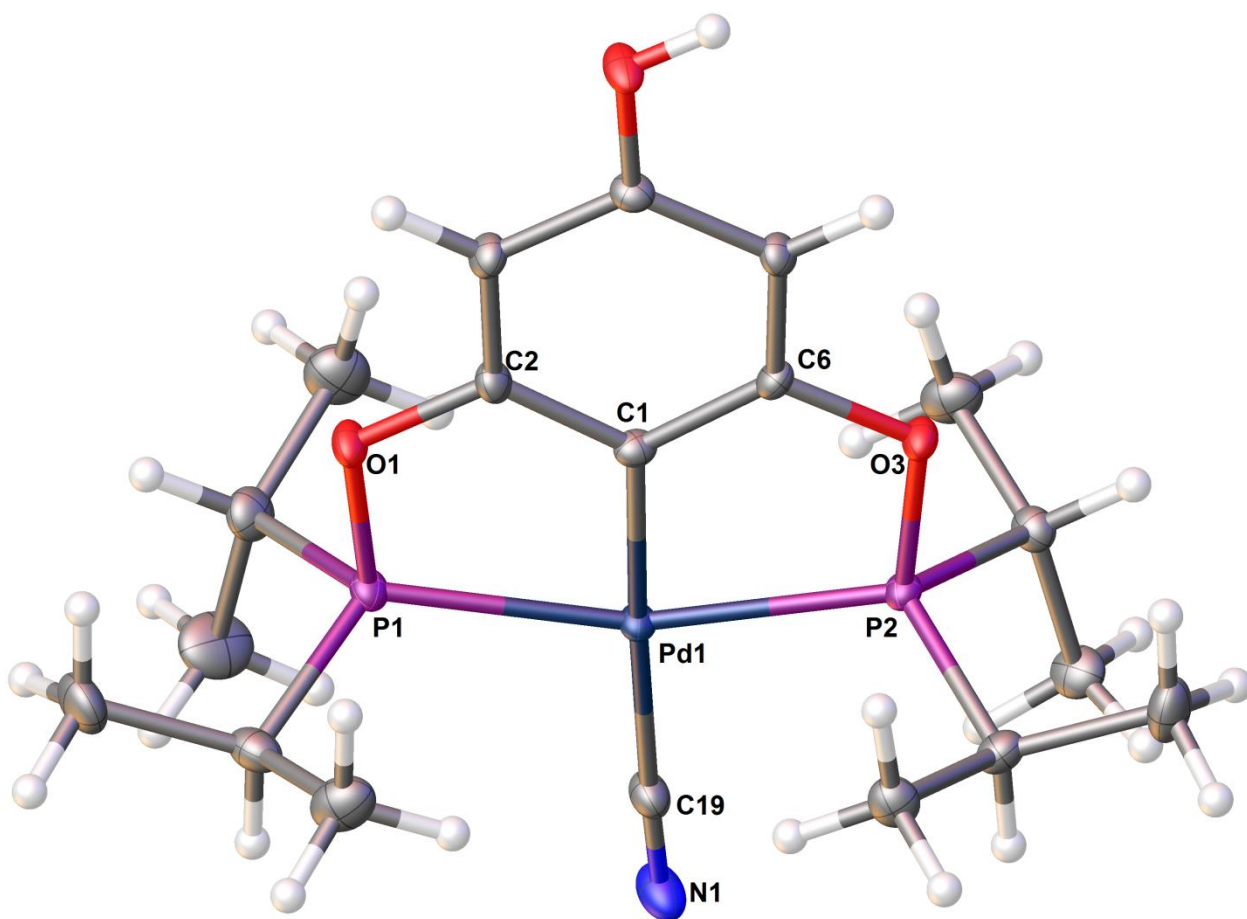


Fig.5.26 Diagrama ORTEP al 50% de probabilidad del complejo neutro **3Iso.CN**.

Tabla 5.6. Distancias (Å) y ángulos de enlace (°) del cristal **3Iso.CN**

Distancias de enlace (Å)		Ángulos de enlace (°)	
Pd(1)-C(19)	2.0363(15)	C(19)-Pd(1)-P(1)	102.60(4)
Pd(1)-C(1)	2.0066(13)	C(1)-Pd(1)-P(1)	79.61(4)
Pd(1)-P(1)	2.2896(4)	C(19)-Pd(1)-P(2)	98.52(4)
Pd(1)-P(2)	2.2734(4)	C(1)-Pd(1)-P(2)	79.34(4)
N(1)-C(19)	1.147(2)	C(1)-Pd(1)-C(19)	177.39(6)
P(1)-O(1)	1.6540(10)	P(2)-Pd(1)-P(1)	158.778(13)

El efecto trans estructural se puede medir experimentalmente usando cristalografía de rayos X, y se observa como un estiramiento de los enlaces entre el metal y el ligando trans a un ligando trans-influyente. El estiramiento de hasta 0.2 Å ocurre con ligandos de influencia trans fuerte.⁶³

Las distancias de enlace paladio-carbono Pd-CN son de 2.0572(16) y 2.0363(15) Å, para los complejos **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**, respectivamente. Estas longitudes de enlace concuerdan con la de

su análogo ciano-complejo borilbis(trimetilfosfina) de paladio (II) de Pd-CN=2.052(3) Å,⁶⁴ ya que en ambos complejos los ligandos ciano tienen en posición opuesta grupos de C(sp²).

Se han reportado variedad de estructuras cristalinas de cloro-complejos de paladio (II), con distancias de enlace Pd-Cl en el rango de 2.291-2.371 Å, como los 2,6-bis(diisopropilfosfonito)benceno⁶⁵ y 2,6-bis(di-tertbutilfosfonito)piridina⁶⁶, esta distancia es más grande que la de Pd-CN de 2.057 Å y se le puede atribuir a que el ligante cianuro tiene la habilidad de retrodonación π ya que tiene orbitales antienlazantes π^* .

Así mismo, las distancias Ni-Cl de los cloro-complejos de Ni (II): 2,6-bis(di-tertbutilfosfonito)piridina⁶⁶, 2,6-bis(di-tert-butilfosfinoil)-4-(3,5-dinitrobenzoiloxi)fenil, 2,6-bis(diisopropilfosfonito)fenol⁶⁷ y 2,6-bis(difenilfosfonito)fenol⁴⁴ se encuentran en el rango de 2.1433-2.202 Å, que es una distancia menor comparándola con la de Pd-Cl (2.291-2.371 Å) esto se debe a que el metal en el complejo de cierta forma está polarizado y la influencia trans observada para iones d⁸ es Pt²⁺ > Pd²⁺ > Ni²⁺.⁶⁸

Las distancias Pd-C (sp²) son de 2.0075(14) y 2.0066(13) Å, para **2Tbu·CN** y **3Iso·CN** respectivamente, y están en el rango encontrado para enlaces simples Pd-C(sp²) de 1.97-2.03 Å.

En los complejos tipo pinza bis(fosfonitos) mencionados anteriormente y el trifluoroacetato-complejo bis(fosfonito) de Pd (II),⁶⁹ los dos grupos fósforo donadores están en una configuración distorsionada trans y las distancias Pd-P se encuentra en el rango de Pd-P= 2.27-2.31 Å, mientras que para los ciano-complejos de éste trabajo están en 2.27-2.29 Å.

En el cristal **3Iso·CN** el ángulo <C(19)-Pd(1)-P(1) mide 102.60°(4), mientras que el ángulo <C(19)-Pd(1)-P(2) es de 98.52°(4), el primero es considerablemente más grande que el segundo y están muy distorsionados (lo mismo se observa para **2Tbu·CN**), esto se atribuye a la repulsión estérica entre el cianuro coordinado al paladio y los residuos isopropilos y terbutilos de los fosfonitos 1 y 2. Por consiguiente, los ángulos <P-Pd-P también son afectados por dicha repulsión y miden entre 158.7°-159.0° alejados de la idealidad de $\approx 180.0^\circ$. Sin embargo, el ángulo <C(1)-Pd(1)-C(23) en **2Tbu.CN** mide 179.09°(6) debido a que el ligante cianuro se coordina al paladio en una forma simétrica, además de que tiene una geometría lineal. El ángulo <C(1)-Pd(1)-C(23) en **3Iso.CN** es de 177.39°(6).

En **2Tbu.CN**, el ángulo formado entre los dos grupos terbutilos unidos a un mismo átomo de fósforo mide en el rango de 114.47°-115.18°, mientras que su análogo entre dos grupos isopropilos en **3Iso.CN** mide 107.29°-108.27°, el primero es más grande porque entre los grupos terbutilos hay más repulsión estérica que en los isopropilos.

La estructura cristalina de difracción de rayos X de **2Tbu.CN** revela que una de las interacciones no covalentes que estabiliza su red es mediante dos enlaces de hidrógeno; el de más fuerza se da entre el nitrógeno del cianuro de una molécula del complejo y el hidrógeno del grupo hidroxilo de otra molécula con una distancia $H\cdots N = 1.89\text{\AA}$ y $\angle OHN = 177^\circ$; el segundo enlace de hidrógeno, de menor fuerza, tiene una distancia $H\cdots O = 2.60\text{\AA}$ y $\angle CHO = 154^\circ$ y se da entre el hidrógeno de un grupo metilo con el oxígeno de un hidroxilo de otra molécula adyacente, se clasifica como una interacción débil.⁷⁰ (Fig 5.27)

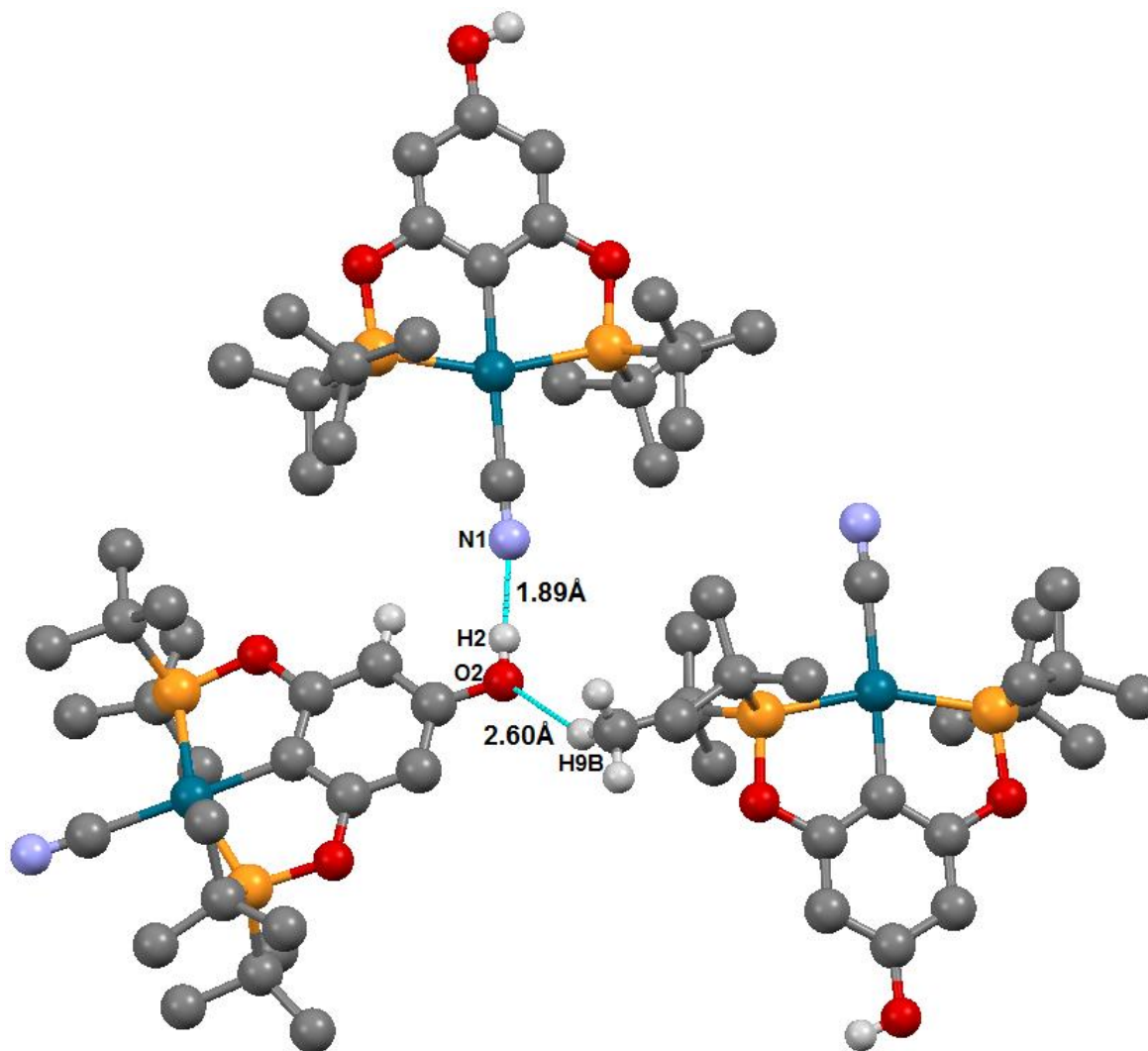


Fig. 5.27 Perspectiva cristalina de **2Tbu.CN** mostrando sus enlaces de hidrógeno.

Tabla 5.7. Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno $H\cdots A$ de **2Tbu.CN**

Enlace de hidrógeno	$H\cdots A$ (Å)	$\angle DHA$ (°)	D-H (Å)	$D\cdots A$ (Å)	
1	H(2) \cdots N(1)	1.898(10)	177(2)	0.823(9)	2.7204(17)
2	H(9) \cdots O(2)	2.603	154.10	0.980	3.510

De igual forma, la red del ciano-complejo **3Iso.CN** cuenta con dos enlaces de hidrógeno dado entre el nitrógeno del cianuro de una molécula y el hidrógeno del grupo hidroxilo de otra molécula con una distancia $H\cdots N=1.94\text{\AA}$ y ángulo $\sphericalangle OHN=178^\circ$, se cataloga dentro de una fuerza moderada. El segundo enlace de hidrógeno, es una interacción débil también del tipo $CH\cdots O$, con distancia $H\cdots O=2.72\text{\AA}$ y $\sphericalangle CHO=115.0^\circ$, entre el hidrógeno de un grupo metilo con el oxígeno de un hidroxilo de otra molécula adyacente.⁷⁰ (Fig. 5.28)

Podemos observar que estas distancias son ligeramente mayores en comparación con la de los enlaces de hidrógeno del complejo **2Tbu.CN**, y se puede deber al mayor efecto hidrofóbico por los grupos terbutilos.

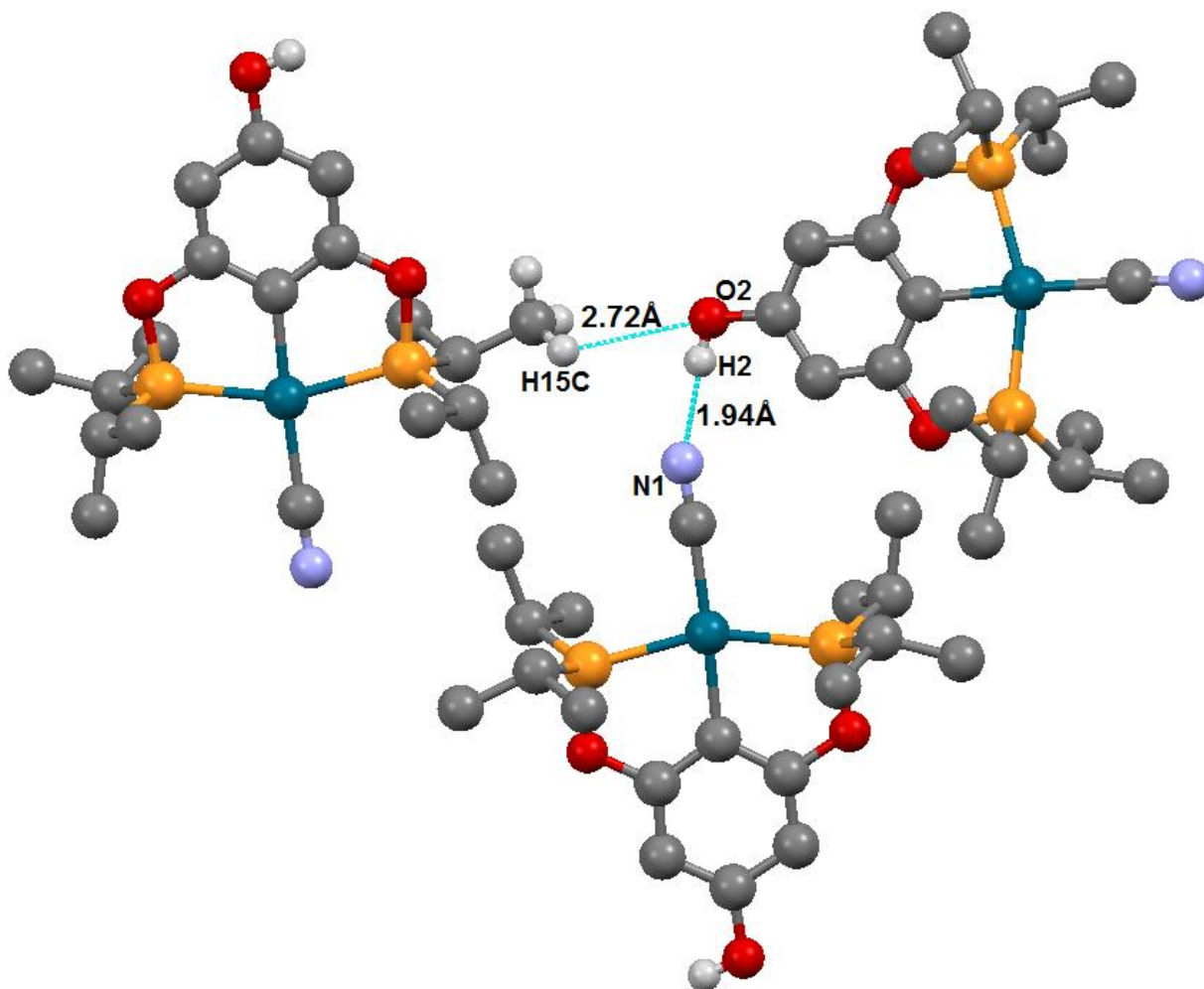


Fig. 5.28 Perspectiva cristalina de **3Iso.CN** mostrando su enlace de hidrógeno.

Tabla 5.8. Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno $H\cdots A$ de **3Iso.CN**.

Enlace de hidrógeno	$H\cdots A$ (Å)	$\sphericalangle DHA$ (°)	D-H (Å)	$D\cdots A$ (Å)	
1	H(2) \cdots N(1)	1.945(10)	178(2)	0.821(9)	2.7658(17)
2	H(15C) \cdots O(2)	2.72	115.5°	0.980	3.267 Å

A continuación se presentan las perspectivas cristalinas de las redes de los enlaces de hidrógeno en **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**, Figs. 5.29-5.30.

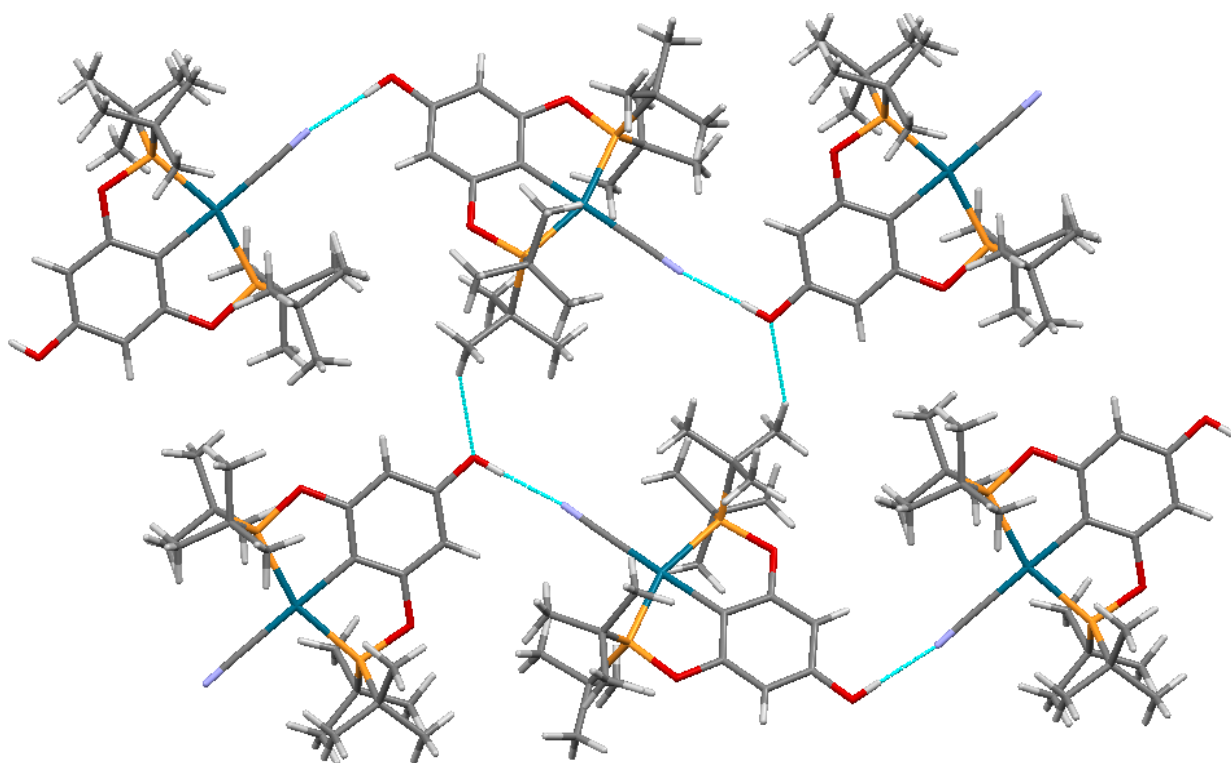


Fig.5.29 Perspectiva cristalina de la red de enlaces de hidrógeno en **2Tbu.CN**.

