



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**RECONOCIMIENTO DE CISTEÍNA, HOMOCISTEÍNA Y
GLUTATIÓN BASADO EN UN COMPLEJO CATIONICO LUMINISCENTE
DE PLATINO(II). SÍNTESIS Y ESTUDIOS ESPECTROSCÓPICOS.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. Viviano Posadas Oswaldo Alejandro

Dr. Alejandro Dorazco González
INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A CONACyT por la beca otorgada (No.868013) para realizar mis estudios de maestría.

A los siguientes proyectos por el financiamiento:

- Programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica **PAPIIT-UNAM 2020-2023, IN216220**
- CONACyT ciencia de frontera 2019, proyecto **160671**

Al Dr. Alejandro Dorazco por concederme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y por apoyarme en varios aspectos profesionales.

Al personal técnico-académico del Instituto de Química: A la M. en C. María de las Nieves Zavala Segovia por su agradable disposición en la obtención de espectros y titulaciones de RMN. A la M. en C. Lizbeth Triana Cruz, la Dra. María del Carmen García González, la M. en C. Lucía del Carmen Marqués Alonso y a la M. en C. Lucero Mayra Rios Ruiz por el apoyo con los análisis de espectrometría de masas. A la Q.F.B. María del Rocío Patiño Mayra por análisis en espectroscopía de infrarrojo. A la Q. María de la Paz Orta Pérez por los análisis elementales y al Dr. Diego Martínez Otero por los análisis de difracción de rayos-X de los cristales obtenidos.

A los miembros de mi jurado por su colaboración en la revisión del presente manuscrito.

Presidente Dr. Martha Elena Sosa Torres

Vocal Dr. Juventino José García Alejandre

Vocal Dr. Edmundo Guzmán Percástegui

Vocal Dr. Marco Antonio García Eleno

Secretario Dr. Arturo Jiménez Sánchez

A mis padres José Viviano y María Posadas que me han apoyado a lo largo de estos años en lo académico y en lo personal, a mis amigos Josue Valdes, Cristian Pinzón, Eduardo Jaimes, por su ayuda en la parte experimental y teórica, y por las múltiples pláticas interesantes sobre química. Además a mis compañeros Karina, Ivan y Luis por ayudarme en varios aspectos relacionados al laboratorio.

Finalmente, pero no menos importante, a mis amigas Alejandra Sánchez, Abigail Rangel, Azucena Martínez, Gabriela Morales, Jennifer Muñoz y Ashly Huidobro por apoyarme emocionalmente a lo largo de este proceso, gracias.

ÍNDICE

I.	Introducción.....	I-1
II.	Antecedentes y marco teórico	II-5
II.1	Tioles biológicos	II-5
II.2	Quimiosensores	II-7
II.2.1	Concepto y clasificación	II-7
II.2.2	Sensores para tioles biológicos	II-8
II.3	Interacciones supramoleculares	II-15
II.4	Luminiscencia	II-18
II.4.1	Mecanismos.....	II-18
II.4.2	Transferencia de carga en compuesto de coordinación y organometálicos	II-21
II.4.3	Encendido de la luminiscencia.....	II-22
II.4.4	Extinción “Quenching”	II-22
II.5	Diseño de sensores para tioles biológicos	II-25
II.5.1	Ligantes NCN tipo pinza como unidad señalizadora.....	II-26
II.5.2	Platino como unidad luminiscente y punto de contacto.....	II-27
II.5.3	Propiedades fotofísicas de compuestos organometálicos de Pt(II) tipo pinza con ligantes NCN	II-28
II.6	Síntesis de compuestos NCN y derivados organometálicos.....	II-28
III.	Objetivos	III-31
III.1	Objetivo General.....	III-31
III.2	Hipótesis	III-31
III.3	Objetivos Particulares	III-31
IV.	Experimental	IV-33
IV.1	Disolventes y reactivos.....	IV-33
IV.2	Instrumentación	IV-33
IV.3	Síntesis de compuestos	IV-34
IV.3.1	L0	IV-34

IV.3.2	L1	IV-35
IV.3.3	[Pt(L1)(Cl)]	IV-36
IV.3.4	[Pt(L1)(MeCN)]NO ₃	IV-37
IV.4	Estudio teórico del complejo [PtL1(MeCN)]NO₃.....	IV-38
V.	Resultados y discusión	V-41
V.1	Difracción de rayos X de monocristal	V-41
V.1.1	L0	V-41
V.1.2	L1	V-42
V.1.3	[Pt(L1)(Cl)]	V-43
V.2	Resonancia Magnética Nuclear.....	V-45
V.3	Estudio teórico del complejo [PtL1(MeCN)]NO₃.....	V-46
V.4	Reconocimiento molecular de tioles biológicos.....	V-48
V.4.1	Estabilidad del complejo en medios acuosos	V-48
V.4.2	Reconocimiento molecular de tioles	V-49
V.4.3	Dependencia del pH	V-56
V.4.4	Detección de cisteína en presencia de interferencias	V-56
VI.	Conclusiones	VI-59
VII.	Perspectivas	VII-60
VIII.	Anexos	VIII-61
VIII.1	Detalles cristalográficos de la resolución y refinamiento los cristales obtenidos.	VIII-61
VIII.2	Espectroscopía de los compuestos sintetizados.....	VIII-62
VIII.2.1	L0	VIII-62
VIII.2.2	L1	VIII-63
VIII.2.3	[Pt(L1)Cl].....	VIII-65
VIII.2.4	[Pt(L1)(MeCN)]NO ₃	VIII-65
IX.	Referencias	IX-67

ABREVIATURAS

Estudios		Luminiscencia	
IR	Espectroscopía de infrarrojo	MLCT	Metal to Ligand Charge Transfer (Transferencia de carga de metal a ligante)
MS-ESI ⁺	Espectrometría de masas por ionización por electroespray.	MMCT	Metal to Metal Charge Transfer (Transferencia de carga Metal a Metal)
DRX	Difracción de rayos X	ILCT	Inter Ligand Charge Transfer (Transferencia de carga interligante)
¹ H-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno	LMCT	Ligand to Metal Charge Transfer (Transferencia de carga de ligante a metal)
¹³ C-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono	LC	Ligand Centered
UV-VIS	Espectroscopía de absorción Ultravioleta-Visible	Orbitales	
DFT	Density Functional Theory (Teoría del funcional de la densidad)	HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital (Orbital molecular ocupado de más energía)
GGA	Generalized Gradient Approximation (Aproximación de gradiente generalizada)	LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital (Orbital molecular no ocupado de más baja energía)
TD-DFT	Time-dependent density functional theory (Teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo)	Dimensiones	
Sustancias		λ	Longitud de onda
L0	1,3-bis(1H-bencimidazol-2-il)benceno	δ	Desplazamiento químico en ppm
NO ₃ ⁻	Nitrato	ⁿ J _{a-b}	Constante de acoplamiento entre los núcleos "a" y "b" a "n" enlaces de distancia
DMSO-d ₆	Dimetil sulfoxido deuterado	m/z	Relación masa-carga
MeCN-d ₃	Acetonitrilo deuterado	%T	Porcentaje de transmitancia
MeCN	Acetonitrilo	Φ_F	Rendimiento cuántico de fluorescencia
CDCl ₃	Cloroformo deuterado	LOD	Límite de detección
Cys	Cisteína	Unidades	
Hcy	Homocisteína	Hz	Hertz
GSH	Glutación	MHz	Mega Hertz (10 ⁶ Hz)
Estudios RMN		mL	mililitro
s	Singulete	mg	miligramo
t	Doblete	mmol	milimol
d	Triplete	nm	nanómetro
m	Multiplete	°C	grados centígrados
Estudios IR		g	gramo
d	Señal débil	eV	electronvoltio
m	Señal media	Å	Ángstrom (10 ⁻¹⁰ m)
f	Señal fuerte		

RESUMEN

Un nuevo complejo luminiscente catiónico de Pt(II) tipo pinza con fórmula general $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$ (L1= derivado *N*-sustituido del 1,3-bis(bencimidazol)benzeno) fue sintetizado y estudiado como un quimiosensor para cisteína, homocisteína y glutatión en medios acuosos por espectroscopía de fluorescencia. El complejo catiónico $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$ fue sintetizado en buenos rendimientos (>83%) por la reacción en microondas del ligante NCN con la sal de $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ seguida por la sustitución del cloro en el cuarto sitio de coordinación mediante una reacción de metátesis aniónica con la sal de AgNO_3 . El ligante L1, el cloro complejo intermediario y el complejo catiónico de Pt(II), fueron completamente caracterizados por las técnicas de IR-ATR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, UV-VIS, fluorescencia, espectrometría de masas y difracción de Rayos-X de monocristal.