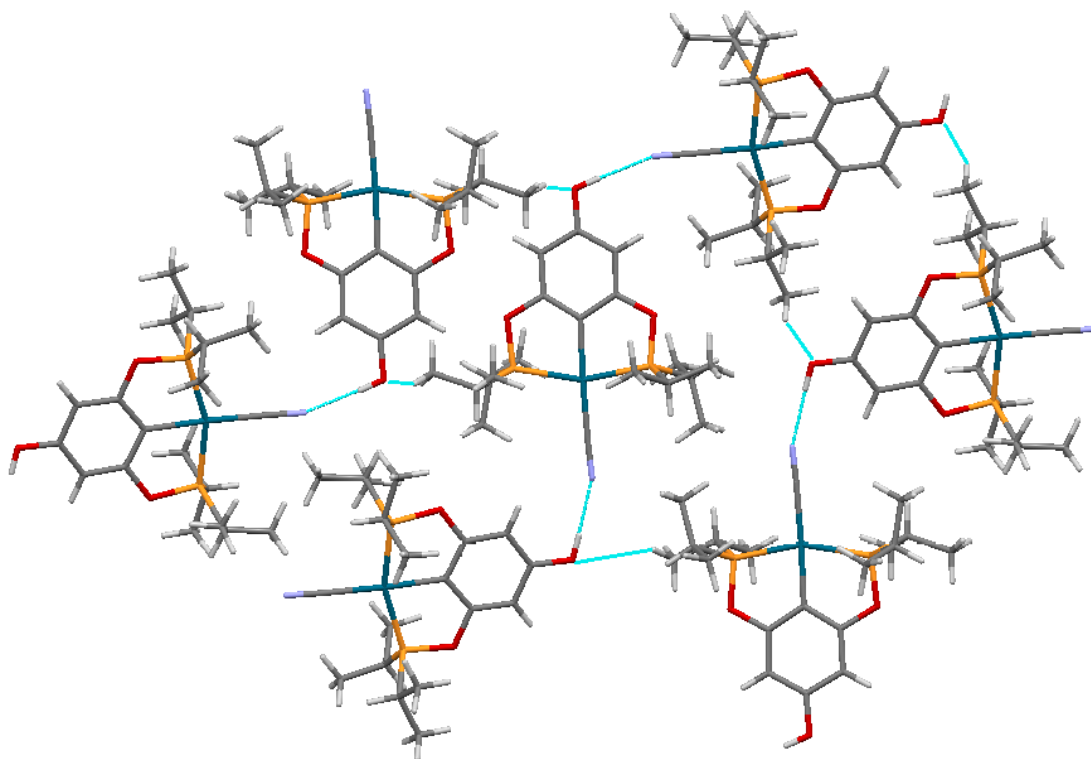


Fig.5.30 Perspectiva cristalina de la red de enlaces de hidrógeno en **3Iso.CN**.

Otra de las fuerzas no covalentes en las estructuras de los cristales **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** es la interacción CH- π , establecido entre un hidrógeno de un metilo de uno de los grupos terbutilo (o isopropilo en **3Iso.CN**) de una molécula del complejo con el sistema π del anillo del fenol de otra molécula; sus distancias H $\cdots\pi$ y ángulos \angle C-H- π son: 2.83Å, \angle 167.7° y 2.59Å, \angle 172.5°, para **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**, respectivamente y son similares a los sistemas cristalinos CH(sp³)- π investigados por Nishio *et al.*⁷¹. La distancia H $\cdots\pi$ es más grande para **2Tbu.CN** porque hay más repulsión estérica entre los grupos terbutilos. (Fig. 5.31)

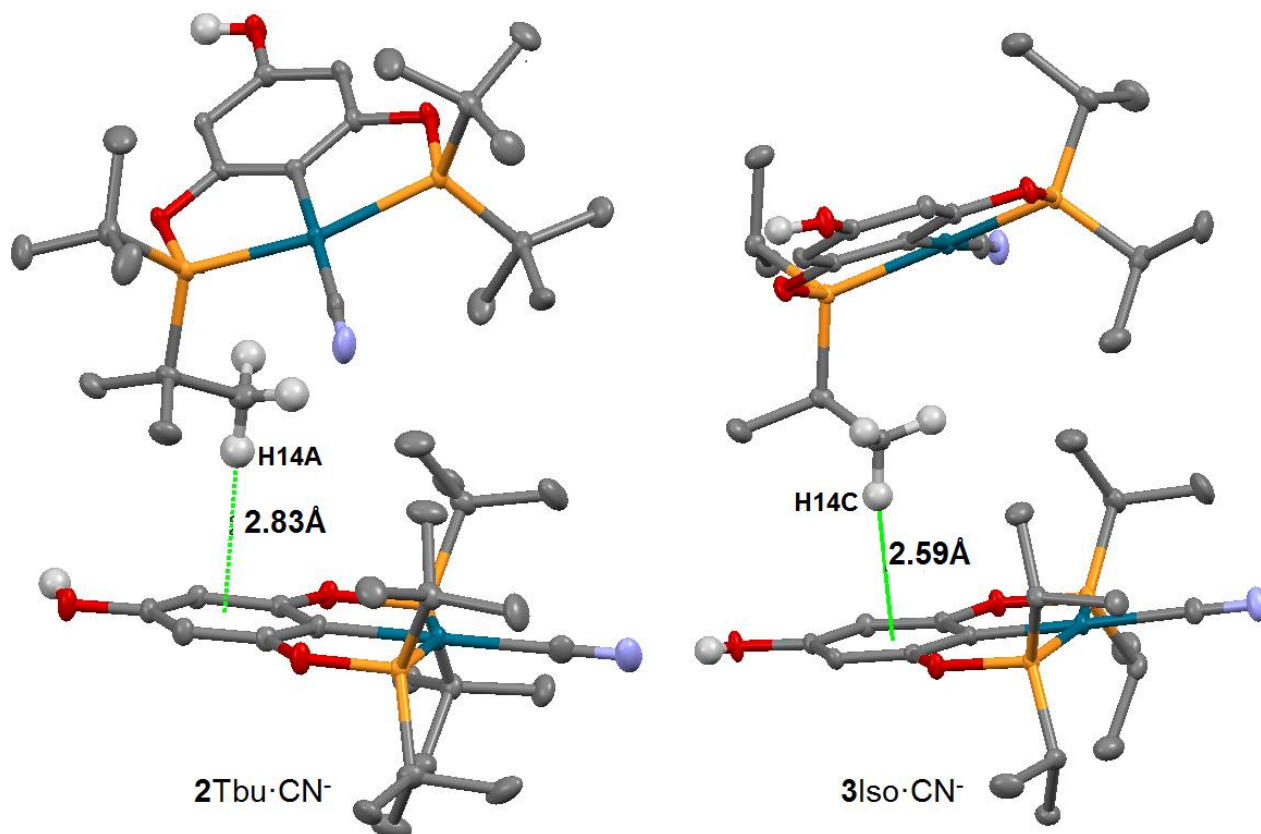


Fig. 5.31. Interacción CH $\cdots\pi$ en los cristales **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**.

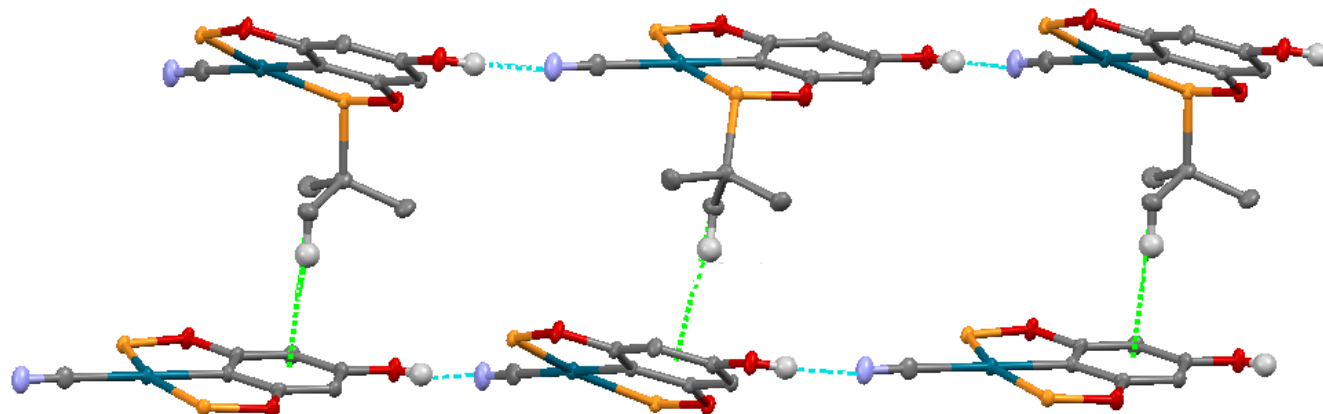


Fig.5.32 Perspectiva cristalina de la red CH- π en **2Tbu.CN**. Además se observan enlaces de hidrógeno N \cdots H. Se omiten átomos para mayor claridad.

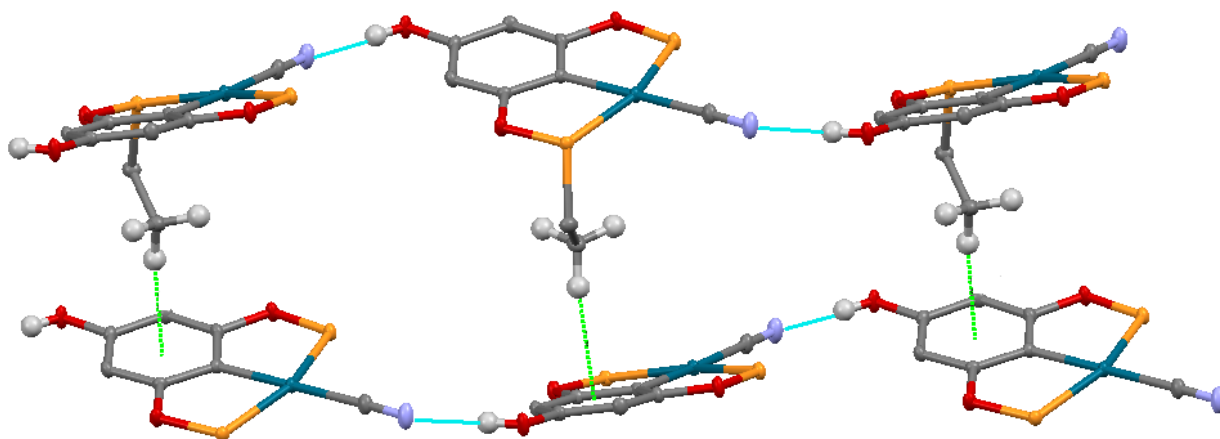


Fig. 5.33 Perspectiva cristalina de la red CH- π en **3Iso.CN**. Además se observan enlaces de hidrógeno N...H. Se omiten átomos para mayor claridad.

3.1 Caracterización de las estructuras cristalinas **2Tbu.CN** y **3Iso.CN**

La caracterización de los cristales **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** se realizó mediante RMN de: ^1H , ^{13}C , ^{31}P ; MS-CI, MS-MALDI-TOF; IR-ATR.

RMN de ^1H

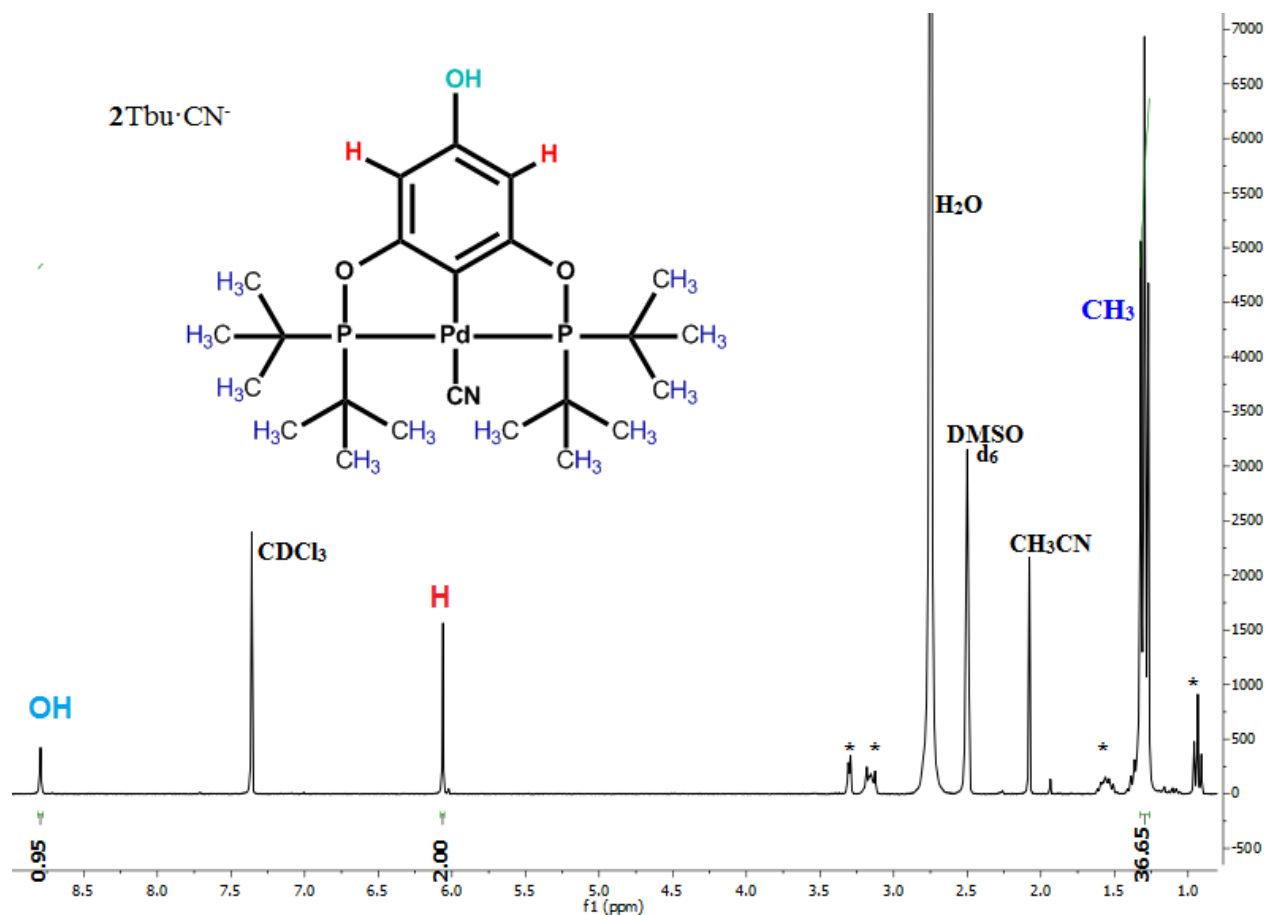


Fig. 5.34 Espectro de RMN de ^1H del cristal **2Tbu.CN** en $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1. 300 MHz. * TBA.

En la Fig. 5.34 se presenta el espectro de RMN de ^1H del cristal **2Tbu.CN**; cabe mencionar que el sistema de solventes usado fue una mezcla de $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, ya que los cristales eran insolubles en CDCl_3 (sus análogos cloro-complejos son muy solubles en dicho solvente) y en $\text{DMSO } d_6$ no se observa la señal del $-\text{H}$ del grupo hidroxilo $-\text{OH}$, probablemente por su hidratación.

En el complejo **2Tbu.CN** son tres tipos de hidrógenos; el que se observa a mayor campo bajo en 8.8 ppm es el hidrógeno del grupo fenol $-\text{OH}$; en 6.06 ppm, el singulete de los dos únicos hidrógenos simétricos en el anillo aromático; y en 1.30 ppm los 36 hidrógenos de los metilos. Valores similares para los mismos tipos de hidrógeno se observan en el espectro de RMN de ^1H para el cristal **3Iso.CN** (Fig. 5.35), además de la señal de los cuatro grupos $-\text{CH}$ de los isopropilos en 2.32 ppm. Todas las señales no pertenecientes a los complejos se asignan como sigue: en 7.37 ppm CDCl_3 , 2.5 ppm $\text{DMSO } d_6$, 2.70 ppm H_2O y los cuatro pequeños multipletes en 3.29, 3.15, 1.56 y 0.93 ppm pertenecen al tetrabutilamonio, proveniente de su sal como cianuro durante la reacción de intercambio en el cloro-complejo, que debido a su naturaleza higroscópica se adhirió a los cristales formados.

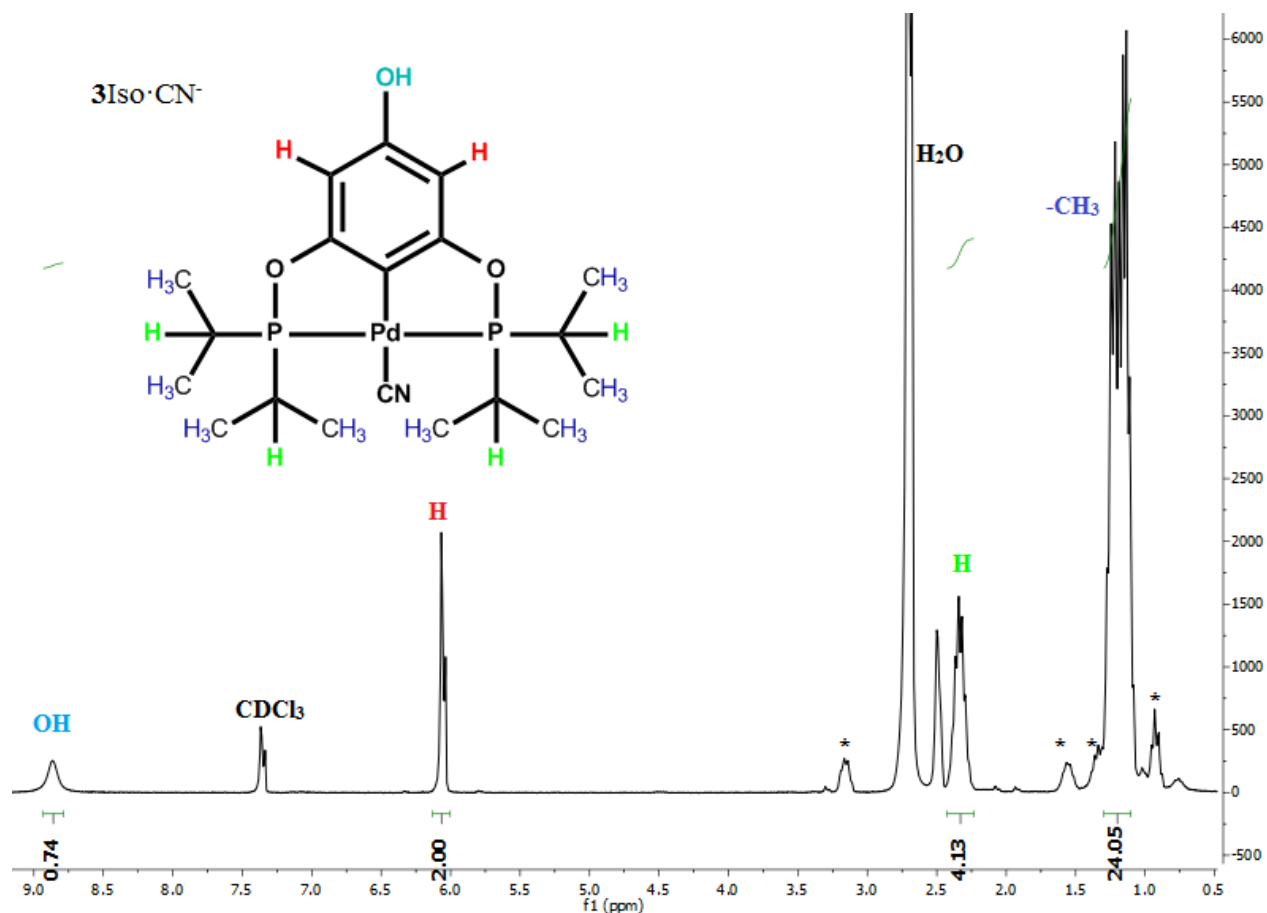


Fig. 5.35 Espectro de RMN de ^1H del cristal **3Iso.CN** en $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1. 300 MHz. * TBA.