El complejo **1** muestra una fuerte emisión luminiscente verde (500 nm) y estabilidad química en disoluciones acuosas conteniendo 30% de acetonitrilo. Con base en estudios espectroscópicos y cálculos teóricos DFT-TD, las propiedades fotofísicas de absorción a longitudes de onda larga (350 nm) y la emisión verde son asignadas principalmente a una transferencia de carga metal-ligante con posible contribución de transiciones intraligante. Las adiciones de cisteína, homocisteína, glutatión, una serie amplia de aminoácidos de referencia y biotina, a pH fisiológico, hacia una disolución acuosa del complejo $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$ apagan su emisión verde con una pronunciada selectividad y afinidad hacia cisteína.

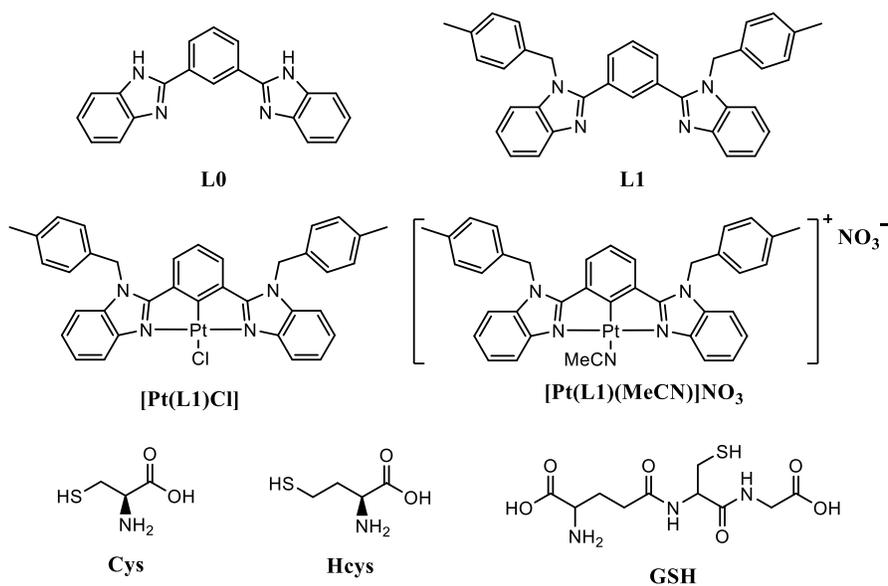
Con base en múltiples técnicas espectroscópicas y la estructura cristalina del cloro-complejo, la fuerte afinidad (constante de asociación, $K = 10^5 \text{ M}^{-1}$) y el cambio óptico eficiente es presumiblemente atribuido a la coordinación del átomo de azufre de la cisteína al centro metálico del quimiosensor con una estequiometría 1:1 en el equilibrio químico, favorecido por contribución electrostática del complejo catiónico.

El cambio de la intensidad de la emisión de $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$ inducido por cisteína en concentraciones *sub*-micromolares fue también observado en la presencia de especies coexistentes en el plasma sanguíneo y orina. A partir de este cambio espectral es posible

cuantificar cisteína con un límite de detección de $0.1 \mu\text{M L}^{-1}$ y selectividad sobre especies interferentes comunes como homocisteína, aminoácidos y aniones.

En general, el complejo catiónico $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$ tiene potenciales aplicaciones de detección/cuantificación en tiempo real de cisteína en muestras fisiológicas y estos estudios se encuentran en curso.

Abreviaturas y estructura química de los compuestos utilizados en el presente escrito.



I. Introducción

La presente tesis está enmarcada por la Química Supramolecular Analítica, específicamente en el desarrollo de nuevos complejos fosforescentes organometálicos tipo pinza de platino(II) con ligantes rígidos tridentados (NCN) y su estudio como receptores artificiales para tioles biológicos (cisteína, homocisteína y glutatión) y aminoácidos. El diseño de sensores moleculares selectivos y con alta afinidad a especies con relevancia biológica es una tendencia actual en química supramolecular por sus potenciales aplicaciones en reconocimiento molecular, detección y cuantificación. Un quimiosensor óptico es una especie capaz de interactuar con un analito en forma específica mostrando cambios en sus propiedades fotofísicas (absorción, emisión, rendimientos cuánticos y tiempos de vida media)[1]. Un reto de la química moderna es la generación de receptores artificiales eficientes que mimeticen a los sistemas biológicos “huésped – anfitrión” con alta afinidad y selectividad en un medio competitivo como agua pura o mezclas acuosas. En este contexto, el diseño de quimiosensores basados en complejos organometálicos para tioles biológicos, que son indicadores químicos de trastornos metabólicos es un tema prácticamente inexplorado. La homocisteína es un aminoácido azufrado importante en la transferencia de grupos metilos en el metabolismo celular y es considerado un factor en enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Por otra parte, el glutatión es un tripéptido no proteínico y el principal oxidante de las células. La presente tesis tiene como objetivo principal el diseño, síntesis y evaluación por métodos espectroscópicos (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, Espectroscopía de absorción y emisión fluorescente) de un nuevo quimiosensor catiónico con fórmula general $[\text{Pt}(\text{NCN})\text{MeCN}]\text{NO}_3$, mostrados en la Figura 1, NCN= ligante rígido tipo pinza derivado de 1,3-bis(1H-benzo[d]imidazol-2-il)benceno. La estructura química de los bioanalitos S-donadores propuestos para el estudio se muestran en la Figura 2, adicionalmente se estudiará tanto la reactividad como la quimiodetección de una serie amplia de aminoácidos por motivos de comparación.

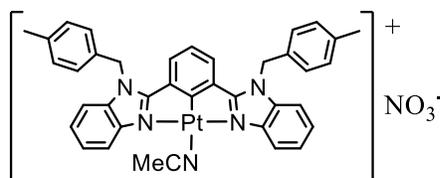
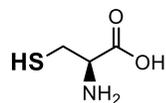
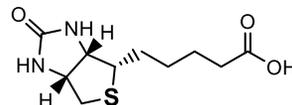


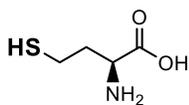
Figura 1. Complejo $[\text{Pt}(\text{L1})\text{MeCN}]\text{NO}_3$ propuesto en el proyecto.



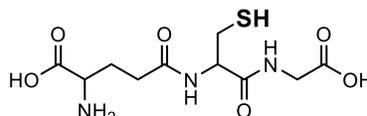
L-Cisteina



Biotina



L-Homocisteina



D,L-Glutatión

29

30

31

Figura 2. Tioles biológicos que se usaran en el estudio.

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47 Los motivos principales para el uso de este tipo de complejos son:

48

49

50

51

- 1) El uso de química de coordinación y métodos sintéticos bien conocidos de los complejos tipo pinza de Pt(II).
- 2) La estabilidad química en condiciones ambientales (presencia de oxígeno) y control de la geometría de coordinación.

- 52 3) La presencia de propiedades fotofísicas relevantes como tiempos largos de vida media,
53 usualmente en el rango de milisegundos (fosforescencia), color, y emisión en el rango
54 de colores del verde ($\lambda_{em}= 500\text{--}550$ nm), específicamente para los ligantes NCN
55 propuestos, lo cual es muy conveniente para los objetivos de este trabajo debido a que
56 su emisión esta fuera de las longitudes de absorbancia de los aminoácidos y biotioles
57 propuestos eliminando posibles interferencias en los estudios de quimiodetección.
- 58 4) La solubilidad y estabilidad química del complejo en medios acuosos.
- 59 5) La fuerte energía de enlace Pt-S (S=biotioles) debería sobrepasar las altas energía de
60 hidratación de los aniones y permitir el reconocimiento/detección en bajas
61 concentraciones del analito (*sub*-micromolares). En el contexto de compuestos
62 emisores de luz, es conocido que complejos organometálicos de Pt(II), modifican
63 drásticamente sus propiedades fotofísicas (transferencia de carga metal ligante,
64 MLCT), mostrando usualmente un desplazamiento batocromico al coordinarse tiolatos.
- 65 6) La naturaleza catiónica del receptor puede incrementar la afinidad sensor-bioanalito
66 debido a la contribución electrostática.
- 67 7) La asociación Pt(II)-analito puede ser promovida por la fuerte influencia *trans* del
68 grupo fenilo opuesto al sitio de coordinación del anión.

69

II. Antecedentes y marco teórico

II.1 Tioles biológicos

Los tioles juegan un rol importante dentro de los procesos biológicos, al contener su estructura química un átomo de azufre terminal con propiedades electrodonadoras (orbitales 3s y 3p llenos) y electroceptoras (orbital 3d vacío) además de un bajo potencial redox (E° -0.27V a -0.125V en proteínas)[2]. Dichos compuestos son utilizados como receptores de especies reactivas de oxígeno (ROS) y como bloques estructurales de proteínas con capacidad de formar puentes bisulfuro. Entre los tioles biológicos más importantes se encuentran la cisteína (Cys), la homocisteína (HCy) y el glutatión (GSH) (Figura 3).

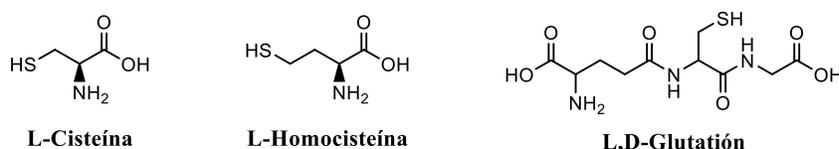
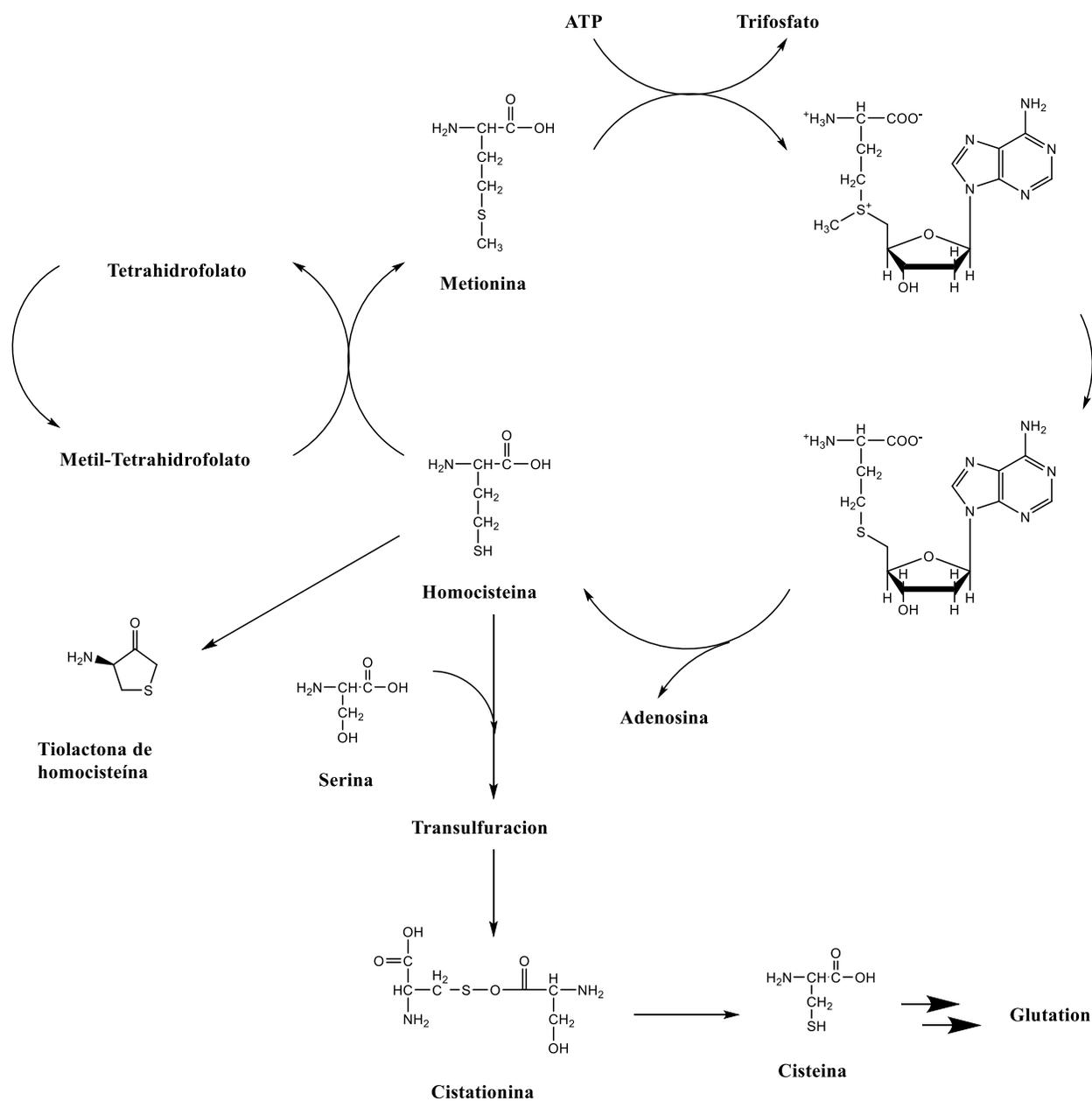


Figura 3. Estructura química de los principales tioles biológicos.

La cisteína es un aminoácido presente en las proteínas que participa de manera esencial en los sitios activos de las enzimas como GAPDH o las tirosina fosfatasa [2]. El glutatión es una molécula que regula el estrés oxidativo dentro de la célula y la homocisteína es un intermediario para la formación de otros tioles biológicos, y por lo tanto, sirve como señalizador de algún desorden dentro de dicho ciclo [3,4]. Estos tioles son generados en el medio celular mediante los mecanismos mostrados en la Figura 4. Una alteración en los ciclos o en las posteriores reacciones de oxido-reducción conlleva al cambio de la concentración de estos compuestos en los fluidos celulares, por lo que determinar dicha concentración ha tomado gran relevancia debido a la cantidad de enfermedades relacionadas con niveles anormales en plasma sanguíneo u orina de cisteína, homocisteína y glutatión.[3–10]



23

24

25

Figura 4. Biosíntesis de los tioles biológicos estudiados.[4]

26

27

28

29

30

El reconocimiento y la detección selectiva de tioles biológicos en tiempo real sigue siendo un reto para química “huésped-anfitrión” y las ciencias analíticas debido a las bajas concentraciones en muestras biológicas, usualmente en un intervalo micromolar (Tabla 1) y a su similitud tanto estructural como en reactividad.