2Tbu.CN: RMN ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, 25 °C) δ : 1.30 (m, 36H), 6.06 (s, 2H), 8.79 (s, 1H).

3Iso.CN: RMN ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, 25 °C) δ : 1.30 (m, 24H), 2.34 (m, 4H), 6.06 (s, 2H), 8.87 (s, 1H).

RMN ^{13}C

El espectro del RMN de ^{13}C del cristal **3Iso.CN** se presenta en la Fig. 5.36. Son siete tipos de carbonos totales en la molécula, lo cuales se enumeran de forma ilustrativa en su estructura química y se asignan sus señales en el espectro. Las señales más importantes de mencionar, son: en 136.09 ppm se encuentra la señal del carbono del ligante ciano coordinado al paladio; en 156.52 ppm el carbono base del oxígeno del grupo hidroxilo; a mayor campo bajo en 166.25 ppm, el carbono C-O-P y el carbono unido al paladio se encuentra en 93.97 ppm. A campos altos en 17.24 ppm los grupos metilos y en 28.81 ppm los grupos $-\text{CH}$ de los isopropilos. Las 4 señales con menor intensidad en 58.81, 23.89, 19.62 y 13.57 ppm conciernen al tetrabutilamonio.

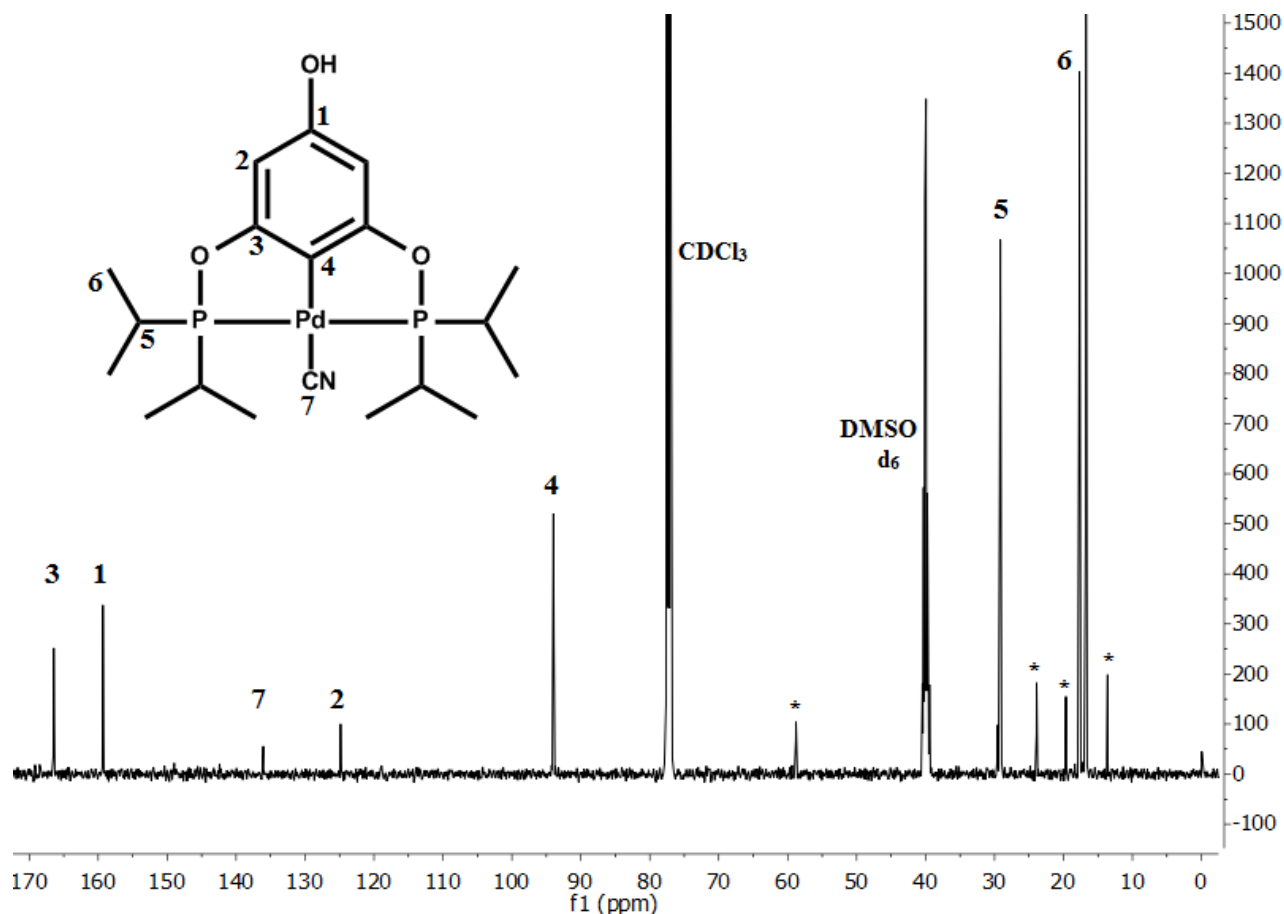


Fig. 5.36 Espectro de RMN de ^{13}C del cristal **3Iso.CN** en $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1. 300 MHz. * TBA.

2Tbu.CN: RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, 25 °C) δ : 27.59, 39.1, 93.64, 158.67, 167.2

3Iso.CN: RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, 25 °C) δ : 16.71, 17.24, 28.81, 93.97, 124.65, 136.09, 159.33, 166.40.

RMN de ^{31}P

Los espectros de RMN de ^{31}P de los dos análogos cloro-complejos de paladio (II) en CDCl_3 , consisten en una señal prominente en 193.86 y 188.87 ppm, para **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl**, respectivamente. En tanto, las señales de los cristales de **2Tbu.CN** están en 204.64 ppm y **3Iso.CN**, en 196.41 ppm, más desplazadas por la mezcla del sistema $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1, sin embargo, la tendencia de que la señal de los complejos con terbutilos está más desplazada a campos bajos que el de los complejos con isopropilos es la misma. (Fig. 5.37)

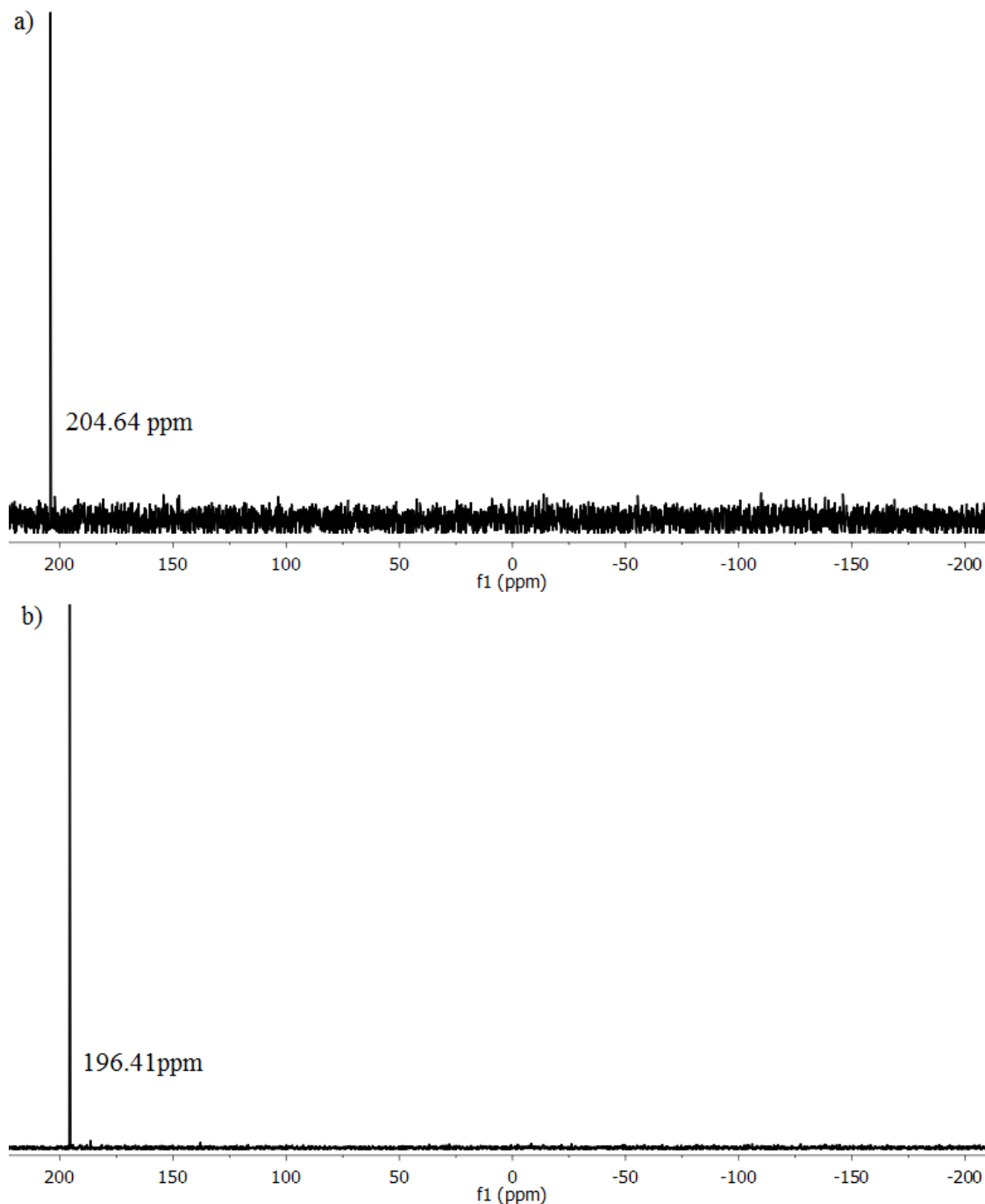


Fig. 5.37 Espectros de RMN de ^{31}P de a) **2Tbu.CN** y b) **3Iso.CN** en $\text{CDCl}_3/\text{DMSO } d_6$ 3:1. 300 MHz.

Espectrometría de Masas

3Iso.CN por ionización química (CI).

El cristal **3Iso.CN** también se evidenció por la técnica de espectrometría de masas por ionización química (CI) en inyección directa, ésta técnica suave, en la cual las moléculas del gas reactivo son ionizadas por ionización electrónica, y subsecuentemente reaccionan con moléculas del analito en fase gas para lograr la ionización. En la Fig. 5.38 se muestra una expansión de su espectro, en donde se observa un pico en $m/z=489$, dicha relación masa/carga se atribuye a la especie indicada en la misma figura. Asimismo, el siguiente pico en $m/z=490$, denota la especie $[M+H]^+$ con relación 1:1 al pico en 489 m/z .

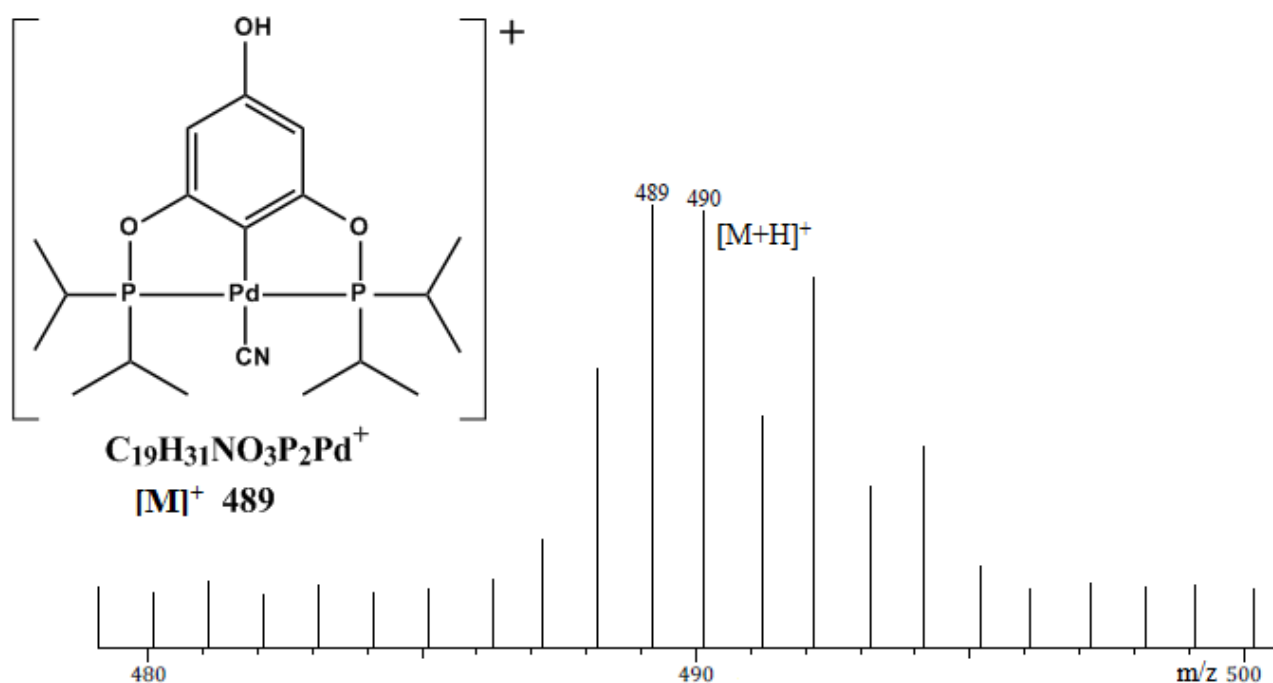


Fig. 5.38 Expansión del espectro de CI de **3Iso.CN** y especie propuesta para el pico base $[M]^+$.

2Tbu.CN por MALDI-TOF

La masa del cristal **2Tbu.CN** no fue detectada por la técnica de ionización química, pero, sí logró ser observada por la técnica de MALDI-TOF, que también es de ionización suave e involucra un láser que recorre una matriz de moléculas pequeñas para hacer que las moléculas del analito entren a la fase gaseosa sin fragmentarse o descomponerse. En la espectrometría de masas por MALDI-TOF, la fuente de iones se da por la desorción/ionización de una matriz asistida por láser y el detector de masas es un analizador de tiempo de vuelo.⁷²

En la Fig. 5.39 se presenta una expansión del espectro de masas de **2Tbu.CN**, el pico de mayor intensidad corresponde a la especie del ciano-complejo $[M+H]^+$ de $m/z=546.56$, de menor intensidad también se observa la especie $[M]^+$ con $m/z = 545.5$

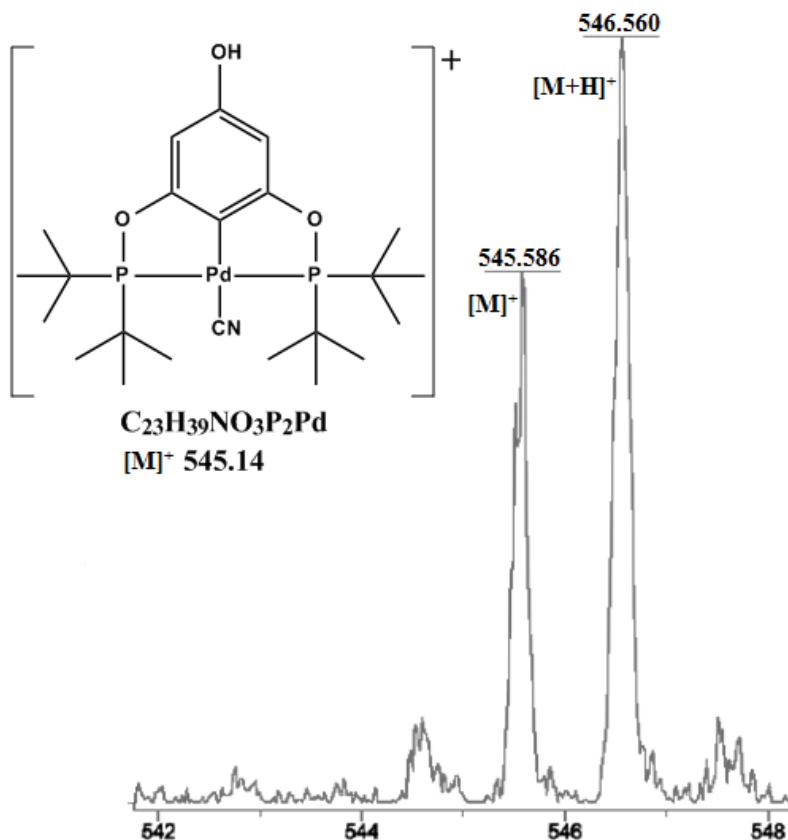


Fig. 5.39 Expansión del espectro MALDI-TOF de **3Iso.CN** y especie propuesta para el pico $[M+H]^+$.

Espectroscopía de infrarrojo

En la figura 5.40 se presentan como comparación los espectros de infrarrojo del cloro-complejo de grupos terbutilos **2Tbu.Cl** y su análogo ciano-complejo **2Tbu.CN**, se destacan sus señales más importantes. En ambos espectros se observan los siguientes estiramientos: C-H de los metilos en 2957cm^{-1} ; C=C sp^2 entre $1400-1600\text{cm}^{-1}$; P-O en 1034cm^{-1} ; mientras que el estiramiento O-H del hidroxilo en 3361cm^{-1} , solo es evidente en el cloro-complejo ya que no está tan hidratado como el cristal del ciano-complejo. No es posible asegurar por éste experimento el enlace Pd-Cl ya que se encuentra en regiones de frecuencias en el rango de $150-360\text{cm}^{-1}$, así como el enlace Pd-CN, sin embargo, la presencia del ligante ciano coordinado al paladio en el complejo se evidencia en una señal con frecuencia de 2135cm^{-1} , la cual corresponde al estiramiento del enlace triple $C\equiv N$.⁷³ Este comportamiento fue similar al de los complejos con grupos isopropilos, cuyos espectros de infrarrojo se muestran en la Fig. 5.41.

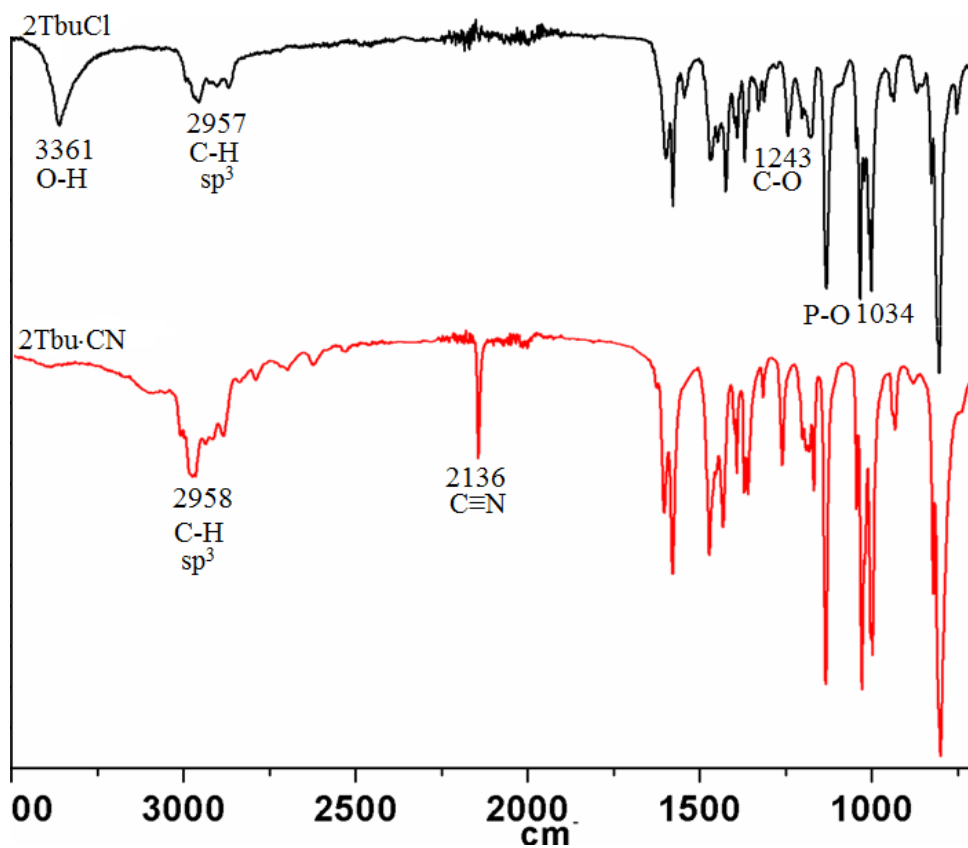


Fig. 5.40 Espectros de infrarrojo de 2Tbu.Cl (negro) y 3Iso.CN (rojo).