31 *Tabla 1. Concentración de tioles biológicos en diferentes medios biológicos (Población adulta). [11]*

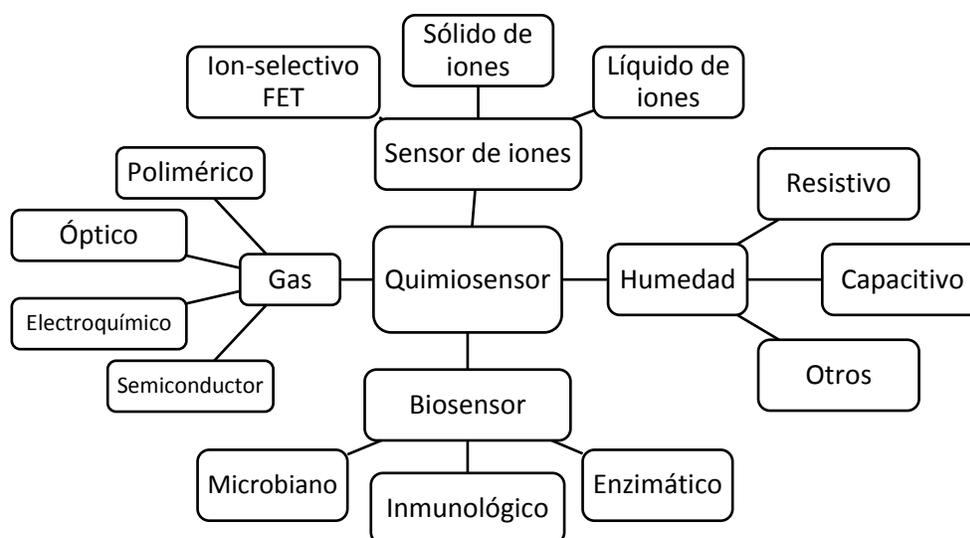
Biofluidos	Cisteína (μM)	Homocisteína (μM)	Glutatión (μM)
Plasma Sanguíneo	189–235	6.2–11.2	8.2–17.4
Orina	181	10	0

32

33 Para resolver este problema se han propuesto el uso de métodos cromatográficos, sin
 34 embargo, estos métodos requieren el uso de equipos costosos y de un tratamiento de la muestra
 35 con múltiples pasos, lo que conlleva a análisis de alto costo económico y considerable tiempo
 36 [12–17]. En los últimos años se ha optado por la detección en tiempo real de dichos analitos
 37 mediante el uso de quimiosensores ópticos que tengan alta especificidad y sensibilidad [4].

38 **II.2 Quimiosensores**39 **II.2.1 Concepto y clasificación**

40 Un quimiosensor es una sustancia que convierte una propiedad química de un analito
 41 específico a una señal medible. Acorde a este principio los quimiosensores pueden ser
 42 clasificados respecto a la propiedad macroscópica que cambia con la presencia del analito, o
 43 bien, basados en la propiedad química a medir. La primera clasificación permite definir a los
 44 quimiosensores por su respuesta analítica como ópticos, electroquímicos, de masa, magnéticos
 45 y térmicos, mientras que la segunda permite definir una gama más amplia de quimiosensores
 46 como se observa en la Figura 5 [18].



47

48

49

Figura 5. Clasificación de quimiosensores. Basado en referencia [18].

Un quimiosensor idealmente es de bajo costo, portable, de fácil uso y con una respuesta rápida y selectiva a un analito en un intervalo de concentración dado. Para la determinación de analitos en medios fisiológicos se prefiere el uso de quimiosensores ópticos que detecten iones en disolución, esto debido a que dichas sustancias pueden penetrar en el medio celular o mezclarse de manera efectiva con el medio y dar una respuesta que puede ser adquirida de manera no invasiva mediante equipos de bajo costo como espectrofotómetros UV-Visible u fluorímetros.[19]. Debido a que la mayoría de los analitos con importancia biológica se encuentra a concentraciones en el orden de 10^{-6} – 10^{-9} M el uso de sensores luminiscentes ha sido ampliamente preferido debido a su alta sensibilidad. Dichos sensores consisten en una unidad de reconocimiento que es responsable de la eficiencia y selectividad hacia el analito, y una unidad señalizadora que convierte esta información en una respuesta óptica característica (Figura 6), este cambio en las propiedades fotofísicas puede presentarse como cambios en: la longitud de onda de emisión, la eficiencia cuántica (intensidad de emisión) o en los tiempos de vida media de la emisión. En las secciones II.3 y II.4 se revisará tanto la parte relacionada a la unidad de reconocimiento (química supramolecular) como a la unidad señalizadora (fotofísica), sin embargo, a continuación se mostrará el estado del arte de los sensores luminiscentes enfocados a la detección de tioles biológicos.



67
68
69

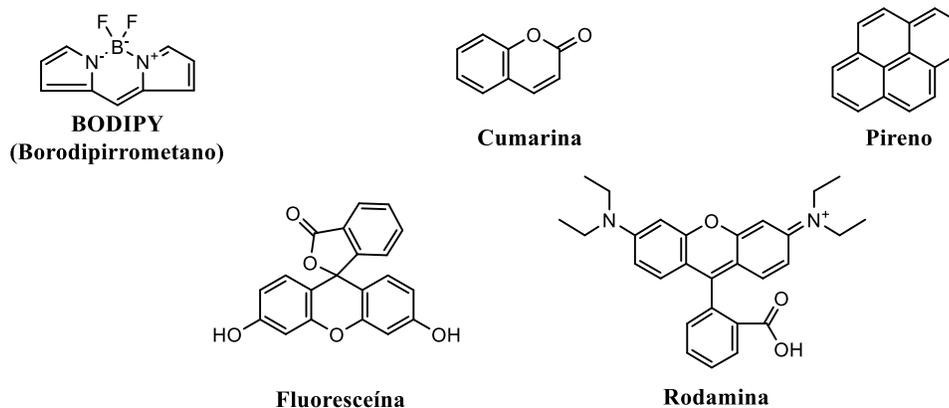
Figura 6. Representación esquemática de los sensores luminiscentes y áreas asociadas.[20]

II.2.2 Sensores para tioles biológicos

II.2.2.1 Sensores orgánicos

La mayoría de los sensores orgánicos se basan en un proceso de activación de su emisión fluorescente “Turn-On”, cuando el analito es detectado. Para conseguir esta respuesta se suele añadir un ionóforo que apague la emisión de un fluoróforo (Figura 7), esto con el

75 objetivo de que al detectar al tiol este ionóforo cambie su estructura a una que permita la
 76 emisión del fluoróforo nuevamente, ya sea mediante la ruptura de un ciclo o de un enlace
 77 químico. En general, cuanto más rápido es el tiempo de reacción, menos selectivo y estable es
 78 el sensor, por lo que el desarrollo de sensores orgánicos estables, selectivos y de rápida
 79 respuesta es un reto por resolver.



80

81

82

Figura 7. Fluoróforos comúnmente usados para el desarrollo de sensores de tioles biológicos.

83

84

85

En la Tabla 2 y Figura 9 se muestran algunos ejemplos de sensores orgánicos que han sido desarrollados recientemente. Dichos sensores suelen reconocer al tiol mediante uno de los siguientes mecanismos: [4,21,22]

86

87

88

89

90

- Adición a aceptores de Michael.
- Ciclación con aldehídos.
- Ciclación con el tiol.
- Ruptura de sulfonamidas o sulfonas por tioles.
- Sustitución de grupo saliente.