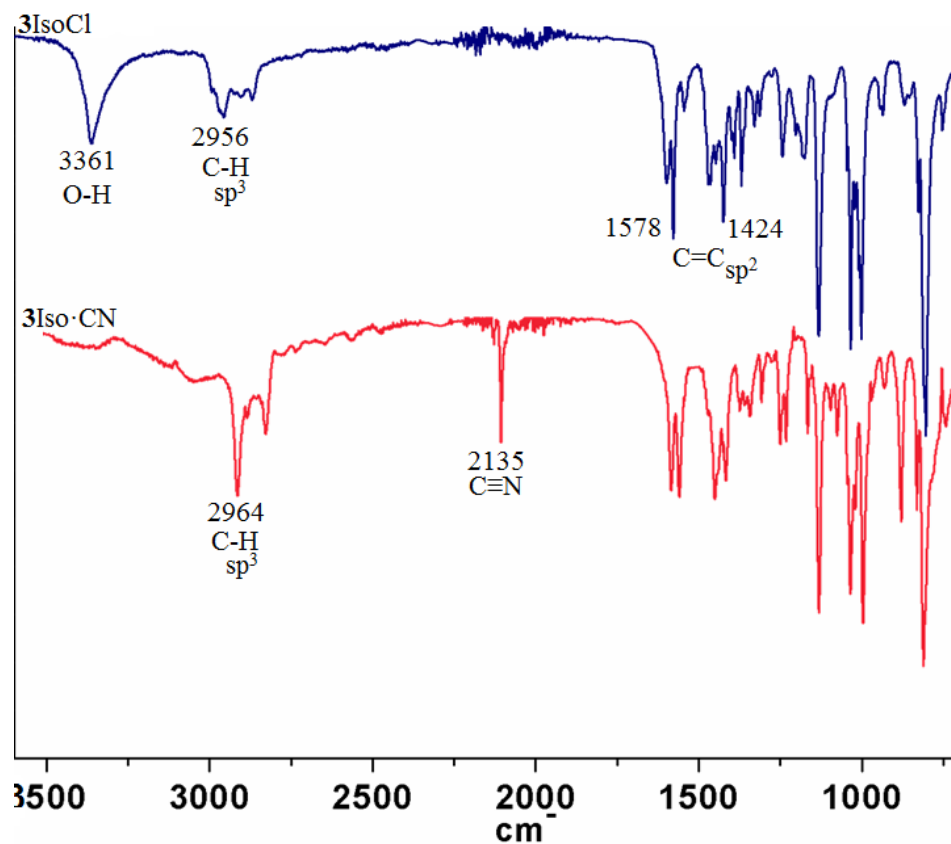


Fig. 5.41 Espectros de infrarrojo de 3Iso.Cl (azul) y 3Iso.CN (rojo).

4. Estudios de reconocimiento molecular y detección de tioles biológicos

Adicionalmente el complejo 2Tbu.Cl también se estudió para el reconocimiento molecular de los tioles biológicos: cisteína (Cys), glutatión (GSH), homocisteína (Hcy) y N-Acetyl cisteína (NAC) cuyas estructuras químicas se presentan en la Fig. 5.42. Estos análisis se efectuaron por espectrofotometrías de absorción UV-Vis y de emisión fluorescente; en un medio micelar acuoso (bromuro de cetiltrimetilamonio 5.0 mM, buffer MOPS 10.0 mM, pH 7.4) con el objetivo de proporcionar un ambiente hidrofóbico. Los resultados se presentan a continuación.

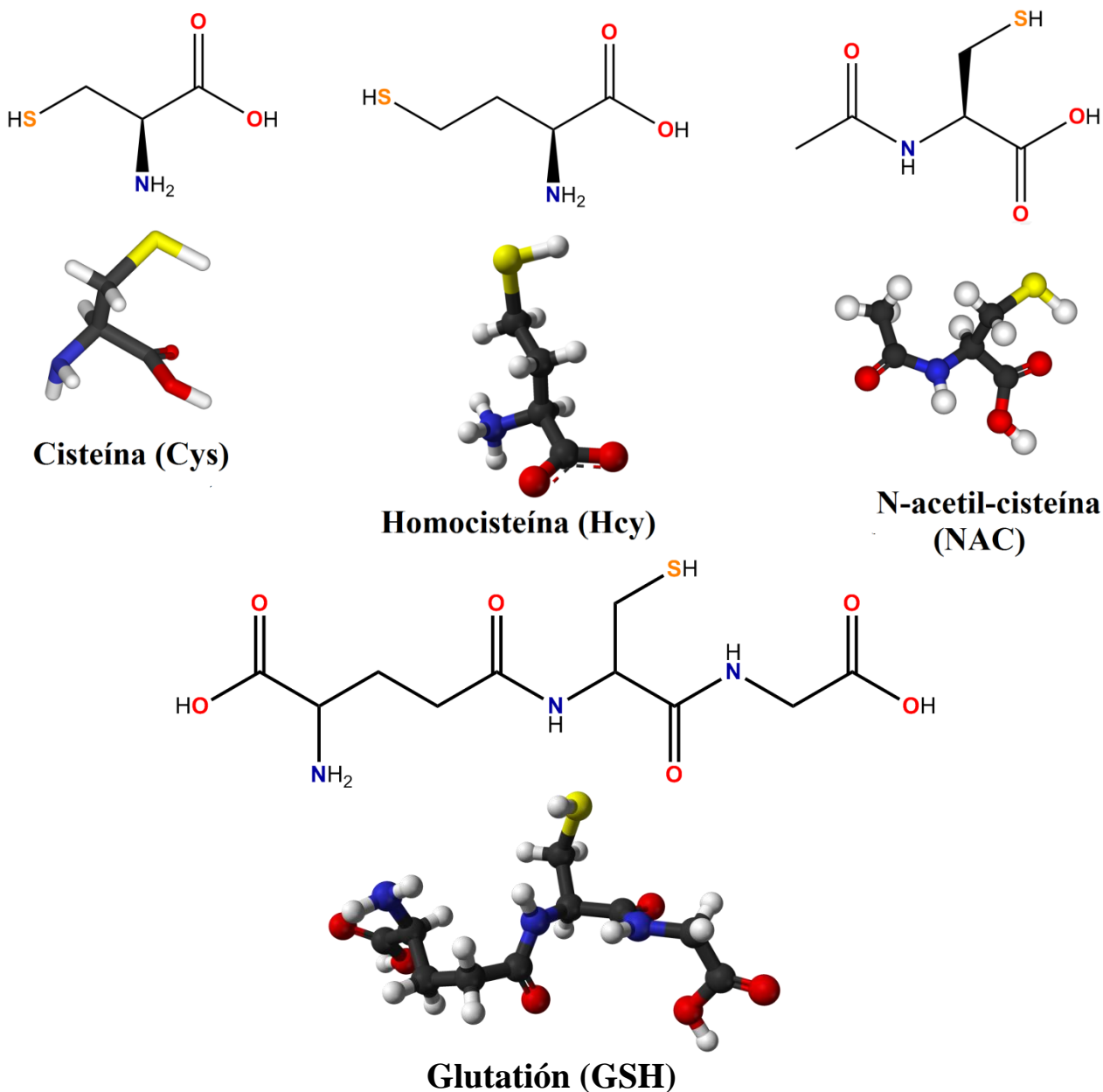


Fig. 5.42 Estructuras químicas y modelos tridimensionales de los tioles biológicos usados en este estudio.

4.1. Estudios por espectrofotometría de emisión fluorescente

Primeramente, se llevaron a cabo pruebas de la estabilidad del complejo **2Tbu.Cl** en medio acuoso micelar de bromuro de cetiltrimetilamonio 5.0 mM, buffer MOPS 10.0 mM, pH 7.4. El complejo tuvo emisión estable y constante durante 3.0 horas.

Las titulaciones por emisión fluorescente del complejo **2.TbuCl** (100 μ M) con los tioles biológicos cisteína (Cys), homocisteína (Hcy), N-acetil-cisteína (NAC) y glutatión (GSH) dieron resultados interesantes y muy diferentes a la de los aniones; ya que tras la adición de sólo 1.0 equivalente de cada tiol a **2Tbu.Cl** se observa un incremento drástico de emisión fluorescente en la banda verde de $\lambda=510$ nm, I.=11.4 u. a. del complejo libre junto con un desplazamiento hipsocrómico a longitudes entre 497-500 nm. El incremento más grande de emisión resultó con el glutatión ($\Delta I=187.5$); cisteína ($\Delta I=108.9$); homocisteína ($\Delta I=34.2$); N-acetil-cisteína ($\Delta I=14.2$). (Fig. 5.43) Como resultado dicha emisión fluorescente verde pudo ser observada bajo radiación UV. (Fig. 5.44)

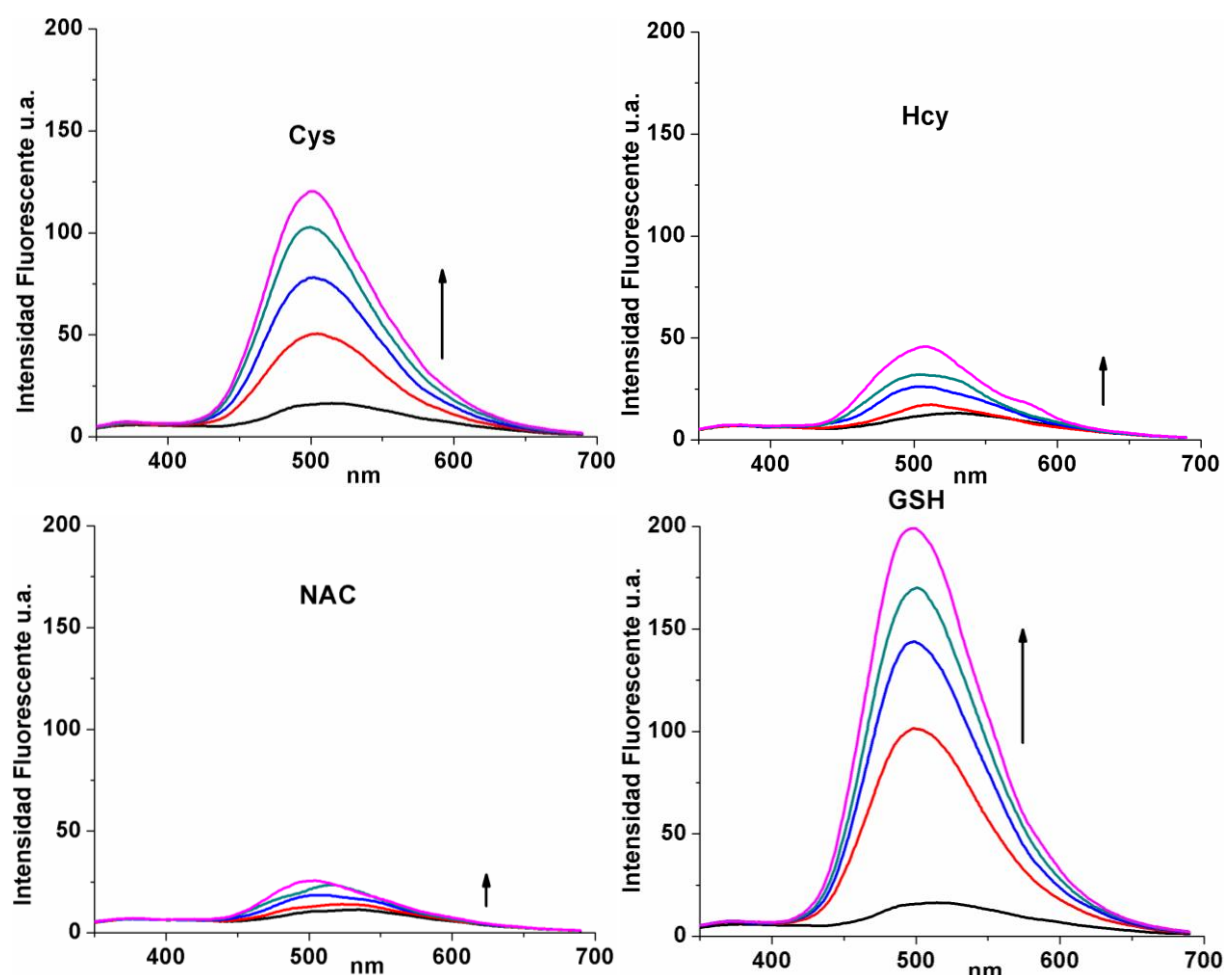


Fig. 5.43. Cambios en los espectros de emisión de **2Tbu.Cl** (100 μ M) tras la adición de 1.0 equivalente de cada uno de los tioles en solución acuosa micelar (CTAB 5.0mM/ MOPS 10.0mM, pH=7.4).

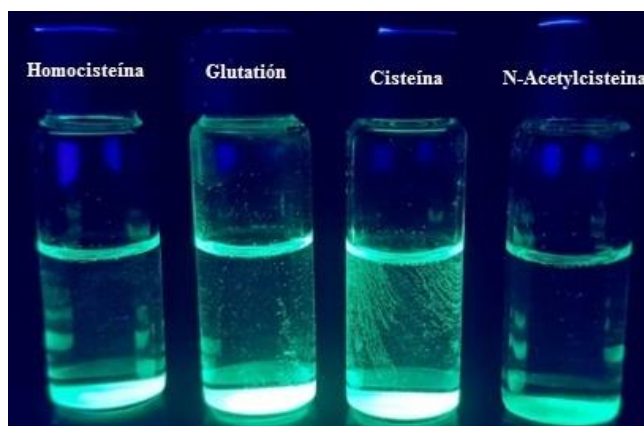


Fig. 5.44 Complejo **2Tbu.Cl** tras la adici3n de 1.0 equiv. de los tioles en medio acuoso de CTAB 5.0mM/ MOPS 10.0mM, pH=7.4. Bajo radiaci3n UV (365nm.)

4.1.1. Constantes de asociaci3n por emisi3n fluorescente

Los datos experimentales de las titulaciones fluorim3tricas anteriores se ajustan bien a un modelo de asociaci3n 1:1 utilizando la ecuaci3n (3). El an3lisis de los perfiles de titulaci3n del complejo **2Tbu.Cl** con los tioles biol3gicos indica encendido de la emisi3n fluorescente verde por la complejaci3n del 3tomo de S al centro met3lico del paladio (II) de **2Tbu.Cl**.

$$I_{obs} = I_0 + \frac{(I_{\infty} - I_0) \left\{ [R]_0 + [A] + \frac{1}{K_A} - \left[([R]_0 + [A] + \frac{1}{K_A})^2 - 4[R]_0[A] \right]^{0.5} \right\}}{2[R]_0} \quad (3)$$

Donde I_{obs} es el cambio en la intensidad en funci3n a la concentraci3n del analito (tiol), I_0 representa la intensidad fluorescente inicial del receptor (**2Tbu.Cl**), I_{∞} corresponde a la intensidad a saturaci3n con el analito, $[R]_0$ concierne a la concentraci3n del receptor, $[A]$ es la concentraci3n del analito y K_A simboliza la constante de asociaci3n. Cabe mencionar que esta misma ecuaci3n se utiliz3 para los ajustes 1:1 de las titulaciones de absorci3n UV-Vis de **2Tbu.Cl** y **3Iso.Cl** con los aniones en CH_3CN .

Las constantes de asociaci3n del complejo **2Tbu.Cl** con los tioles obtenidas por emisi3n se colectan en la Tabla 5.9. **2Tbu.Cl** tiene una constante de asociaci3n hacia el glutati3n de $2.75 \times 10^4 M^{-1}$ y cisteína de $1.80 \times 10^4 M^{-1}$ una orden de magnitud mayor que las constantes de homocisteína ($2.76 \times 10^3 M^{-1}$) y N-acetil-cisteína ($4.08 \times 10^3 M^{-1}$) así, la tendencia de afinidad es: $GSH \approx Cys > NAC \approx Hcy$. La afinidad concuerda con la tendencia del volumen estérico que sigue el orden ascendente: $Hcy < Cys \ll GSH$; ⁷⁴ aunque GSH tiene el mayor impedimento estérico, también tiene la posibilidad de formar enlaces de hidrógeno por medio de sus motivos de ácido carboxílicos con el grupo OH del fenol de **2Tbu.Cl** aumentando los puntos de contacto.

Tabla 5.9. Constantes de asociación K_a (M^{-1}) de **2Tbu.Cl** con los tioles biológicos e en solución acuosa micelar (CTAB 5.0mM/ MOPS 10.0mM, pH=7.4) y relación I_F/I_0 .

Tiol	K_a	I_F/I_0
Cys	$1.80 \times 10^4 \pm 0.06$	18.33
HCy	$2.76 \times 10^3 \pm 0.08$	9.16
NAC	$4.08 \times 10^3 \pm 0.04$	5.10
GSH	$2.75 \times 10^4 \pm 0.03$	19.46

En la Fig. 5.45 se observa que la variación de absorbancia a 500 nm del complejo **2Tbu.Cl** con los tioles, los perfiles se ajustan a un modelo 1:1.

Fig. 5.45 Perfiles fluorimétricas de **2.TbuCl** (100 μ M) con los tioles estudiados. Las líneas sólidas fueron obtenidas por un ajuste no lineal para un modelo 1/1.

4.2. Estudios por espectrofotometría de absorción UV-vis

El espectro de absorción UV-Vis del complejo **2Tbu.Cl** en medio acuoso micelar (CTAB 5.0 mM, buffer MOPS 10.0 mM, pH 7.4) es similar al de CH_3CN , pues se constituye por dos bandas de absorción en 271 y 311nm. Después de la adición de 3.0 equivalentes de cada uno de los tioles se produce un efecto hipocrómico (disminución de absorbancia) en la banda de 313 nm: glutatión ($\Delta A=0.17$); cisteína ($\Delta A=0.11$); homocisteína ($\Delta A=0.05$); N-acetil-cisteína ($\Delta A=0.08$); esta tendencia es la misma que se observa en emisión fluorescente. (Fig.5.46)

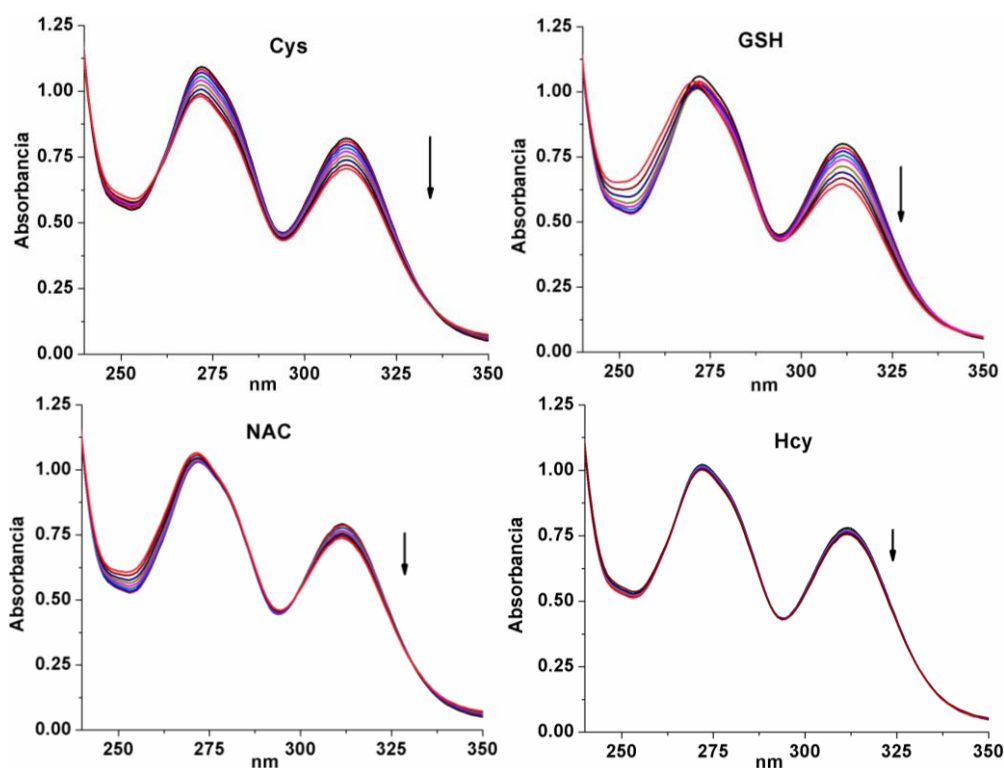


Fig. 5.46. Cambios en los espectros de UV-Vis de **2Tbu.Cl** (100 μM) tras la adición de 3.0 equivalentes de cada uno de los tioles en solución acuosa micelar (CTAB 5.0mM/ MOPS 10.0mM, pH=7.4).

En la Fig. 5.47 se muestra el perfil de absorbancia de la titulación del complejo **2Tbu.Cl** con glutatión a 375 nm y la constante de asociación obtenida de $2.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, que resultó similar a la obtenida por emisión fluorescente de $2.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, corroborando la relación estequiométrica 1:1.

Fig. 5.47 Perfil de absorbancia de **2.TbuCl** (100 uM) con glutatión en medio acuoso micelar, pH= 7.4. La línea sólida se obtuvo por un ajuste no lineal para un modelo 1:1.

4.3. Espectrometría de masas MALDI-TOF

Se llevaron a cabo intentos de cristalización de los dos complejos **2Tbu.Cl** con el tiol cisteína en CH₃CN: H₂O 9:1 v/v, y los materiales sólidos obtenidos se analizaron por espectrometría de masas MALDI-TOF que es una técnica suave. Las señales que evidencian la coordinación del paladio de los complejos con el átomo de azufre de la cisteína Pd-S se muestran en las regiones de los espectros de masas de baja resolución en la Fig. 5.48.

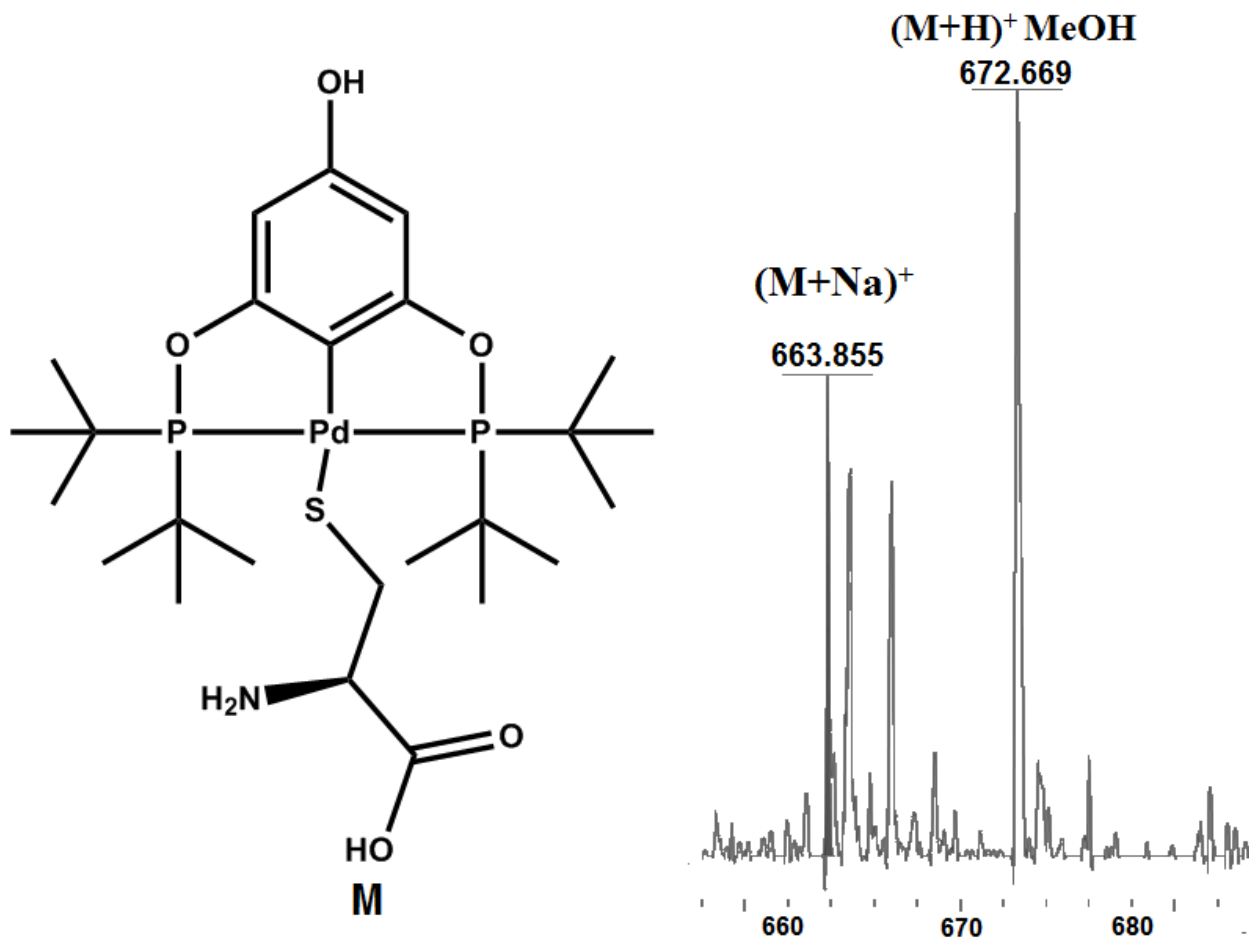


Fig. 5.48 Región del espectro MALDI-TOF de la especie propuestas $[2\text{Tbu}\cdot\text{Cys}+\text{Na}]^+$ y $[2\text{Tbu}\cdot\text{Cys}+\text{MeOH}]^+$

CONCLUSIONES

La sal de triflato de la meso-tetraarilporfirina catiónica **1.OTf** se puede usar como un quimiosensor fluorescente intrínseco para la detección de yoduro en soluciones acuosas a pH = 7.4. En estas condiciones, la adición de NaI muestra una respuesta rápida con una extinción total de la emisión roja de **1.OTf**, con una afinidad particularmente alta ($K_{1.I^-} = 1.9 (\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) y fuerte apagamiento ($K_{SV} = 1.1 (\pm 0.1) \times 10^5$). Este cambio óptico permite la detección de iones yoduro en el intervalo de concentración nanomolar con muy buena selectividad sobre otros aniones comunes como el cianuro, el cloruro, el fosfato y el pirofosfato, solo el bromuro provoca mínima interferencia. El proceso de extinción podría explicarse por una combinación de mecanismo dinámico con la formación simultánea de enlaces de hidrógeno y extinción estática de PET, posiblemente tanto en el estado excitado como en el estado fundamental. Sobre la base de las estructuras cristalinas de **1.Br** y **1.OTf**, RMN ^1H , titulaciones fluorimétricas y de UV-Vis, se propone el modo de unión del yoduro que implica interacciones de enlace de hidrógeno C – H \cdots I con porfirinas catiónicas monoméricas, estos contactos se estabilizan mediante un ambiente hidrofóbico alrededor del sitio de unión. Los cálculos de DFT y las mediciones de tiempo de vida mostraron que la interacción de **1.OTf** con el yoduro es principalmente de naturaleza iónica. Esta propiedad de unión sobresaliente de **1.OTf** a yoduro lo hace prometedor para otras aplicaciones como microscopía de imagen de fluorescencia.

El complejo organometálico tipo pinza de paladio (II) POCOP **2Tbu.Cl**, se puede usar como quimiosensor intrínseco colorimétrico y fluorescente para la multi-detección de los iones cianuro y fluoruro en CH_3CN y de tioles biológicos como cisteína y glutatión en solución acuosa micelar a pH=7.4. En CH_3CN , la adición de cianuro exhibe una respuesta y especificidad rápidas que generan un cambio de color de transparente a naranja, este cambio óptico basado en la coordinación del CN^- al centro metálico de paladio (II) con una afinidad alta ($K_a = 5.01 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$); las estructuras cristalinas de los complejos **2Tbu.CN** y **3Iso.CN** respaldan estos resultados. La adición de fluoruro a **2Tbu.Cl** generan un color amarillo brillante por desprotonación del grupo –OH de fenol en el complejo.

Además **2Tbu.Cl** puede ser usado como quimiosensor fluorescente para los tioles biológicos glutatión y cisteína en medio acuoso micelar pH=7.4, pues se presenta un incremento drástico de la

emisión fluorescente verde del complejo; la afinidad a glutatión medida por la constante de asociación es de $2.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ y para cisteína de $1.80 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

En general, estos resultados resaltan aún más la utilidad de una síntesis simplificada y de alto rendimiento de receptores organometálicos basados en metales de transición como quimiosensores de multidetección para analitos con importancia biológica.

CONTRIBUCIONES

Las contribuciones de éste proyecto de investigación se centran en el reconocimiento y detección de especies aniónicas a través del desarrollo de sensores moleculares sintéticos ya que a pesar del enorme progreso logrado hasta ahora, sigue siendo un verdadero desafío, especialmente en medio acuoso si se quieren lograr aplicaciones en ámbitos biológicos, médicos y ambientales.

El quimiosensor **1.OTf**, constituido por una porfirina tetra-catiónica de base libre en forma de sal triflato presentado en este trabajo, es relativamente sencillo, sin embargo, cuenta con características que lo hacen un sensor fluorescente altamente selectivo para yoduro en medio acuoso; ya que las porfirinas catiónicas unidas a grupos hidrofóbicos piridinio periféricos son predominante monoméricas en soluciones acuosas, debido a que son motivos cargados positivamente separados del anillo de la porfirina por espaciadores metilenos, evitando así su homoasociación. **1.OTf** detecta selectivamente yoduro en el intervalo de concentración nanomolar (180 nM) con buena selectividad sobre otros aniones inorgánicos comunes. La mayoría de los sensores moleculares para aniones basados en porfirinas funcionan sólo en disolventes orgánicos.

Por otra parte, los complejos organometálicos de fenol tipo pinza POCOP han sido estudiados para diversas aplicaciones en áreas como la catálisis, las ciencias de los materiales para el desarrollo de nuevos sistemas luminiscentes/magnéticos y química bioinorgánica debido a sus propiedades estructurales, electrónicas y fotofísicas; sin embargo, su estudio en el reconocimiento molecular de analitos con importancia biológica aún permanece inexplorado. El complejo **2Tbu.Cl** evaluado en éste trabajo resultó un sensor fluorescente para cisteína y glutatión en medio acuoso micelar pH 7.4 ya que con 1.0 equivalente de estos tioles producen un encendido significativo de la emisión del complejo. Además la adición de 1.0 equivalente de CN^- a **2Tbu.Cl** origina un cambio espectral de absorción UV-Vis particular acompañado de un cambio colorimétrico.

Algunas técnicas de detección típicas para aniones en muestras biológicas incluyen métodos electroquímicos y potenciométricos, cromatografía iónica, electroforesis capilar, etc. y presentan diversas desventajas como su alto costo, difícil operación, baja reproducibilidad, interferencias con otros analitos de la muestra. El desarrollo de quimiosensores eficientes tendrían más ventajas como buenas selectividad y sensibilidad, respuesta rápida, buen límite de detección y bajos costos comparado con las técnicas anteriores.

REFERENCIAS

- (1) Singh, N.; Jang, D. O. *Org. Lett.* **2007**, 9 (10), 1991–1994.
- (2) Anslyn, E. V. *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (3), 687–699.
- (3) Steed Jonathan W. und Atwood, J. L. *Jon Wiley Sons*, **2009**.
- (4) Kaur, N.; Kaur, G.; Fegade, U. A.; Singh, A.; Sahoo, S. K.; Kuwar, A. S.; Singh, N. *Trends Anal. Chem.* **2017**, 95, 86–109.
- (5) Sharma, H.; Kaur, N.; Singh, A.; Kuwar, A.; Singh, N. *J. Mater. Chem. C* **2016**, 4 (23), 5154–5194.
- (6) Santos-Figueroa, L. E.; Moragues, M. E.; Climent, E.; Agostini, A.; Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (8), 3489–3613.
- (7) Hamilton, G. R. C.; Sahoo, S. K.; Kamila, S.; Singh, N.; Kaur, N.; Hyland, B. W.; Callan, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44 (13), 4415–4432.
- (8) Wu, P.; Yan, X.-P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (12), 5489–5521.
- (9) Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250 (23), 3081–3093.
- (10) Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Van Rossom, W.; Gale, P. A. *Chem. Rev.* **2015**, 115 (15), 8038–8155.
- (11) Molina, P.; Zapata, F.; Caballero, A. *Chem. Rev.* **2017**, 117 (15), 9907–9972.
- (12) Langton, M. J.; Serpell, C. J.; Beer, P. D. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, 55 (6), 1974–1987.
- (13) Zhao, J.; Yang, D.; Yang, X.-J.; Wu, B. *Coord. Chem. Rev.* **2019**, 378, 415–444.
- (14) Gale, P. A.; Howe, E. N. W.; Wu, X. *Chem. Commun.* **2016**, 1 (3), 351–422.
- (15) Fu, C.-Y.; Li, Y.-Q.; Chen, L.; Wang, Y.; Lin, L.-R. *Inorg. Chim. Acta* **2019**, 495, 118961.
- (16) Bowman-James, K. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38 (8), 671–678.
- (17) Beer, P. D.; Gale, P. A. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2001**, 40 (3), 486–516.
- (18) Butler, S. J.; Parker, D. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (4), 1652–1666.
- (19) Kubik, S. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (10), 3648–3663.
- (20) Lee, H.; Hong, K.-I.; Jang, W.-D. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, 354, 46–73.
- (21) Mori, H.; Tanaka, T.; Osuka, A. *J. Mater. Chem. C* **2013**, 1 (14), 2500–2519.
- (22) Uttamlal, M.; Sheila Holmes-Smith, A. *Chem. Phys. Lett.* **2008**, 454 (4), 223–228.
- (23) Makarska-Bialokoz, M. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, 200, 263–274.
- (24) Kubát, P.; Lang, K.; Anzenbacher Jr., P.; Jursíková, K.; Král, V.; Ehrenberg, B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, No. 6, 933–941.
- (25) Quiroz-Segoviano, R. I. Y.; Serratos, I. N.; Rojas-González, F.; Tello-Solís, S. R.; Sosa-Fonseca, R.; Medina-Juárez, O.; Menchaca-Campos, C.; García-Sánchez, M. A. *Molecules* **2014**, 19 (2), 2261–2285.
- (26) Ding, Y.; Zhu, W.-H.; Xie, Y. *Chem. Rev.* **2017**, 117 (4), 2203–2256.
- (27) Vlascici, D.; Plesu, N.; Fagadar-Cosma, G.; Lascu, A.; Petric, M.; Crisan, M.; Belean, A.; Fagadar-Cosma, E. *Sensors* . 2018.
- (28) Kruk, M. M.; Starukhin, A. S.; Mamardashvili, N. Z.; Mamardashvili, G. M.; Ivanova, Y. B.; Maltseva, O. V. *J. Porphy. Phthalocyanines* **2009**, 13 (11), 1148–1158.
- (29) Ogoshi, H.; Mizutani, T. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, 3 (6), 736–739.
- (30) Starnes, S. D.; Arungundram, S.; Saunders, C. H. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43 (43), 7785–7788.
- (31) Ding, Y.; Zhu, W.-H.; Xie, Y. *Chem. Rev.* **2016**.
- (32) Jagessar, R. *Nat. Sci.* **2008**, 6, 1545–1740.
- (33) Lee, C.-H.; Lee, S.; Yoon, H.; Jang, W.-D. *Chem. – A Eur. J.* **2011**, 17 (49), 13898–13903.

- (34) Lin, W.; Cen, T.-Y.; Wang, S.-P.; Zhang, Z.; Wu, J.; Huang, J.; Li, S. *Chinese Chem. Lett.* **2018**, 29 (9), 1372–1374.
- (35) Chaudhri, N.; Butcher, R. J.; Sankar, M. *New J. Chem.* **2018**, 42 (10), 8190–8199.
- (36) Szymtkowski, J.; Brunet, S. M. K.; Tripathy, U.; O'Brien, J. A.; Paige, M. F.; Steer, R. P. *Chem. Phys. Lett.* **2011**, 501 (4), 278–282.
- (37) Barry, D. E.; Caffrey, D. F.; Gunnlaugsson, T. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, 45 (11), 3244–3274.
- (38) Aletti, A. B.; Gillen, D. M.; Gunnlaugsson, T. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, 354 (Supplement C), 98–120.
- (39) Dupont, J.; Consorti, C. S.; Spencer, J. Morales-Morales, D., Jensen, C. M. B. T.-T. C. of P. C., Eds.; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, 2007; pp 1–24.
- (40) Dorazco-González, A. In *Book Pincer Compounds*; Morales-Morales, D. B. T.-P. C., Ed.; Elsevier, 2018; pp 587–597.
- (41) Li, K.; Ming Tong, G. S.; Wan, Q.; Cheng, G.; Tong, W.-Y.; Ang, W.-H.; Kwong, W.-L.; Che, C.-M. *Chem. Sci.* **2016**, 7 (3), 1653–1673.
- (42) Dorazco-Gonzalez, A. *Organometallics* **2014**, 33 (4), 868–875.
- (43) Gong, Z.-L.; Zhong, Y.-W. *Inorg. Chem.* **2016**, 55 (20), 10143–10151.
- (44) Salomón-Flores, M. K.; Bazany-Rodríguez, I. J.; Martínez-Otero, D.; García-Eleno, M. A.; Guerra-García, J. J.; Morales-Morales, D.; Dorazco-González, A. *Dalt. Trans.* **2017**, 0 (1), 2.
- (45) Huang, K.; Yang, H.; Zhou, Z.; Chen, H.; Li, F.; Yi, T.; Huang, C. *Inorganica Chim. Acta* **2009**, 362 (8), 2577–2580.
- (46) Ruan, Y.-B.; Li, A.-F.; Zhao, J.-S.; Shen, J.-S.; Jiang, Y.-B. *Chem. Commun.* **2010**, 46 (27), 4938–4940.
- (47) Huo, F.-J.; Yang, Y.-T.; Su, J.; Sun, Y.-Q.; Yin, C.-X.; Yan, X.-X. *Analyst* **2011**, 136 (9), 1892–1897.
- (48) Zhang, R.; Yu, X.; Ye, Z.; Wang, G.; Zhang, W.; Yuan, J. *Inorg. Chem.* **2010**, 49 (17), 7898–7903.
- (49) Shaw, S. J.; Shanmugathan, S.; Clarke, O. J.; Boyle, R. W.; Osborne, A. G.; Edwards, C. J. *Porphy. Phthalocyanines* **2001**, 05 (07), 575–581.
- (50) Dehghani, H.; Mansournia, M. R. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, 30, 1715–1718.
- (51) Ho, C. S.; Lam, C. W. K.; Chan, M. H. M.; Cheung, R. C. K.; Law, L. K.; Lit, L. C. W.; Ng, K. F.; Suen, M. W. M.; Tai, H. L. *Clin. Biochem. Rev.* **2003**, 24 (1), 3–12.
- (52) Hua, Y.; Flood, A. H. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (4), 1262–1271.
- (53) Flood, A. H. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 611–627.
- (54) Uddin, R. G. IntechOpen: Rijeka, 2012; p 6.
- (55) Amendola, V.; Fabbri, L.; Monzani, E. *Chem. – A Eur. J.* **2004**, 10 (1), 76–82.
- (56) Yasuda, R. In *Nanophotonics*; Alfano, R. R., Shi, L. B. T.-N. and B. S., Eds.; Elsevier, 2019; pp 53–64.
- (57) Chirvony, V. S.; Galievsky, V. A.; Kruk, N. N.; Dzhagarov, B. M.; Turpin, P.-Y. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **1997**, 40 (2), 154–162.
- (58) Antosiewicz, J. M.; Shugar, D. *Biophys. Rev.* **2016**, 8 (2), 151–161.
- (59) Esteban-Gómez, D.; Fabbri, L.; Licchelli, M. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (14), 5717–5720.
- (60) Jiang, X.; Tao, B.; Yu, X.; Wang, Y.; Xia, H. *RSC Adv.* **2015**, 5 (25), 19034–19040.
- (61) Lapointe, S.; Vabre, B.; Zargarian, D. *Organometallics* **2015**, 34 (14), 3520–3531.
- (62) Koeppe, B.; Tolstoy, P. M.; Limbach, H.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (20), 7897–7908.
- (63) Anderson, K. M.; Orpen, A. G. *Chem. Commun.* **2001**, No. 24, 2682–2683.
- (64) Suginome, M.; Yamamoto, A.; Sasaki, T.; Murakami, M. *Organometallics* **2006**, 25 (12), 2911–2913.
- (65) Morales-Morales, D.; Grause, C.; Kasaoka, K.; Redón, R.; Cramer, R. E.; Jensen, C. M.

- Inorganic.Chim. Acta* **2000**, 300-302, 958–963.
- (66) Kundu, S.; Brennessel, W.; Jones, W. *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 9443–9453.
- (67) García-Eleno, M. A.; Quezada-Miriel, M.; Reyes-Martínez, R.; Hernández-Ortega, S.; Morales-Morales, D. *Acta Crystallogr. Sect. C* **2016**, 72 (5), 393–397.
- (68) House, J. E. House, J. E. B. T.-I. C. (Second E., Ed.; Academic Press, 2013; pp 665–706.
- (69) Bedford, R. B.; Draper, S. M.; Noelle Scully, P.; Welch, S. L. *New J. Chem.* **2000**, 24 (10), 745–747.
- (70) Steiner, T. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, 41 (1), 48–76.
- (71) Nishio, M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13 (31), 13873–13900.
- (72) Guerrero, I. C.; Kleiner, O. *Biosci. Rep.* **2005**, 25 (1-2), 71–93.
- (73) Nakamoto, K. In *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*; John Wiley & Sons, Ltd, 2008; pp 275–331.
- (74) Shiu, H.-Y.; Wong, M.-K.; Che, C.-M. *Chem. Commun.* **2011**, 47 (15), 4367–4369.