91

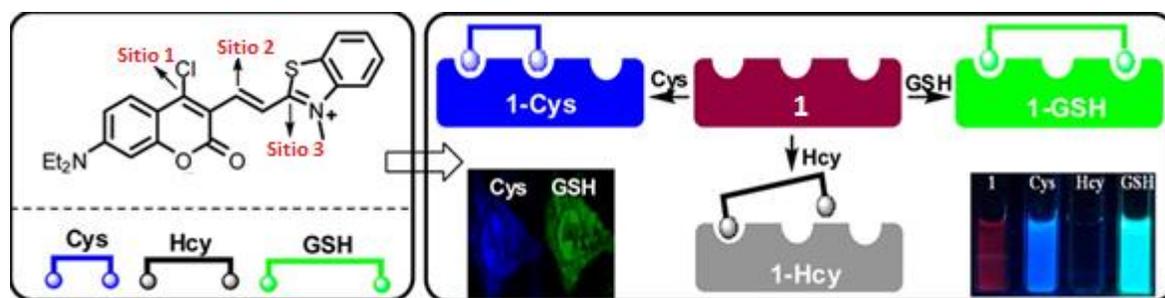
92

93

94

95

La disminución de la conjugación provocado por la ruptura de un enlace π conlleva a un cambio en la absorción o emisión del sensor, Jing Liu y colaboradores reportaron la detección selectiva con multirrespuesta fluorescente para los tres tioles biológicos mediante diferentes canales de emisión utilizando un derivado de cumarina como se muestra en la Figura 8.[23]



96

97 *Figura 8. Sensor de Cys, Hcy y GSH basado en cumarina mostrando los diferentes canales de respuesta*
 98 *fluorescente. LOD GSH=0.05*

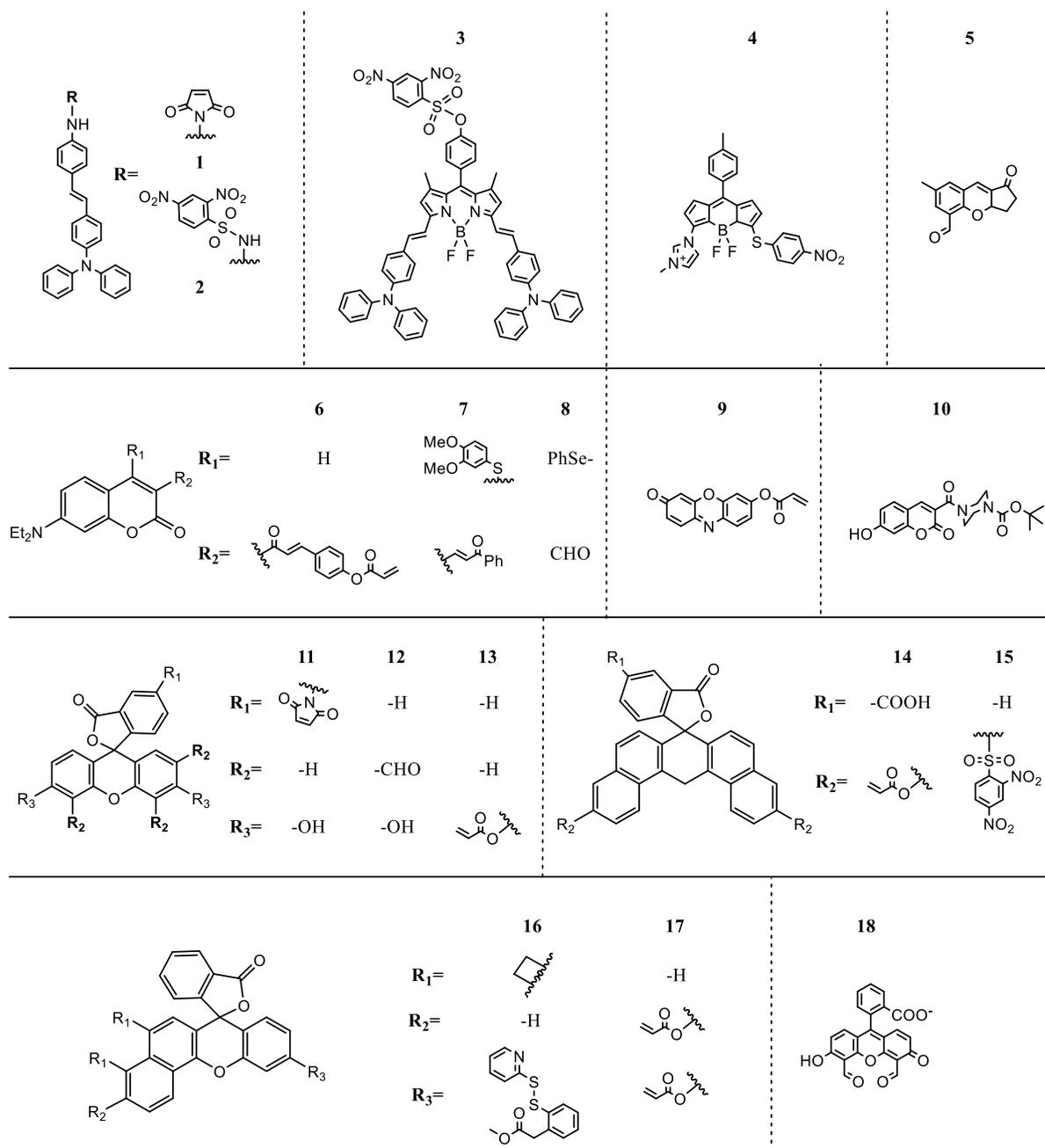
99

100 *Tabla 2. Propiedades fotofísicas de algunos sensores para tioles biológicos, LOD= Límite de detección.*

No.	Mecanismo	Disolvente	Respuesta fotofísica	LOD (μM)	Tiempo de respuesta (min)	Ref.
1	Adición de Michael	MeOH	Encendido azul	Cys= 0.13 HCy= 0.12 GSH= 0.085	2	[24]
2	Ruptura de sulfona	DMSO/ H ₂ O	Encendido azul	Cys= 0.037 HCy= 0.048 GSH= 0.12	30	[25]
3	Ruptura de sulfona	THF	Encendido rojo	GSH= 0.025	40	[26]
4	Sustitución de tío e imidazol	MeCN/ H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 5 HCy= 5 GSH= 5	5	[27]
5	Adición de Michael	DMSO/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.064	30	[28]
6	Adición de Michael	H ₂ O	Cambio De Color anaranjado a rosa	^a	8	[29]
7	Adición de Michael y ciclación	DMSO/ H ₂ O	Encendido rojo	^a	30	[30]
8	Ciclación con aldehído y sustitución de selenio	DMSO/ H ₂ O	Encendido rojo	GSH= 0.27	5	[31]
9	Adición de Michael	H ₂ O	Encendido rojo	^a	^a	[32]
10	^a	DMF/ H ₂ O	Encendido anaranjado	Cys= 0.64	30	[33]
11	Adición de Michael	DMSO/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.04 HCy= 0.034 GSH= 0.026	0.1	[34]
12	Ciclación con aldehído	DMSO/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 1.88 HCy= 1.88	^a	[35]
13	Ciclación con cisteína	EtOH/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.12	^a	[36]
14	Ciclación con cisteína	MeOH	Encendido verde	Cys= 0.58	15	[37]
15	Ruptura de sulfona	DMSO/ H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 2.93 HCy= 1.29 GSH= 0.059	20	[38]

16	Ciclación con cisteína y ruptura de puente disulfuro	MeCN/ H ₂ O	Encendido amarillo	Cys= 0.13 GSH= 0.12	40	[39]
17	Ciclación con cisteína	H ₂ O	Cambio De Color traslucido a rosa	Cys= 10	20	[40]
18	Ciclación con aldehído	H ₂ O	Cambio De Color amarillo a anaranjado	Cys= 5 HCy= 5 GSH= 5	a	[41]

101

^a Dato no informado.

102

103

104

Figura 9. Estructuras químicas de los sensores orgánicos para tioles mostrados en la Tabla 2

105 *II.2.2.2 Sensores inorgánicos*

106 Existen dos maneras principales de ocupar un metal de transición para el diseño de
 107 sensores: la primera consiste en seleccionar un centro metálico con alta afinidad hacia azufre
 108 que apague la luminiscencia de un fragmento orgánico luminiscente, esto con el fin de que
 109 cuando el sensor esté en presencia de tioles estos secuestren al metal y permita la luminiscencia
 110 del fragmento orgánico. La segunda consiste en seleccionar un metal que permita la
 111 fosforescencia del compuesto y que sus propiedades fotofísicas puedan ser alteradas por la
 112 coordinación del tiol al metal. En el primer caso, es común encontrar iones de metales de
 113 transición como plata(I), mercurio(II), cobre(II), oro(III) e incluso europio(III) o iterbio(III),
 114 los cuales se encuentran unidos a ligantes lábiles que contienen grupos como acetato o
 115 fragmentos N-heterocíclicos, mientras que para sensores en los que busque modificar las
 116 propiedades fotofísicas se suelen sintetizar compuestos organometálicos con iones como
 117 iridio(III), platino(II) o rutenio(II) con ligantes multidentados. Este último tipo de sensores
 118 tiene la ventaja de que suelen presentar fosforescencia con tiempos de decaimiento en el
 119 intervalo de los microsegundos y tiempos de respuesta de minutos [21,42–44] , lo que permite
 120 discriminar la fluorescencia de fondo de la provocada por la unidad de señalización. Tanto en
 121 la Tabla 3 como en la figura 10 las referencias se puede encontrar algunos ejemplos
 122 seleccionados de sensores inorgánicos junto con sus condiciones de detección hacia biotioles.

123 *Tabla 3. Propiedades fotofísicas de algunos sensores inorgánicos. a= Compuesto de coordinación (COR) u*
 124 *organometálico (OM)*

No.	Tipo de compuesto ^a	Unidad luminiscente	Metal	Disolvente	Respuesta fotofísicas	LOD (μM)	Tiempo de respuesta (min)	Ref.
1	COR	Telómeros	Ag(I)	H ₂ O	Encendido azul	Cys= 0.025	-	[45]
2	COR	Rodamina	Au(I)	MeOH/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.1	3	[46]
3	COR	Terpiridina	Au(III)	DMSO/ H ₂ O	Encendido azul	Cys= 75 GSH= 75	10	[47]
4	COR	Bis-benzimidazol	Cu(II)	H ₂ O	Encendido morado	Cys= 0.1	-	[48]
5	COR	Cumarina	Cu(II)	DMSO/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.01 HCy= 0.01 GSH= 0.01	10	[49]
6	COR	Fluoresceína	Cu(II)	MeCN/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 9	10	[50]
7	COR	Antraceno	Cu(II)	DMSO	Encendido morado	Cys= 1.4 GSH= 2.24	10	[51]
8	COR	Difenil piridina	Ru(II)	H ₂ O	Encendido verde	GSH= 0.06	30	[52]

9	COR	Naftaleno	Cu(II)	EtOH/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.42 HCy= 0.1 GSH= 4.34	10	[53]
10	COR	Cumarina	Cu(II)	MeCN/ H ₂ O	Encendido verde	GSH= 0.36	40	[54]
11	COR	Rodamina	Cu(II)	MeCN	Encendido azul	Cys= 2.5 HCy= 2.5 GSH= 2.5	-	[55]
12	COR	Cumarina	Cu(II)	MeCN/ H ₂ O	Encendido verde	GSH= 0.2	30	[56]
13	COR	Fluoresceína	Cu(II)	H ₂ O	Encendido verde	Cys= 9	10	[50]
14	COR	Azo-corona	Eu(III)	H ₂ O	Quenching rojo	Cys= ?	80	[57]
15	COR	Tetraciclina	Eu(III)	H ₂ O	Quenching anaranjado	Cys= 0.1 HCy= 0.4 GSH= 0.2	10	[58]
16	COR	Perileno	Hg(II)	DMSO/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.0013 HCy= 0.00146 GSH= 0.00138	1	[59]
17	COR	Bipiridina	Hg(II)	H ₂ O	Encendido anaranjado	Cys= 0.006 GSH= 0.005	10	[60]
18	COR	Eter Corona	Hg(II)	H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 1.1	1	[61]
19	OM	Fenilpiridina/ fenantrolina	Ir(III)	DMSO/ H ₂ O	Encendido amarillo	GSH= 1.67	0	[62]
20	OM	Fenilpiridina/ fenantrolina	Ir(III)	DMF/ H ₂ O	Encendido amarillo	Cys= 0.00164 HCy= 0.00143 GSH= 0.00186	5	[63]
21	OM	Quinolina	Ir(III)	MeCN/ H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 300 HCy= 300	2	[64]
22	OM	Fenilpiridina/ fenantrolina	Ir(III)	MeCN/ H ₂ O	Encendido amarillo	Cys= 13000 HCy= 13000	15	[65]
23	OM	Fenilpiridina/ fenantrolina	Ir(III)	MeCN/ H ₂ O	Encendido anaranjado	Cys= 0.037 HCy= 0.068 GSH= 0.024	30	[66]
24	COR	Tetra fenil eteno	Pt(II)	MeOH/ H ₂ O	Encendido verde	Cys= 0.189 GSH= 0.278	5	[67]
25	OM	NCN pincer	Pt(II)	MeCN/ DMF	Quenching verde	Cys= 50 GSH= 50	1	[68]
26	COR	Fenantrolina	Pt(II)	MeCN/ H ₂ O	Cambio de color verde a amarillo	Cys= 40 HCy= 40	120	[69]
27	COR	Bipiridina	Ru(II)	DMSO/ H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 1.41 HCy= 1.19	1	[70]
28	COR	Bipiridina	Ru(II)	H ₂ O	Encendido rojo	Cys= 0.229 HCy= 0.227 GSH= 0.242	5	[71]
29	COR	Bipiridina	Ru(II)	H ₂ O	Encendido naranja	Cys= 0.02 GSH= 0.02	30	[72]
30	COR	Rodamina	Se(II)	H ₂ O	Encendido rojo	GSH= 0.001	30	[65]
31	COR	Terpiridina	Tb/Eu	H ₂ O	Encendido verde	Cys= 7 GSH= 7	8	[73]