Efficient fluorescent chemosensing of iodide based on a cationic *meso*-tetraarylporphyrin in pure water

María Karina Salomón-Flores^a, Cinthia Laura Hernández-Juárez^a, Iván J. Bazany-Rodríguez^a, Joaquín Barroso-Flores^a, Diego Martínez-Otero^a, Rafael López-Arteaga^b, Jesús Valdés-Martínez^b, Alejandro Dorazco-González^{a,*}

^a Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEMex-UNAM, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Carretera Toluca-Atlaquilco Km 14.5, C. P. 50200, Toluca, Estado de México, Mexico

^b Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Mexico, 04510, D.F., Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Chemosensing
Iodide
Fluorescence spectroscopy
Water

ABSTRACT

The new tetracationic and highly luminescent triflate salt of 5,10,15,20-tetra(4-benzylpyridinium)-21H,23H-porphyrin, **1**.OTf was designed and studied as a chemosensor for iodide in pure water. Under optimal conditions, the addition of inorganic anions and acetate as sodium salts to **1**.OTf quench its red fluorescence with a very pronounced affinity toward iodide ($K_{1,1}^- = 1.9(\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) accompanied by complete quenching of its emission ($K_{SV} = 1.1(\pm 0.1) \times 10^5$) in a micromolar concentration range (0–50 μM). A rapid and direct analytical response of **1**.OTf by addition of I⁻ ions was observed in a wide range of pH (5.0–8.0) with a detection limit of 180 nmol L^{-1} at neutral pH and good selectivity over other biological and more basic anions such as pyrophosphate, chloride, fluoride and phosphate. The optical change by addition of iodide is attributed to a strong ion-pair binding with simultaneous formation of efficient hydrogen bonding C–H \cdots I⁻ interactions, these contacts are supported by ¹H NMR experiments. The efficient binding and fluorescence detection is attributed to a very high positive charge of monomeric specie of **1** in combination with strong acidification of C–H donors by quaternization of pendant pyridyl groups. On the other hand, addition of bromide, common interfering anion, shows a modest spectral change but lower than those observed for iodide. On basis of multiple spectroscopic titration experiments (¹H NMR, UV–vis, fluorescence), Job's plot, crystal structure of the bromide salt of **1** and fluorescence lifetime measurements, a photoinduced electron transfer quenching mechanism with simultaneous sensor-iodide complexation both in the excited and the ground-state is proposed. From theoretical DFT studies, the binding mode of this chemosensor with iodide is markedly ionic interaction, energy calculated in 402.8 kcal/mol. The proposed method is direct, fast, accurate and of low cost for the determination of iodide ions in pure water.

1. Introduction

Recognition and optical sensing of bioanalytes such as halides by molecular chromogenic/luminescent artificial receptors capable of operating under neutral aqueous media remains an active and relevant area in analytical and supramolecular chemistry due to their key role in several physiological, environmental and industrial processes [1–7]. Iodide spectroscopic detection and recognition has been dominated by metal-based receptors [8–10], nanoparticles-based luminescent probes [11–13], and organic synthetic dyes/receptors containing carbazole, triazole, thiazole groups [14–16], *N*-aryl benzimidazolium derivatives [17], polythiophene derivatives [18], diarylmalimide derivatives [19],

bisquinolinium pyridine-2,6-dicarboxamide compounds [20–21] and calix [4] pyrroles [22]. However, these sensing systems are restricted to non-aqueous media or they require a considerable quantity of organic co-solvents, which limits seriously their practical applications.

On the other hand, the optical detection of iodide in water can be achieved with a very few number of synthetic fluorescent dyes [23–25] which undergo collisions-induced quenching process in the presence of this anion [26–27]. Typically, these molecular sensors show Stern-Volmer quenching constant between 10 and 10^3 M^{-1} [23,26–28]. Consequently, they are suitable to detect iodide in the micromolar concentration range, but not significantly below, which is highly desired to sense this anion in biological samples [29]. In this line, the

* Corresponding author.

E-mail address: adg@unam.mx (A. Dorazco-González).

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.127>

Received 11 April 2018; Received in revised form 30 September 2018; Accepted 25 October 2018

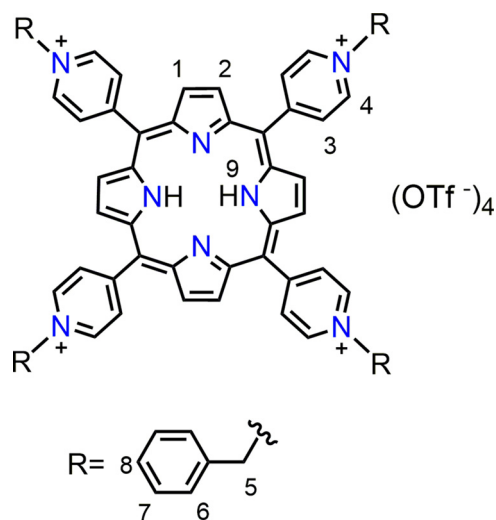
Available online 26 October 2018

0925-4005/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

literature features very few examples of chemosensors able to operate in water with specific binding mode. Among the reported those, the most efficient optical receptors contain an arrays of hydrogen bond donors such as imidazolium, quinolinium, acidified amide groups (N–H) [30–33], triazole (C–H) and boronic acid (B–OH) [25]. These cationic receptors are able to bind iodide in water through D–H \cdots I⁻ interactions with moderate association constants between 10 and 10³ M⁻¹ [25,30–33], however, its efficiency is strongly dependent on pH. Furthermore, many of these fluorescent probes are not particularly selective, and interferences from pseudohalides, heavy-atom-containing molecules, sulfur-containing compounds and bromide ions can be a problem.

In principle, it should be possible to overcome these limitations by using a luminescent artificial receptor with a specific, high-affinity for iodide, for example, an optical receptor with multiple positive charges with strong delocalization of the charge and hydrophobic groups in order to promote ion-pairing association [33–34]. However, the creation of a potent and selective receptor, free of toxic heavy metals, for I⁻ in pure water is an ongoing challenge. The difficulty in making sensitive sensor for iodide in water is due to low hydrogen-bonding ability, a low charge density and weak electronegativity [35]. Reports in the context of medicinal photochemistry have shown that the fluorescent emission of a cationic tetrakis(*N*-methylpyridinium-4-yl)porphyrin derivative, is very sensible to the presence of iodide ions and interestingly it not affected by millimolar concentration of halides and oxyanions [36]. In this sense, water-soluble porphyrins can be prominent candidates for iodide sensing due to their relevant photophysical properties such as strong light absorption in the visible light region and red to near-infrared highly fluorescence emission [37].

On the other hand, in the field of the biological receptors for halides, the protein binding sites are described as protected hydrophobic microenvironments that allow the encapsulation of anionic species by electrostatic and hydrogen bonding interactions [38]. Taking this into account, this work is based on idea that a sensitive chemosensor for iodide can be achieved using a simple water-soluble compound containing a porphyrin core as a potent luminescent unit and multiple cationic hydrophobic pendant groups as potential ion-pair binding sites. To test this hypothesis, we decided synthesized a cationic *N*-benzylated of tetra(4-pyridyl)-porphyrin derivative containing non-coordinating anion as triflate. The results obtained for a red fluorescent cationic *meso*-tetraarylporphyrin 1.OTf (Scheme 1) including synthesis, X-ray single-crystal structure, spectroscopic sensing of anions and theoretical DFT studies are summarized below.



Scheme 1. Chemosensor based on a cationic porphyrin salt 1.OTf employed in this study.

2. Experimental

2.1. General considerations

Chemical, solvents and instrumentations are listed in Supplementary material section.

2.2. Synthesis

The detail synthesis is described in Supplementary material section. Compound 1.OTf.

¹H NMR (300 MHz, 25 °C, DMSO-*d*₆) δ 9.70 (d, *J* = 6.3 Hz, 8 H), 9.24 (s, 8H, H_{pyrrole}), 9.06 (d, *J* = 6.2 Hz, 8 H), 7.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 8 H), 7.63 (m, 12 H), 6.28 (s, 8H, H_{methylene}), -3.50 (s, 2H, NH)

¹³C NMR (75 MHz, 25 °C, DMSO-*d*₆) δ 156.79, 143.54, 143.47, 133.99, 132.88, 129.56, 129.33, 117.46, 115.80, 63.24 (one signal was not detected).

¹⁹F NMR (282 MHz, 25 °C, DMSO-*d*₆) δ -77.75.

MS-ESI (+) [1 + (OTf)₃]⁺ = 1430.30 *m/z*

IR-ATR (cm⁻¹): 3268 (w, N-H), 3114 (w, Ar-H), 1668 (s, br, C = C, C = N⁺), 1666 (m, Ar-H), 1610 (m, Ar-H), 1564 (m, br), 1240 (s, OTf⁻), 1092 (s), 805 (m), 740 (m).

Anal. Calcd. for: C₇₂H₅₄F₁₂N₈O₁₂S₄: C, 54.75; H, 3.45; N, 7.09, Found: C, 54.73; H, 3.48, N, 7.07.

2.3. Crystallographic investigations of 1.Br

Crystals of 1.Br were studied with Bruker APEX II Diffractometer at 100 K, using Cu-radiation with a CCD area detector ($\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1.5418 \text{ \AA}$) from an Incoatec ImuS source and Helios optic monochromator [53]. Suitable crystals were coated with hydrocarbon oil, picked up with a nylon loop, and mounted in the cold nitrogen stream of the diffractometer. The structures were solved using intrinsic phasing (SHELXT) [54] and refined by full-matrix least-squares on F² [55] using the shelXle GUI [55]. The hydrogen atoms of the C–H bonds were placed in idealized positions whereas the hydrogen atoms from the N–H moiety was localized from the difference electron density map and refined isotropically with U_{iso}(H) = 1.5 and 1.2 U_{eq} for N. H atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions and refined as riding on their parent atoms, with C–H = 0.95 Å for aromatic groups and C–H = 0.99 Å for methylene groups with U_{iso}(H) = 1.2U_{eq}. The molecular graphics were prepared using ORTEP, POV-RAY and GIMP [56]. The refined model shows very high residual electron density peaks possibly due to a mixture of solvents of crystallization (methanol and water) in different disordered positions that it was not possible to model, so it was necessary to use Platon Squeeze program [57] eliminating 2 peaks of 12 electrons in 27 cubic angstroms each. The residual electronic density peak found at the center of the porphyrin ring at a crystallographic inversion center could not be modeled. X-ray crystallographic data in CIF format is available in the Supplementary material section. CCDC 1834013

2.4. Fluorimetric measurements

“Emission spectra were recorded on a Cary Eclipse Agilent spectrophotometer equipped with a thermostated cell holder and Xenon Flash Lamp.” The titration experiments were carried out by adding aliquots of concentrated stock solutions of anions as sodium salts (0.1 mM for sodium iodide and 20.0 mM for all the rest of the anions) to buffered (40 mM, MOPS, pH = 7.4) aqueous solution of 1.OTf (4.0 μM). After additions of the anions, the solutions were equilibrated for 2.0 min. at room temperature before recording the emission spectrum ($\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$) using a quartz cuvette.

The experimental data were fitted to corresponding equations using non-linear least squares regression with MicroLab Origin 8.6 and HySpec programs.

2.5. Spectrophotometry and NMR measurements

Spectrophotometric measurements were recorded on a Cary Agilent 100 UV–vis spectrophotometer. The absorption spectra were recorded after additions of aliquots of anions concentrated stock solutions to buffered (40 mM, MOPS, pH = 7.4) aqueous solution of 1.OTf (4.0 μM) in a quartz cuvette placed in a thermostated holder 25 ± 0.1 °C. The titration experiment of sodium iodide with 1.OTf was carried out by consecutive addition of an aqueous solution stock of sodium iodide (5.0 mM). ^1H NMR titration experiments were performed on a 300 MHz spectrometer with more concentrated stock solution of NaI (0.1 M) in DMSO- d_6 /D $_2$ O (1/1, v/v) adding aliquots of NaI to a 5.0 mM receptor solution directly to a NMR tube.

2.6. Theoretical and experimental interaction studies of 1.OTf with iodide

Density Functional Theory (DFT) calculations at the B3LYP/lan12dz level of theory were carried out in order to gain some insight on the electronic structure of 1.OTf iodide complex as well as to calculate their interaction energy and thus establish the nature of their bonding. All calculations were performed with the Gaussian 09 Rev. D2 suite of programs and the interaction energies were calculated under the Natural Bond Orbitals (NBO) formalism with the NBO3.1 program provided in the aforementioned suite.

2.7. Fluorescence lifetime measurements

A Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) system coupled to a custom-built confocal microscope was used to acquire the fluorescence lifetimes. A 405 nm picosecond laser pulsed at 10 MHz (LDH-D-C-405, PicoQuant) was focused into a 1 cm quartz cell with a 0.25 NA microscope objective. The fluorescence collected with the same objective passed through a 485 nm long-pass dichroic mirror (Chroma T510lpxrt), a 405 nm notch filter (Chroma ZET405nf), a 425 nm long pass emission filter (Chroma ET425lp) and was focused to an avalanche photodiode (PD-050-CTE, MPD). The laser controller (PDL-800-D, PicoQuant) and the APD were connected to a TCSPC card (PicoHarp 300, PicoQuant). The power of irradiation was controlled to obtain less than 1% of detection events in order to avoid pile-up effects on the recorded histogram. Allura Red (analytical standard Sigma-Aldrich) was used to obtain the IRF under the same conditions of irradiation. All data were obtained and treated in SymphoTime 64 software (PicoQuant).

3. Results and discussion

3.1. Crystal structure

Transition metal porphyrin complexes are often highly luminescent and they have been used as biomarkers for proteins [39–40] DNA-intercalators [37,41–42] photoinduced activation [43,49], coordination chemistry [37,44], metal detection and anion sensing, specifically for F^- , Cl^- , CN^- , H_2PO_4^- and SO_4^{2-} ions [37]. However, iodide recognition by cationic metal-free *meso*-tetraarylporphyrin salts in solid-state and pure water still remains largely unexplored. Triflate salt of **1** was synthesized by reacting 5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)-21H, 23H-porphyrine with benzyl bromide under reflux in dry DMF followed by prolonged treatment with silver triflate. Bromide and triflate salt were isolated in good yields as red-brown crystalline powder pure according ^1H NMR spectrum (See Supplementary Material Section). Crystal structure was obtained for bromide salt (Table S1). A perspective view of its structure is shown in Fig. 1. The compound $1.\text{Br}^-$ crystallized in the triclinic system in the P-1 space group. Crystal and structure refinement data for $1.\text{Br}^-$ are in Table S1. The asymmetric unit contained half of porphyrin molecule and two bromine atoms that present an occupational disorder in six different coordinates, the occupancy for the

bromine atoms are 55.95%, 50.79%, 50.90%, 32.85%, 5% and 4.51%, the four bromine atoms with majority occupancy are displayed in Fig. 1. The macrocycle of tetrapyrrole is plane; the pyridinium rings bonded to methylene moiety from porphyrin are placed in two different arrangements. The first pyridinium ring forms an almost orthogonal arrangement between the plane formed by the porphyrin and the pyridinium ring, with an angle between planes of 81.3° while the second pyridinium ring forms an angle between planes of 57.3° . The hydrogen atoms N–H in the porphyrin-core form intramolecular hydrogen bonding interactions to nitrogen atom from pyrrole non-protonated. Crystallographic results for $1.\text{Br}^-$ show many short $4-\text{CH} \cdots 1.\text{Br}^-$ and $5-\text{CH} \cdots 1.\text{Br}^-$ contacts around of the positive charges ($\text{N}^+ - \text{CH}_2^-$) in the packing with distances $\text{H} \cdots \text{Br}$ in the range from 2.765 to 3.036 Å (see Scheme 1 for the numbering of the structure and Fig. S5 for contacts). Each bromide anion ($1.\text{Br}^-$) is bounded through eight $\text{C}-\text{H} \cdots \text{Br}^-$ interactions with aromatic and aliphatic CH groups of pyridinium rings and methylene fragments of the four neighboring cationic porphyrins as is shown in Fig. 2. The $5-\text{CH} \cdots \text{Br}^-$ distances, 2.765(5) Å, in the crystal $1.\text{Br}^-$ they are practically the same as for the average value for common hydrogen bonding interactions, $(\text{NC})\text{Csp}^2-\text{H} \cdots \text{Br}^-$, 2.75(2) Å and $\text{Cl}_2\text{C}(\text{sp}^3)-\text{H}_2 \cdots \text{Br}^-$, 2.73(4) [45]. The crystallographic results described herein suggested that the *N*-benzylpyridinium fragments could be used as receptor units for iodide/bromide sensors.

Attempts to get suitable crystals of 1.OTf in water/methanol were not successful.

3.2. Anion recognition and sensing

The first evidence for the high affinity of 1.OTf for I^- ions was obtained by ^1H NMR measurements. The addition of NaI (4.0 equiv.) to a DMSO- d_6 /D $_2$ O (1/1, v/v) solution of 1.OTf (2.0 mM) induced a considerable downfield shifts ($\Delta\delta = 0.75$ ppm) of the adjacent methylenes $5-\text{CH}_2$ to N^+ atoms and ($\Delta\delta = 0.50$ ppm) aromatic $4-\text{CH}$ protons corresponding to *ortho*-position of pyridine rings (See Fig. 3A) indicating hydrogen bonding interactions contribution in addition to charge effect which was observed in the crystal structure for bromide. Addition of higher concentration (≥ 8.0 mM) of NaI results in formation of precipitate immediately which is possibly by anion-induced self-aggregation [41] which is not observed at low concentration. The change in the chemical shift of these protons with increasing NaI concentration (0–3.8 equiv.) perfectly fits to a 1/1 binding isotherm (Fig. 3B) with association constant $K_{1,1} = 1520 \pm 70 \text{ M}^{-1}$. Signals of $4-\text{CH}$ and $5-\text{CH}$ protons are shifted approximately equally indicating formation of two *chelating* hydrogen $\text{CH} \cdots \text{I}^-$ bonds. Also bromide, chloride and phosphate were studied by NMR titration experiments for comparison. The addition of NaBr results in modest downfield shifts of the $4-\text{CH}$ ($\Delta\delta = 0.11$ ppm) and $5-\text{CH}$ ($\Delta\delta = 0.18$ ppm) protons, but they were significantly lower than that observed for NaI. The binding constant for bromide was calculated under the same conditions as in Fig. 3. The resulting value of $K_{1,\text{Br}^-} = 120 \pm 10 \text{ M}^{-1}$ is one order of magnitude lower than for iodide. In contrast, addition of NaCl and NaH_2PO_4 do not show any change in the signals of $5-\text{CH}$ and $4-\text{CH}$. Evidence of effective $\text{CH} \cdots \text{I}^-$ interactions stemming from pyrrole and triazole rings in solution have been reported by Wang [14] and Flood [46–47]. These findings are encouraging because the iodide ions could affect transfer of excitation energy along the whole backbone of porphyrin **1** and consequently, to change its absorption, emission and lifetime properties. Buffered aqueous solutions (40.0 mM MOPS, pH = 7.4) of triflate salt of **1** were stable for several days and followed very well to the Lambert–Beer law up to 20.0 μM, thus these conditions were used for further studies. When excited at 430 nm, solutions of 1.OTf are red fluorescent with emission maxima at 658 and 717 nm. The fluorescence quantum yield and lifetime calculated upon excitation at $\lambda = 405$ nm were 0.09 and 8.13 ns. These values are closed to some hydrophilic metal-free 5,10–15,20-*tetrakis*-arylporphyrins [48–49]. The addition of NaI (0–42.0 μM) to aqueous solution of 1.OTf (4.0 μM)

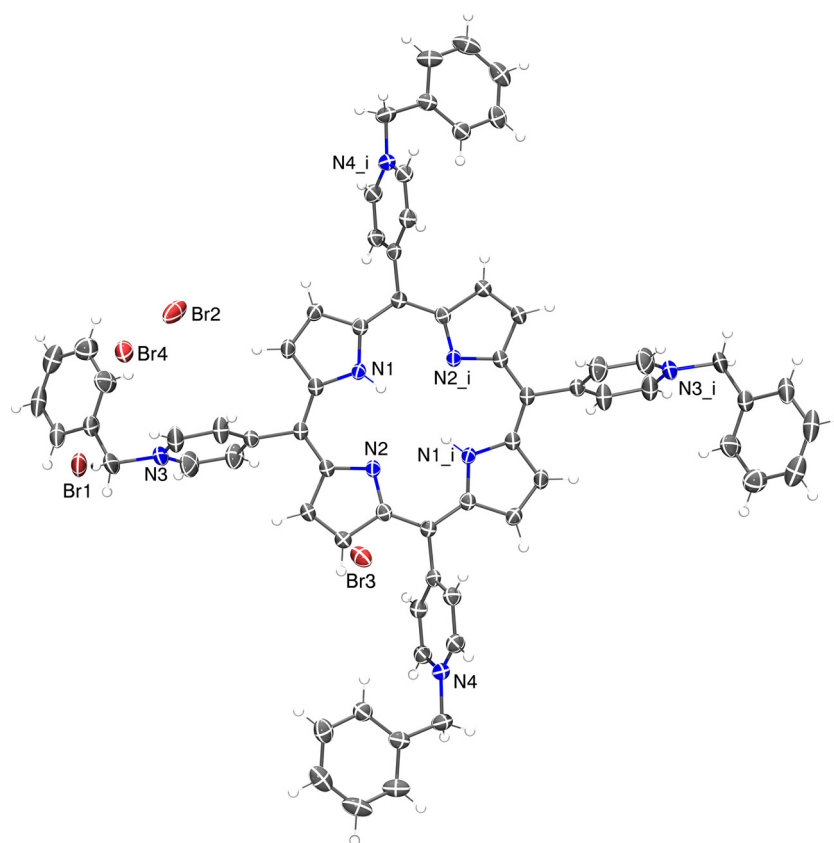


Fig. 1. Perspective view of molecular structure of bromide salt of **1**. Ellipsoids are drawn at the 50% probability level, symmetry code for i: 1-x,-y,-z.