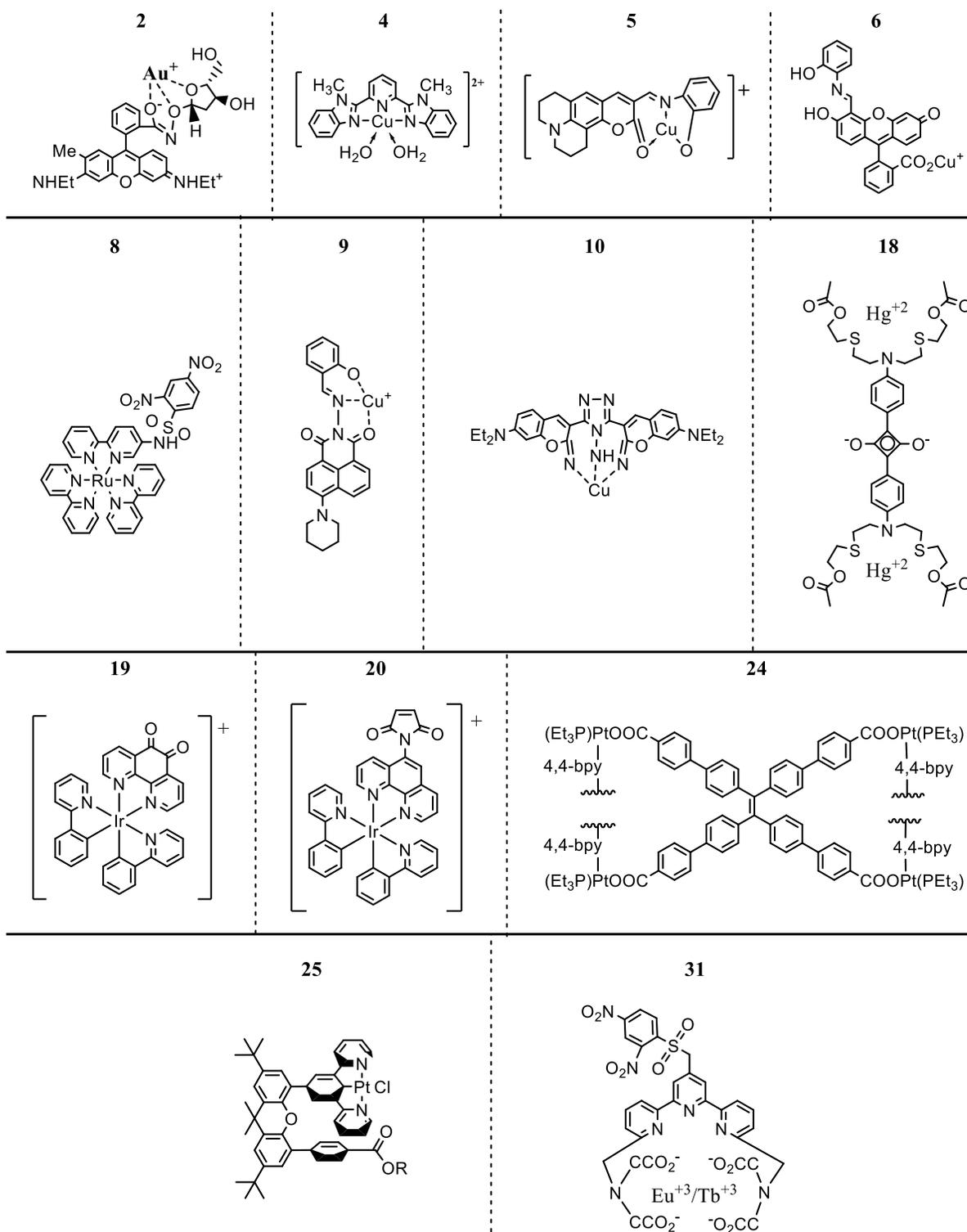


Figura 10. Estructuras químicas de los sensores inorgánicos seleccionados.

125

126

127

128 **II.3 Interacciones supramoleculares**

129 Como se mencionó en la sección II.2.1, la unidad de reconocimiento es la que se
130 encarga de reaccionar con el analito y transducir esta información a la unidad señalizadora, por
131 lo tanto, el modo de unión es importante debido a que de él dependen propiedades del sensor
132 como su estabilidad, sensibilidad, selectividad, tipo de respuesta analítica y tiempo de
133 respuesta. Dicha fuerza de unión puede generarse mediante la formación de un enlace
134 covalente, o bien mediante interacciones no covalentes. Dichas interacciones son generadas
135 por fuerzas electrostáticas de diferente magnitud y pueden o no incluir cierto carácter
136 covalente[74]. En la Tabla 4 se muestran algunas características de dichas interacciones, las
137 más comunes suelen ser el enlace de coordinación y el enlace de hidrógeno.

138 El enlace de coordinación implica un traslape entre los orbitales del metal y del ligante,
139 por lo que suele tener energías de enlace cercanas a las de un enlace covalente (150–
140 450 kJ/mol), dicha energía depende de: el estado de oxidación del metal, la capacidad donadora
141 del ligante, y de la polarizabilidad de ambos. De acuerdo al concepto de ácidos y bases duros
142 y blandos de Pearson, los compuestos más estables serán aquellos donde la unión se lleve entre
143 ácidos duros con bases duras y bases blandas con ácidos blandos, por lo que para el desarrollo
144 de sensores hacia tioles que secuestren al metal se debe coordinar el metal a bases duras, como
145 grupos acetato o amina, para que al interactuar con una base blanda, como el azufre, los
146 ligantes sean intercambiados y el metal liberado de la parte fluorescente, encendiendo la
147 luminiscencia.

148 El enlace de hidrógeno es un caso particular de interacción dipolo-dipolo donde un
149 donador de enlace de hidrógeno (D) comparte el átomo de hidrógeno con un aceptor (A).
150 Mientras la energía de enlace D-H sea menor (mayor diferencia de electronegatividad) mayor
151 será la facilidad de donar este hidrógeno, al mismo tiempo, el aceptor recibirá dicho hidrógeno
152 fácilmente cuanta más disponibilidad de densidad electrónica tenga, ya sea debido a un par
153 libre de electrones o un doble enlace. La fuerza de dicho enlace se puede medir mediante
154 algunos parámetros enlistados en la Tabla 5.

155

156

Tabla 4. Características generales de diferentes interacciones supramoleculares.[74]

Tipo de interacción	Direccionalidad	Fuerza de enlace (kJ/Mol)	Ejemplo
Ion-Ion	No	100–350	NaCl
Enlace de coordinación	Si	100–300	Metal-Piridina
Ion-Dipolo	Levemente	50–200	Na ⁺ - Éter corona
Dipolo-Dipolo	Levemente	5–50	Grupo ciano
Enlace de Hidrógeno	Si	4–120	Dimero de acetato
Catión-π	Si	5–80	+N(CH ₃) ₄ ⁺ (Tolueno)
Capa cerrada	No	5–60	Interacciones argentofilicas
Enlace de halógeno	Si	10–50	Sulfuro-Iodo
$\pi - \pi$	Si	2–50	Benceno-hexafluorobenceno
Van Der Waals	No	<5	Alcanos

157

158

Tabla 5. Características del enlace de hidrógeno. [74]

Fuerza del enlace H	Fuerte	Moderada	Débil
Interacción A—H...D	Principalmente covalente	Principalmente electrostática	Electrostática
Energía de enlace (kJ/mol)	60–120	16–60	<12
Distancia H—A (Å)	1.2–1.5	1.5–2.2	2.2–3.2
Distancia D—A (Å)	2.2–2.5	2.5–3.2	3.2–4.0
Ángulos de enlace (°)	175–180	130–180	90–150
Desplazamiento relativo en IR	25%	10–25%	<10%
Desplazamiento a campo bajo en ¹H-RMN (ppm)	14–22	<14	?
Ejemplos	Dímeros de ácido en fase gas	Ácidos, alcoholes, moléculas biológicas	Enlaces C-H O-H- π

159

160

161

162

163

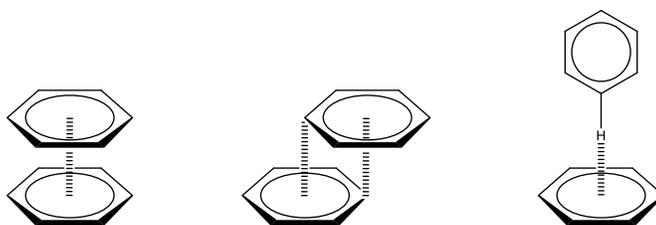
164

165

166

167

Otra interacción que suele presentarse en sistemas que contiene anillos aromáticos es el apilamiento π , dicha interacción es puramente de carácter electrostático de carácter cuadrupolar entre zonas con alta y baja densidad electrónica. Dicha interacción puede llevarse de tres maneras diferentes (Figura 11) y cada una de ellas es favorecida dependiendo de los anillos aromáticos que estén interactuando. Si interaccionan un anillo π deficiente con otro π excesivos la interacción predominante será de tipo sándwich, mientras que los sistemas donde interaccionan dos anillos aromáticos con la misma distribución electrónica interaccionaran principalmente de manera desplazada.[75]



168

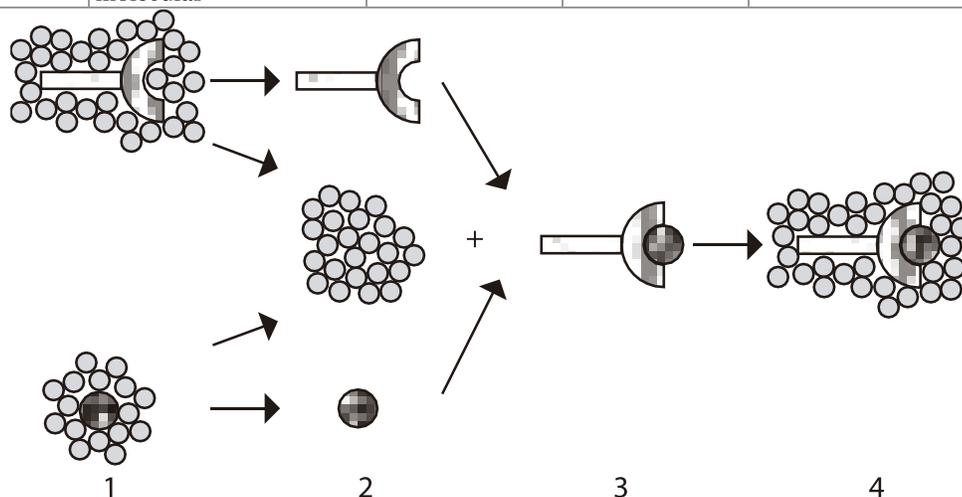
169 *Figura 11. Apilamiento π en forma de cara a cara (Izquierda), desplazada (Medio) y forma de T (Derecha).*
 170

171 Si el reconocimiento molecular se lleva a cabo en disolución, las interacciones
 172 disolvente-solutos juegan un rol importante en la velocidad de reacción e incluso en la
 173 selectividad.[75] Para que la interacción entre dos sustancias se lleve a cabo en disolución se
 174 cumplen los procesos termodinámicos mostrados en la Figura 12 y la Tabla 6.