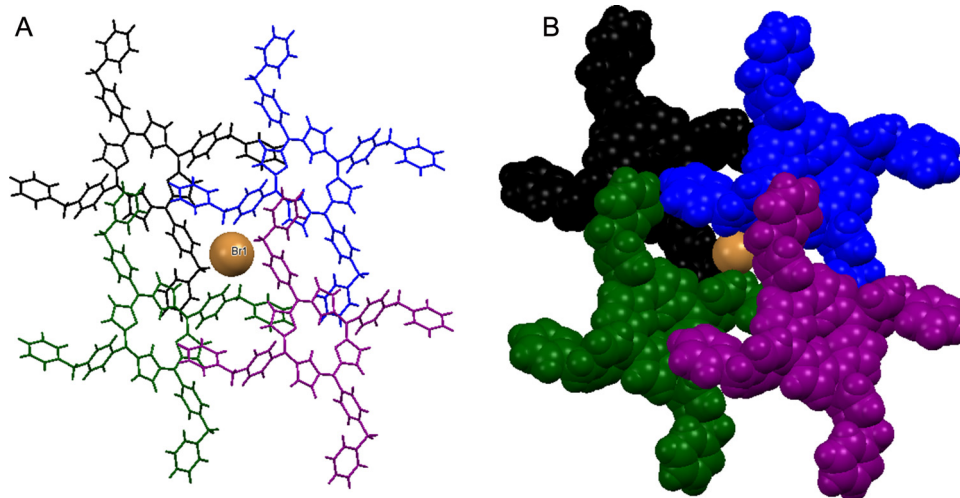


Fig. 2. Stick (A) and spacefill (B) models of a fragment of the crystal structure of **1**.Br⁻ showing the encapsulation of bromide ions by four neighboring cationic porphyrins through C–H ⋯ Br⁻ contacts (three bromide ions were omitted by clarity).

induced a strong quenching as is shown in Fig. 4A. The Stern-Volmer plot at 658 nm ($\lambda_{\text{exc}} = 430$ nm) with increasing NaI concentration shows an upward curved profile but with linear behavior at higher concentration (inset Fig. 4A inset). This profile can be perfectly fitted to the Eq. (1) proposed by Fabbrizzi et al. [27], which takes into account simultaneous static and dynamic quenching when the ground state complexation (fluorophore-anion) quenches the emission completely.

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV}[\text{anion}])(1 + K_A[\text{anion}]) \quad (1)$$

The pertinent parameters for I⁻ are $K_{1,I^-} = 1.9(\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ and $K_{SV} = 1.1(\pm 0.1) \times 10^5$. The Stern-Volmer plot with iodide shows

an upward curvature to high concentrations which can be ascribed to both static and dynamic quenching. Next, the anion selectivity of **1**.OTf was analyzed. Sodium salts of inorganic anions and acetate ($[X^-] = 50 \mu\text{M}$) were added to buffered aqueous solutions of **1** (4.0 μM , 12.5 equiv.) and the emission intensity decrease at 648 nm was recorded. All oxoanions, fluoride and cyanide gave a very low response (Fig. 4B). In this context, the details of several sensing mechanisms of fluorescent organic probes with electronic excited states as photoinduced electron transfer (PET), excimer formation, intramolecular charge transfer (ICT) and excited-state proton transfer (ESPT) have been recently discussed by Han [50]. The interference with heavy halides and pseudohalides

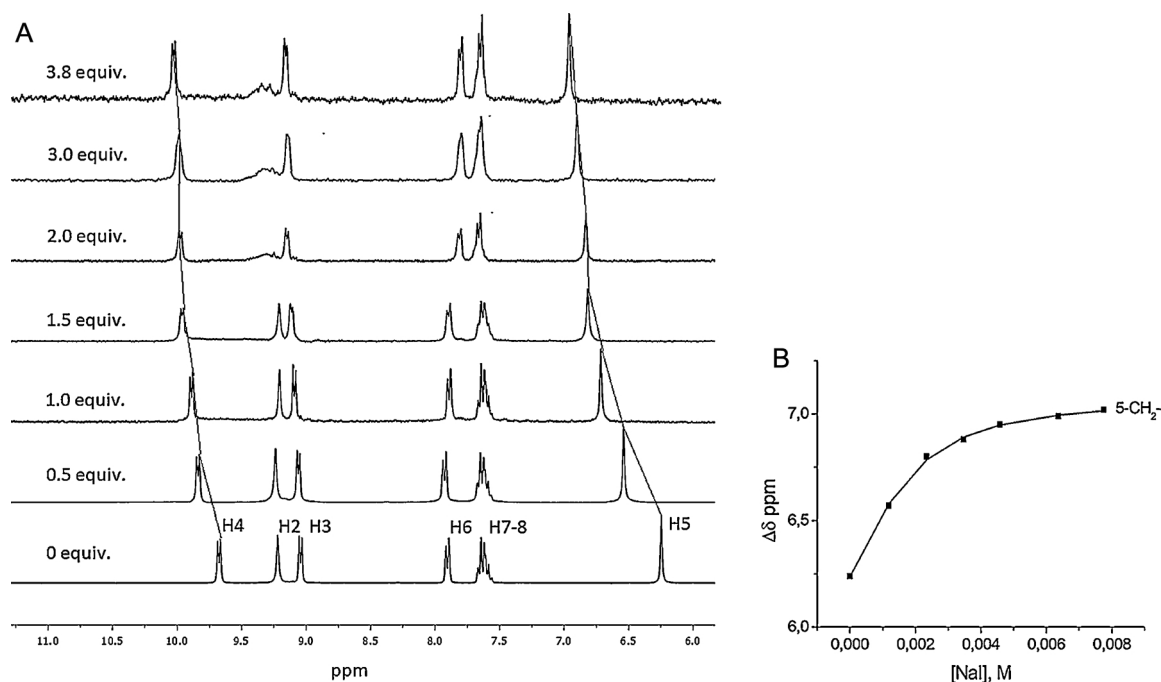


Fig. 3. ¹H NMR spectral change observed of 1.OTf (2.0 mM) in DMSO-d₆/D₂O (1/1, v/v) during the addition of up to 3.8 equiv. of NaI (A), the solid line was obtained by fitting the data to a 1:1 binding model for methylene 5-CH₂- protons (B).

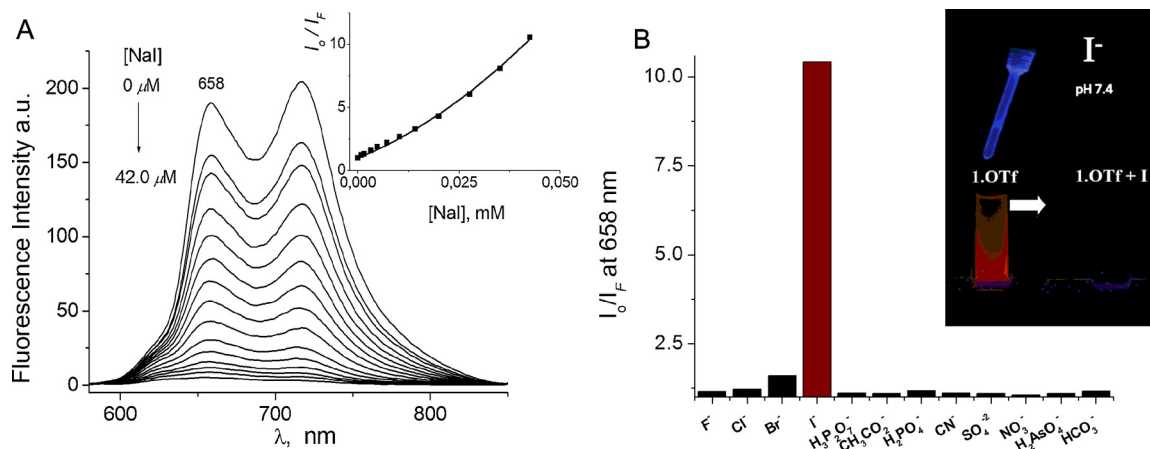


Fig. 4. Fluorimetric titration ($\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$) of 1.OTf (4.0 μM) with NaI (0–42.0 μM) in neutral water (40.0 mM MOPS, pH = 7.4), (A). The inset shows the Stern-Volmer plot at 658 nm. The solid line was obtained by fitting to corresponding Eq. (1), A.[27] The fluorescence quenching at 618 nm of aqueous solutions of 1.OTf upon additions of 200.0 μM different anions as sodium salts, (B). The inset shows the solutions of 1.OTf under irradiation at 365 nm UV-light in presence of inorganic anions.

anions is not unexpected, especially bromide and cyanide. Still, it is remarkable that the optical recognition of 1.OTf is highly selective for I⁻. The addition of NaBr resulted in a modest quenching emission ($I_0/I_F \sim 1.6$), but was still significantly lower than observed for NaI ($I_0/I_F \sim 10.4$). The Stern-Volmer plots at 658 nm with increasing Br⁻, Cl⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻ and CH₃CO₂⁻ concentration in the range (0–2 mM), inset Fig. 5A, show clearly a downward curved profiles at low concentrations, but with linear dependence at higher concentrations. These profiles can be well fitted to theoretical Eq. (2), which also considers simultaneous dynamic and static quenching but the ground-state binding does not quench the emission for completely, then the fluorophore-anion still has reduced emission calculated as factor ρ . The parameters K_A and K_{sv} , and ρ with Br⁻ and a series of anions were calculated under the same conditions as in the Fig. 4A and these are compiled in the Table 1.

The resulting values with bromide ($K_{1,\text{Br}^-} = 7.5 (\pm 0.1) \times 10^3$,

$K_{sv} = 51.0 \pm 1$ and $\rho = 0.76$) are 1 and 3 orders of magnitude lower than for binding and quenching of iodide respectively (see Table 1).

To know the effect of common interfering anions, we measured the emission of a solution of 1.OTf titrated with I⁻ ions in the presence of sodium salts of CN⁻, Cl⁻, F⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻, NO₃⁻ and SO₄²⁻ (150 μM each) under the same conditions as those used in the experiment shown in Fig. 5A. For concentrations of [I⁻]_{tot} < 50 μM the two plots are practically superimposable as shown in Fig. 5B. Thus, sensor 1.OTf seems to operate well in the presence of a high concentration range of potential interfering anions except for the bromide ion. It is clear that the porphyrin salt 1 senses iodide with excellent sensitivity and selectivity over other anions. From fluorescence and NMR titration experiments, the order of affinity is I⁻ >> Br⁻ > Cl⁻, H₃P₂O₇⁻, H₂PO₄⁻, CH₃CO₂⁻ > CN⁻ and the rest of oxoanions.

The binding constant estimated for iodide from fluorescence data is unexpected high, $K_{1,\text{I}^-} = 1.9 (\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, probably owing to the

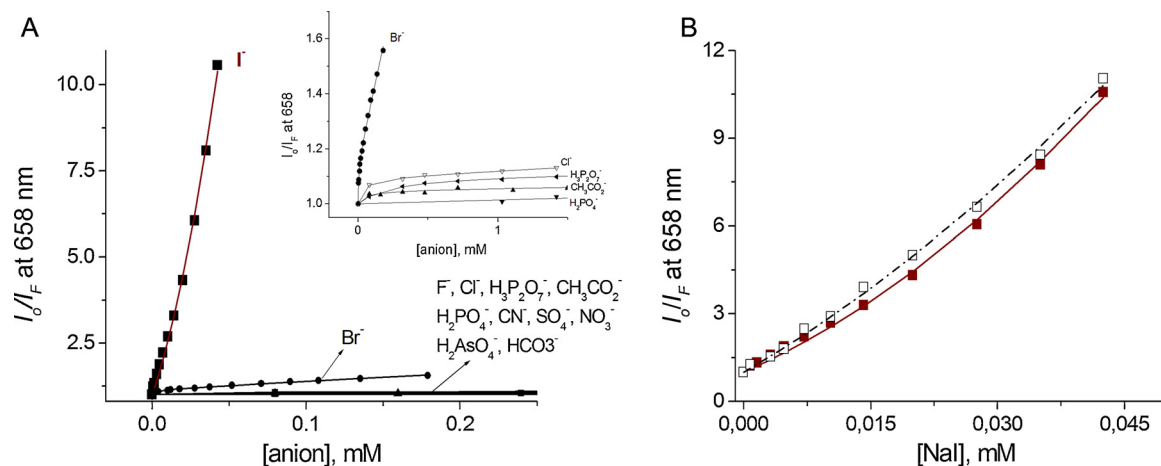


Fig. 5. Stern-Volmer plots with fitting at 658 nm ($\lambda_{ex} = 430$ nm) of buffered aqueous (40 mM, MOPS, pH = 7.4) solutions of **1** (4.0 M) upon addition of a series of inorganic anions (A) and I^- ions with (\square) and without (\blacksquare) potential inorganic interfering anions (150 μ M), (B).

Table 1

Binding and quenching parameters for sensor 1.OTf with inorganic anions and acetate at pH = 7.4.

Anion	K_A	K_{SV}	ρ^b	I_0/I_F
F^-	$2.6(\pm 0.08) \times 10^2$	1.2 ± 0.1	0.87	1.15
Cl^-	$1.9(\pm 0.1) \times 10^3$	8.0 ± 0.5	0.85	1.22
Br^-	$7.5(\pm 0.1) \times 10^3$	51.0 ± 1	0.76	1.60
I^-	$1.9(\pm 0.08) \times 10^4$	$1.1(\pm 0.1) \times 10^{5a}$	–	10.42
$H_3P_2O_7^-$	$3.1(\pm 0.11) \times 10^3$	24 ± 2	0.89	1.13
$CH_3CO_2^-$	$4.6(\pm 0.5) \times 10^3$	7.0 ± 0.2	0.90	1.10
$H_2PO_4^-$	$1.4(\pm 0.4) \times 10^3$	7.0 ± 0.5	0.88	1.18
CN^-	–	13 ± 0.8^c	–	1.10
SO_4^{2-}	$2.8(\pm 0.2) \times 10^2$	1.0 ± 0.1	0.89	1.15
NO_3^-	$1.1(\pm 0.03) \times 10$	1.0 ± 0.1	0.93	1.08
$H_2AsO_4^-$	$4.0(\pm 0.08) \times 10^2$	2 ± 0.1	0.90	1.10
HCO_3^-	$8.0(\pm 0.2) \times 10$	2 ± 0.1	0.90	1.16

^a Eq. (1) was used.

^b Eq. (2) was used.

^c Typical Stern-Volmer equation was used.

exciplex formation, as is noted in previous works.[20,23,33,51] In order to investigate, the binding constant was also determined by spectrophotometric titration experiments under the same conditions (40 mM MOPS, pH 7.4), but with more concentrated solution of **1** (20 μ M). Fig. 6 illustrates the family of spectra recorded when a

Table 2

Binding and quenching parameters for 1.OTf by addition of NaI at different pH values.

pH	K_A	K_{SV}	I_0/I_F	LOD (nm L ⁻¹)
5.5	$1.85(\pm 0.05) \times 10^4$	$1.05(\pm 0.15) \times 10^5$	9.85	188
6.0	$1.81(\pm 0.07) \times 10^4$	$1.13(\pm 0.11) \times 10^5$	10.09	185
7.4	$1.93(\pm 0.08) \times 10^4$	$1.18(\pm 0.10) \times 10^5$	10.42	180
8.0	$1.69(\pm 0.10) \times 10^4$	$0.93(\pm 0.08) \times 10^5$	9.01	200

solution of 1.OTf is titrated with NaI.

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV}[anion])(1 + K_A[anion]) / (1 + \rho K_A[anion]) \quad (2)$$

The presence of two clear distinct isosbestic points at 347 and 447 nm indicates that co-existence only two species in the equilibrium within this concentration range ($[NaI] < 1.2$ mM). The binding is accompanied by considerable change in the Soret band ($\Delta A = 0.26$ with maximum at 428 nm) of the individual porphyrins. The inset in Fig. 6 shows the decrease of absorbance at 413 nm on progressive addition of I^- (0 – 1.2 mM). The titration profile could be fitted to a 1/1 binding model using a non-linear least squares treatment.

The calculated binding constant ($K_{1,1}^- = 1980 \pm 50$ M⁻¹) is close to that obtained by ¹H NMR experiments. This experiment unambiguously confirms the association of cationic sensor **1** with I^- in

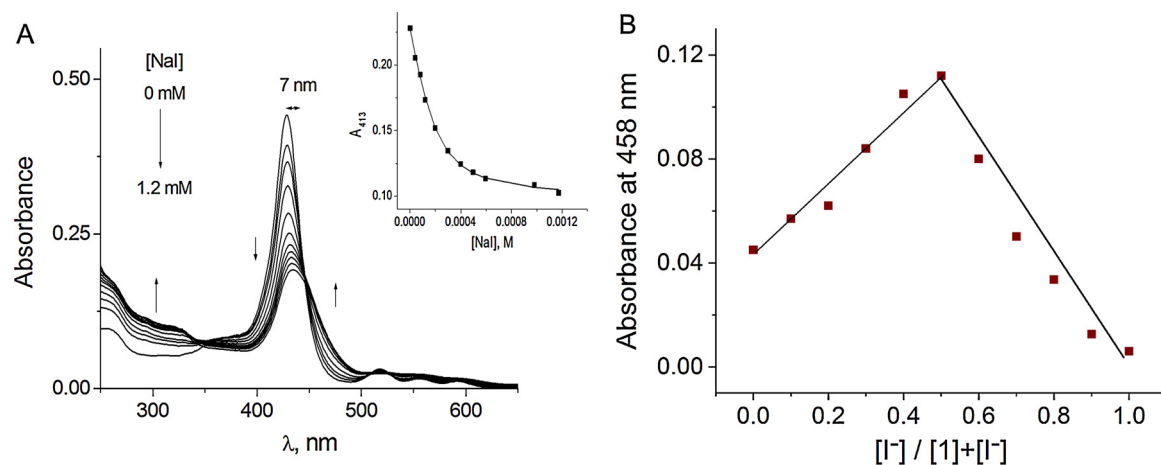


Fig. 6. Spectrophotometric titration of 1.OTf (20.0 μ M) in buffered aqueous solution (40 mM MOPS at pH 7.4) with NaI. Arrow shows the direction of the spectral changes on addition of increasing amounts of NaI. In the inset, the line was obtained by fitting the data to a 1/1 binding model at 413 nm, (A). Job's plot of 1.OTf with I^- in water at pH 7.4, (B). The absorbance is monitored at 413 nm.

Table 3
Recent chemical sensors and materials for detection and quantification of iodide in water.

Chemosensor / Materials	Method / Analytical Range	LOD (M)	Comments	Reference
Naphthalene-glycine conjugate.	Fluorescence turn off and colorimetric change 6.25 - 3.12 μM .	3.0×10^{-8}	-High selectivity and sensitivity -Response time: 500 s -Operates at 40 $^{\circ}\text{C}$.	[58]
Carbon quantum dots-embedded nanopaper made of cellulose nanofibers.	Fluorescence turn off 25.0 - 25,000.0 μM .	4.8×10^{-5}	- Low sensitivity - Functional in real samples	[59]
Cadmium based metalorganic framework (Cd-MOF)	Fluorescence turn off	6.3×10^{-7}	- High Sensitivity - Uses a highly toxic metal.	[60]
N-doped C-dots/ H_2O_2 /OPD system.	Fluorescence turn off and colorimetric change 0.09-50 μM .	6.0×10^{-5}	- Multi-signal response - Moderate selectivity - Moderate sensitivity	[61]
Fluorescent sensor based on thiourea- Hg^{2+}	Fluorescence turn off, 0-25 μM .	8.4×10^{-8}	- Bifunctional probe for Hg^{2+} and I^- - High selectivity, - pH-dependent	[8]
Cationic meso-Tetraarylporphyrin	Fluorescence turn off, 0-50 μM .	1.80×10^{-7}	- Disposal of mercury waste. - High selectivity and sensitivity - Rapid analytical response - No pH-dependent	This work

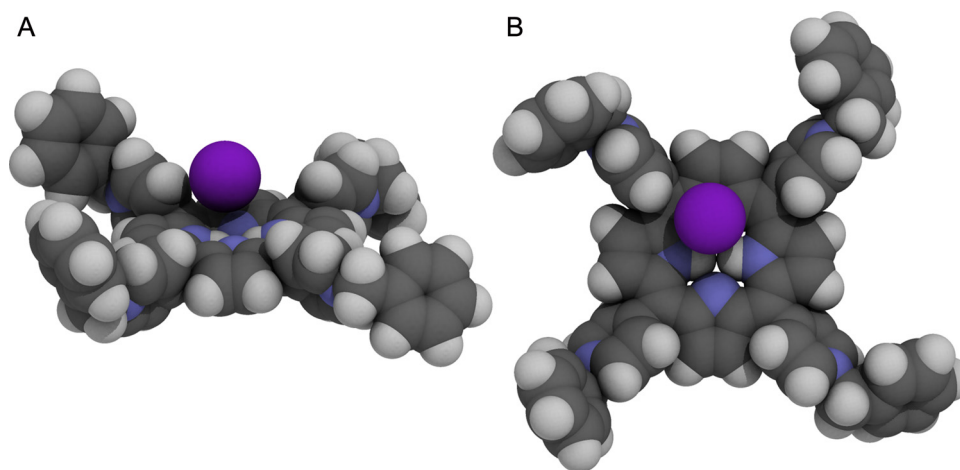


Fig. 7. Side (A) and top (B) views of the 1 with iodide anion optimized at the B3LYP/lanl2dz level of theory.

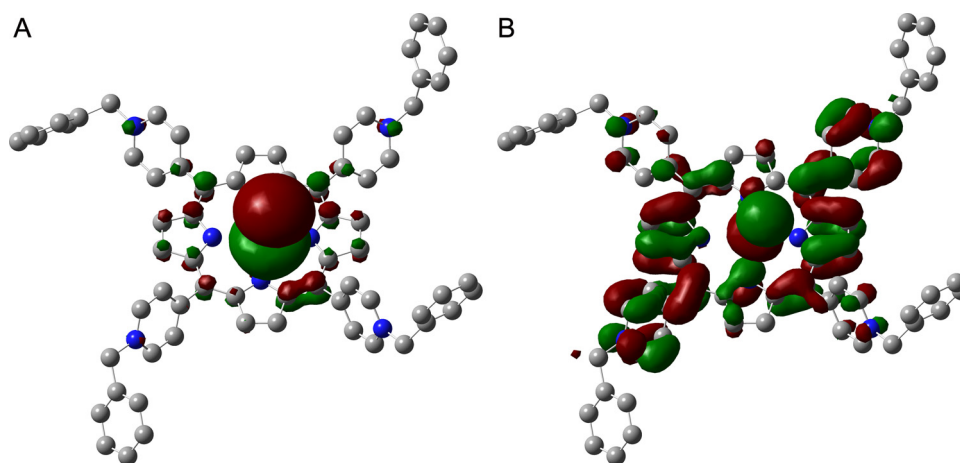


Fig. 8. Frontier orbitals for 1.iodide ion-pair complex. HOMO(A) and LUMO(B). H atoms not displayed for the sake of clarity.

aqueous media. The larger value of binding constant measured by fluorimetric titration experiment is due to the contribution of the complexation with the anion in the excite state [50].

In order to confirm the stoichiometry of 1.OTf with I^- in a low concentration range, $\leq 1.2 \text{ mM}$. Job's plot (Fig. 6B) has been graphed between the difference in the absorbance at 413 nm vs the mole fraction of iodide anion. The plot shows maximum emission around 0.5 mol

fraction of 1. This support the 1/1 binding model observed by fluorescence titrations experiments and 1H NMR measurements. It is worth noting that, at a high concentration of iodide, surely, other species can coexist in equilibrium with different stoichiometric models, however, it is not possible to analyze it because the addition of an excess of this anion results in a precipitate immediately.

The detection limit (LOD) defined as $\text{LOD} = 3\sigma/s$, where σ is the

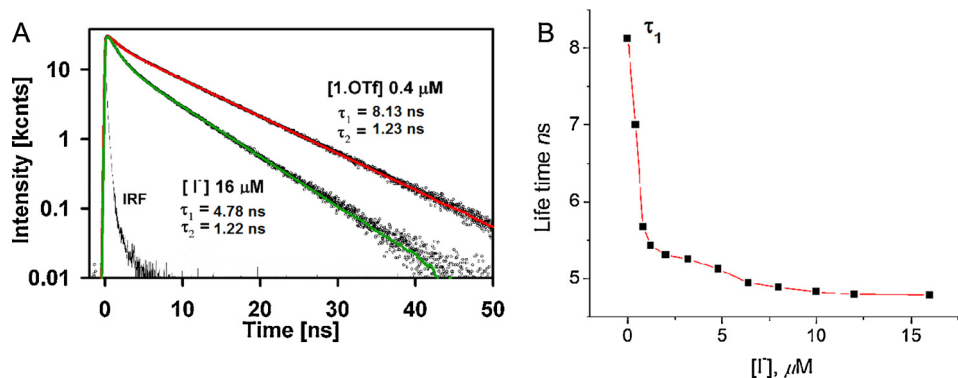


Fig. 9. Life-time of 1.OTf (0.4 mM) and with 16 mM of I⁻ ions (A) and change in longer life-time (ns) against [I⁻].

standard deviation of the blank and s is the slope of the calibration curve ($K_{SV} = 1.1(\pm 0.1) \times 10^5$ for iodide ions, Fig. 4A) is 180 nmol L^{-1} .

Additionally, red fluorescence of triflate of **1** at different pH values between 5.0 and 8.0 were explored. On increasing pH, the emission remains practically constant without displacement of the maxima. The photophysical stability of 1.OTf can be assigned to: 1) The absence of self-aggregation of 1.triflate, which is as expected due to the positive charge and consequent electrostatic intermolecular repulsion and 2) Acid-base species of **1**, are outside this pH range, for example, deprotonation of the pyrrole (-NH-) nitrogen atoms is assumed to occur only in highly alkaline environment, pH > 14 and protonation of the core for the two imino nitrogen atoms are reported in values ≤ 4.0 [52]. Similar spectral behavior has been reported for a permanent cationic trimethylaniliniumphenyl porphyrin, which also contains, four positive charge groups -N(Me)³⁺ [52].

We also explored the effect of pH on affinity and quenching of **1** by NaI from 5.5 to 8.0. In general, pH-dependent quenching effect is not observed. The corresponding parameters are shown in Table 2. Above-mentioned results substantially support the existence of interaction between **1** and I⁻, facilitating very high fluorescence quenching of almost 100% in a wide pH range, around physiological values with sensitive detection limits. This fact, presumably, as a result of the chemical and photophysical stability of monomeric porphyrin **1** in buffered aqueous solutions.

Recent chemical sensors for detection and quantification of iodide in aqueous media are compiled in Table 3.

3.3. DFT studies and life-time measurements

A partial geometry optimization of the crystal structure of **1** was performed in which only the positions of hydrogen atoms were allowed to relax. The iodide anion was placed on top of the porphyrin ring and the entire structure was optimized at the same level of theory as before. A vibrational frequencies analysis led to all positive values which indicate that the obtained structure corresponds to a minimum in the potential energy surface. The molecular electrostatic potential mapped onto the electronic density (isovalue 0.002) is shown in Fig. 7.

The interaction energy was calculated with the NBODEl procedure in which those elements in the Fock matrix that involve orbitals centered on different fragments are set to zero (hence, deletion) and the re-diagonalization of the resulting matrix yields a new set of eigenfunctions and eigenvalues for which the interaction between fragments is non-existent. The raise in energy for the complex where the iodide is on the same plane as the porphine and located to the side of it is $404.83 \text{ kcal mol}^{-1}$, whereas for the minimum energy conformation where the iodide lays on top of the porphine plane is 402.79 kcal/mol . This values and their resemblance regardless of the position of the ion point towards the presence of a strongly ionic character of their

interaction. The total Wiberg bond index (TWBI) for iodine was calculated as the sum of pair bond indexes for iodide and each of the remaining atoms, yielding a value of 0.58; this TWBI is a rough estimate of the total number of covalent bonds an atom forms within a molecule, being significantly lower than unity for iodide we can ascertain that the interaction is mostly ionic. In consequence, the HOMO is located mainly on a p-type orbital on iodide whereas the LUMO is delocalized along the porphyrin ring, as can be observed in Fig. 8.

In order to examine the fluorescence quenching process, the life-times of 1.OTf upon addition of increasing concentrations of I⁻ ions were measured. It is known that, static (complexation) quenching does not generate considerable change in values of life-times on addition of a quencher whereas a change in life-times is assigned to a dynamic quenching. An aqueous solution of 1.OTf upon excitation 405 nm laser presents a biexponential fluorescence lifetime with $\tau_1 = 8.13 \text{ ns}$ and $\tau_2 = 1.22 \text{ ns}$, see Fig. 9A. The first exponential (τ_1) decreases upon gradual addition of iodide (0–16 μM). A plot the life-time against [I⁻] shows linear change ($\Delta \sim 3 \text{ ns}$) a low concentration [0–1.0 μM] and at higher concentration range, the life-time remains practically constant as is shown in Fig. 9B. The results of ¹H NMR titration experiment in combination with the life-time measurements demonstrate that the quenching corresponds to a combination of dynamic with static process.

The downfield shift of the methylene groups 5-CH on addition of I⁻ anion confirms the hydrogen bonding C-H...I interaction and complexation mode of recognition of iodide probably driven by hydrophobic effect. On the other hand, life-time measurements and DFT studies clearly demonstrate that the dynamic quenching has the greatest contribution in the extinction of the emission.

4. Conclusions

The triflate salt of cationic *meso*-Tetraarylporphyrin 1.OTf can be used as an intrinsic fluorescent chemosensor for the detection of iodide in aqueous solutions at pH = 7.4. Under these conditions, the addition of NaI exhibits rapid response with total quenching of **1**. A particularly high affinity ($K_{1,1^-} = 1.9(\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) and strong quenching ($K_{SV} = 1.1(\pm 0.1) \times 10^5$) was found in buffered solutions. This optical change allows for detection of iodide ions in the nanomolar concentration range with very good selectivity over other common anions such as cyanide, chloride, phosphate and pyrophosphate, only bromide elicits a significant interference. The quenching process could be explained by a combination of dynamic mechanism with the simultaneous formation of hydrogen-bonding PET static quenching possibly both in the excited and the ground-state. On basis of the crystal structure of 1-bromide, ¹H NMR, fluorimetric and UV-vis titrations, the binding mode of iodide is proposed involving hydrogen bonding interactions C-H...I with monomeric cationic porphyrins probably, these contacts are stabilized by a hydrophobic environment around the binding site. DFT

calculations and life-time measurements showed that the interaction of **1**.OTf with iodide is mainly ionic in nature since the iodine atom presents very low total Wiberg bond indexes and the fact that the interaction energy between iodine and **1**.OTf is + 400 kcal/mol and independent from the position of the iodide anion. Analysis of the frontier molecular orbitals show that HOMO and LUMO are mainly centered in one ion each, namely iodide and **1**.OTf, respectively. This outstanding binding property of **1** to iodide may make it promising candidate for other applications such as probes for FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy).

Acknowledgements

We thank M. Sc. María de la Nieves Zavala Segovia (NMR), Ph.D. Francisco Javier Pérez Flores M. Sc. Lizbeth Triana-Cruz (MS), M.Sc. Alejandra Nuñez-Pineda and M.Sc Hortensia Segura Silva (video) for technical assistance as well as to DGTIC–UNAM for granting us access to the supercomputing facilities known as ‘Miztli’. The financial support for this research by CONACyT -22 CB-239648, PDCPN-247495, “Fronteras de la Ciencia” No. 179.) and UNAM (PAPIIT IN203717) is gratefully acknowledged. M.K. S.-F.; C. L. H.-J.; I. J. B.-R. are grateful to CONACyT for scholarships 629475, 606121 and 577221 respectively.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.127>.

References

- [1] A.B. Aletti, D.M. Gillen, T. Gunnlaugsson, *Coord. Chem. Rev.* 354 (2017) 98.
- [2] P.A. Gale, C. Caltagirone, *Chem. Soc. Rev.* 44 (2015) 4212.
- [3] L. You, D. Zha, E.V. Anslyn, *Chem. Rev.* 115 (2015) 7840.
- [4] L.E. Santos-Figueroa, M.E. Moragues, E. Climent, A. Agostini, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 3489.
- [5] Y.-B.J. Ai-Fang Li, Jin-He Wang, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 3729.
- [6] I.M. El-Sewify, M.A. Shenashen, A. Shahat, H. Yamaguchi, M.M. Selim, M.M.H. Khalil, S.A. El-Safty, *ChemistrySelect* 2 (2017) 11083.
- [7] I.M. El-Sewify, M.A. Shenashen, A. Shahat, M.M. Selim, M.M.H. Khalil, S.A. El-Safty, *Microchem. J.* 139 (2018) 24.
- [8] S. Chen, P. Wang, C. Jia, Q. Lin, W. Yuan, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 133 (2014) 223.
- [9] B. Basumatary, M. Ayoub Kaloo, V. Kumar Singh, R. Mishra, M. Murugavel, J. Sankar, *RSC Adv.* 4 (2014) 28417.
- [10] A.K. Mahapatra, J. Roy, P. Sahoo, S.K. Mukhopadhyay, A. Chattopadhyay, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 2231.
- [11] A. Kaur, T. Raj, S. Kaur, N. Singh, N. Kaur, *Org. Biomol. Chem.* 13 (2015) 1204.
- [12] I.L. Lee, Y.M. Sung, C.H. Wu, S.P. Wu, *Microchim. Acta* 181 (2014) 573.
- [13] Y. Wang, H. Zhu, X. Yang, Y. Dou, Z. Liu, *Analyst.* 138 (2013) 2085.
- [14] L. Wang, G. Fang, D. Ye, D. Cao, *Sens. Actuators B* 195 (2014) 572.
- [15] S. Hussain, S. De, P.K. Iyer, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 2234.
- [16] Y. Zhao, L. Yao, M. Zhang, Y. Ma, *Talanta* 97 (2012) 343.
- [17] N. Singh, D.O. Jang, *Org. Lett.* 9 (2007) 1991.
- [18] H.A. Ho, M. Leclerc, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4412.
- [19] Z. Lin, Y. Ma, X. Zheng, L. Huang, E. Yang, C.-Y. Wu, T.J. Chow, Q. Ling, *Dyes Pigm.* 113 (2015) 129.
- [20] A. Dorazco-González, H. Höpfl, F. Medrano, A.K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.* 75 (2010) 2259.
- [21] M.A. Martínez-Aguirre, D.M. Otero, M.L. Álvarez-Hernández, T. Torres-Blancas, A. Dorazco-González, A.K. Yatsimirsky, *Heterocycl. Commun.* 23 (2017) 171.
- [22] T.K. Ghorpade, M. Patri, S.P. Mishra, *Sens. Actuators B* 225 (2016) 428.
- [23] S. Sandhu, R. Kumar, P. Singh, A. Wallia, V. Vanita, S. Kumar, *Org. Biomol. Chem.* 14 (2016) 3536.
- [24] J. Chen, Q. Lin, Q. Li, W.-T. Li, Y.-M. Zhang, T.-B. Wei, *RSC Adv.* 6 (2016) 86627.
- [25] H.-J. Cheng, H. Yan, Y.-L. Sun, C.-Y. Lu, T.-Y. Huang, S.-J. Chen, C.-H. Hu, Y.-Y. Wu, A.-T. Wu, *Analyst.* 137 (2012) 571.
- [26] C.D. Geddes, *Meas. Sci. Technol.* 12 (2001) R53.
- [27] V. Amendola, L. Fabbri, E. Monzanita, *Chem. - A Eur. J.* 10 (2004) 76.
- [28] E. Carbonell, E. Delgado-Pinar, J. Pitarch-Jarque, J. Alarcón, E. García-España, *J. Phys. Chem. C* 117 (2013) 14325.
- [29] B. de Benoist, M. Andersson, I. Egli, B. Takkouche, H. Allen, *Iodine Status Worldwide, WHO Glob. Database Iodine Defic. Geneca World Heal. Organ.* 2004, p. 1.
- [30] Ha. Ho, M. Leclerc, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4412.
- [31] N. Ahmed, B. Shirinfar, I. Geronimo, K.S. Kim, *Org. Lett.* 13 (2011) 5476.
- [32] N. Ahmed, B. Shirinfar, I.S. Youn, M. Yousuf, K.S. Kim, *Org. Biomol. Chem.* 11 (2013) 6407.
- [33] I.J. Bazany-Rodríguez, D. Martínez-Otero, J. Barroso-Flores, A.K. Yatsimirsky, A. Dorazco-González, *Sens. Actuators B* 221 (2015) 1348.
- [34] Y. Sasano, N. Yasuda, H. Maeda, *Dalton Trans.* 46 (2017) 8924.
- [35] S.J. Butler, D. Parker, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 1652.
- [36] J. Mosinger, M. Janošková, K. Lang, P. Kubát, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 181 (2006) 283.
- [37] Y. Ding, W.-H. Zhu, Y. Xie, *Chem. Rev.* 117 (2017) 2203.
- [38] Q. Qi, R. Lin, X. Chen, S. Li, *Sens. Actuators B* 222 (2016) 551.
- [39] S. Cohen, R. Margalit, *Biochem. J.* 270 (1990) 325.
- [40] K. Bordbar, A. Eslami, S. Tangestaninejad, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 6 (2002) 225.
- [41] P. Kubát, K. Lang, P. Anzenbacher Jr., K. Jursíková, V. Král, B. Ehrenberg, *Perkin Trans. 1* (2000) 933.
- [42] P. Kubát, K. Lang, V. Král, P. Anzenbacher, *J. Phys. Chem. B* 106 (2002) 6784.
- [43] L. Chen, H. Bai, J.F. Xu, S. Wang, X. Zhang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 13950.
- [44] S.Q. Liu, J.Q. Xu, H.R. Sun, D.M. Li, *Inorg. Chim. Acta* 306 (2000) 87.
- [45] T. Steiner, *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci.* 54 (1998) 456.
- [46] Y. Hua, A.H. Flood, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1262.
- [47] Y. Li, A.H. Flood, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 12111.
- [48] T.L.C. Figueiredo, R.A.W. Johnstone, A.M.P. SantAna Sørensen, D. Burget, P. Jacques, *Photochem. Photobiol.* 69 (1999) 517.
- [49] V.S. Chirvony, V.A. Galievsky, N.N. Kruk, B.M. Dzhagarov, P.Y. Turpin, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 40 (1997) 154.
- [50] G.Y. Li, K.L. Han, *Rev. Comput. Mol. Sci.* 8 (2018) e1351.
- [51] A. Dorazco-González, M.F. Alamo, C. Godoy-Alcántar, H. Höpfl, A.K. Yatsimirsky, *RSC Adv.* 4 (2014) 455.
- [52] J. Sobczyński, J.H.H. Tønnesen, S. Kristensen, *Pharmazie* 68 (2013) 100.
- [53] APEX 2 Software suite. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- [54] SHELXT, G.M. Sheldrick, *Acta Cryst. A71* (2015) 3.
- [55] C.B. shelXle, G.M. Hübschle, B. Sheldrick, *Dittrich, J. Appl. Cryst.* 44 (2011) 1281.
- [56] (a) ORTEP, L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* 45 (2012) 849; GIMP 2.8: The GNU Image Manipulation Program. <http://www.gimp.org>. (b) Persistence of Vision Raytracer (Version 3.6), Persistence of Vision Pty. Ltd., 2004, <http://www.povray.org>
- [57] A.L. Spek, *Acta Cryst. C71* (2015) 9.
- [58] A. Thakur, S. Bhatta, B. Mondal, et al., *Sens. Actuators B* 267 (2018) 617.
- [59] E. Zor, S. Alpaydin, A. Arici, et al., *Sens. Actuators B* 254 (2018) 1216.
- [60] D. Singha, P. Majee, S. Mondal, et al., *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 356 (2018) 389.
- [61] H. Wang, Q. Lu, Y. Liu, et al., *Sens. Actuators B* 250 (2017) 429.



Alejandro Dorazco joined the Center for Sustainable Chemistry CCQIS of Institute of Chemistry at Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) in 2013 as Associate Researcher, carrying out independent research projects focused on luminescent chemosensors and molecular recognition. He obtained his Ph. D. in 2010 with a thesis (Supramolecular Chemistry) in the group Prof. Anatoly Yatsimirsky, National University Autonomous of Mexico. Subsequently, he joined the group of Prof. Kay Severin, Swiss Federal Institute of Technology in Lausanne, as a postdoctoral fellow. He is Lecturer at School of Chemistry, UNAM.

El Encuentro de Química Inorgánica y la Universidad Veracruzana



Universidad Veracruzana



Otorgan la presente

Constancia a:

Salomón Flores María Karina, Bazany Rodriguez Iván Jonathan, Martínez Otero Diego, García Eleno Marco Antonio, Guerra García Jorge. J.1, Valdés Rivas Hugo Christian, Morales Morales

Por la presentación del trabajo en modalidad Cartel, titulado:

C-74. MultidetECCIÓN colorimétrica y fluorescente de aniones y tioles biológicos por receptores tipo pinza POCOP de níquel (II) y paladio (II)

Durante el 9° Encuentro de Química Inorgánica, celebrado en la Unidad de Servicios Bibliotecarios y de Información (USBI), Ixtaczoquitlán, Veracruz, del 25 al 28 de Junio del 2019.

Dra. Esmeralda Sánchez Pavón

Dr. Raúl Colorado Peralta

M.C. Luis Alberto Sánchez Bazán