175

Tabla 6. Procesos de interacción entre anfitrión- huésped en disolución.

Proceso	Descripción	Entrópicamente	Entálpicamente	Disminución de la energía de la interacción.
(1) Desolvatación	Desplazamiento de disolvente que solvata al sitio de unión	Favorecido	No favorecido	Disminuir interacción sitio de unión-disolvente
(2) Pre-arreglo	El anfitrión y el huésped adquieren la configuración espacial adecuada	Casi no cambia	No favorecido	Anfitrión y huésped rígidos y con la orientación adecuada
(3) Unión Anfitrión-Huésped	Unión Anfitrión-Huésped	Casi no cambia	Favorecido	Cooperatividad e interacción Anfitrión huésped fuerte
(4) Solvatación	Reacomodo del disolvente y de sus moléculas	Desfavorecido	Favorecido	Cambio de volumen molar bajo



176

177 *Figura 12. Representación simplificada del proceso de interacción entre anfitrión-huésped en disolución.*
 178

179 Por lo tanto, el diseño de un sensor específico debe tener en cuenta como las
180 interacciones supramoleculares disolvente- soluto y soluto-soluto afectan tanto al anfitrión
181 como a las diversas sustancias huésped, y con ello generar que la velocidad y energía de unión
182 hacia alguno de los analitos sea favorecida selectivamente aprovechando las diferentes
183 propiedades de los analitos y sus interacciones con el medio.

184 **II.4 Luminiscencia**

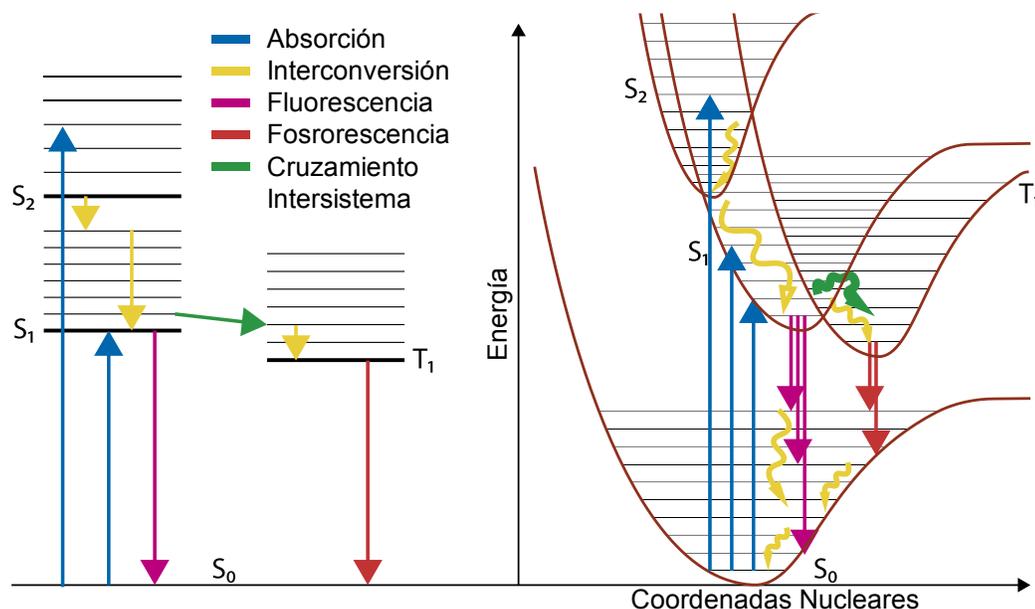
185 La luminiscencia de acuerdo a la IUPAC es la emisión espontánea de radiación de una
186 especie excitada electrónica o vibracionalmente que no se encuentra en equilibrio térmico con
187 su entorno[76], es decir, aquella emisión de luz que no es debida a la incandescencia del
188 material, sino a la excitación un electrón de su estado basal (A) a un estado excitado (A*). Si
189 la excitación es provocada mediante la absorción de luz ($h\nu$) el fenómeno se conoce como
190 fotoluminiscencia.



192 Cuando la molécula se encuentra en su estado excitado decae al estado base mediante
193 mecanismos radiantes (emiten luz) y no radiantes (no emiten luz).

194 **II.4.1 Mecanismos**

195 El proceso de fotoluminiscencia de una molécula comienza con la absorción de fotones
196 de una fuente externa para promover un electrón de su estado base a un estado excitado.
197 Posteriormente el electrón puede decaer a su estado base mediante relajación vibracional entre
198 niveles electrónicos diferentes o dentro del mismo nivel electrónico, o bien, puede decaer
199 mediante la emisión de un fotón de niveles con la misma multiplicidad de espín (fluorescencia)
200 o diferente multiplicidad de espín (fosforescencia). Dichos procesos son esquematizados en un
201 diagrama de Perrin-Jablonski (Figura 13) donde S_0 es el estado electrónico ocupado de mayor
202 energía (HOMO), S_n ($n=1,2,3..$) son los estados electrónicos singulete excitados y T_n
203 ($n=1,2,3..$) los estados electrónicos triplete excitados. Cada uno de estos procesos sucede en
204 intervalos de tiempo diferentes (Tabla 7), lo que repercute en la forma y eficiencia en la cual
205 una molécula absorbe y emite fotones.



206

207 *Figura 13. Diagrama de Perrin-Jablonski sobre los procesos de la luminiscencia, representación esquemática*
 208 *(izquierda) y representación con superficies de potencial (derecha).*

209

210

Tabla 7. Tiempos promedio de los procesos de la luminiscencia[77]

Transición	Tiempo (s)	Proceso radiante
Absorción	10^{-15}	Sí
Relajación vibracional	$10^{-12} - 10^{-10}$	No
Conversión Interna	$10^{-12} - 10^{-10}$	No
Fluorescencia	$10^{-10} - 10^{-7}$	Sí
Cruzamiento Intersistema	$10^{-10} - 10^{-8}$	No
Fosforescencia	$10^{-6} - 10$	Sí

211

212 Del diagrama de Perrin-Jablonski y de los tiempos de decaimiento se pueden deducir
 213 que:

- 214 • La absorción se lleva a cabo sin un cambio en las coordenadas nucleares debido a que
 215 el movimiento de los electrones es mucho más rápido que el de los núcleos (Principio
 216 de Frank-Condon).
- 217 • La emisión siempre se llevará a cabo desde el estado excitado de menor energía (S_1)
 218 debido a que la relajación vibracional es más rápida que cualquiera de los procesos de
 219 decaimiento radiante (Regla de Kasha).

- 220 • La longitud de onda de emisión debe ser igual o menor a la longitud de onda de
221 absorción debido a que se pierde energía mediante mecanismos no radiativos (Regla de
222 Stokes).
- 223 • Mientras menor sea la diferencia energética entre el estado basal y el estado excitado
224 de menor energía mayor será el traslape de los niveles vibracionales y por lo tanto
225 menor será la eficiencia de la emisión (Regla del band gap).[78]
- 226

227 Además de las reglas mencionadas, se debe de prestar especial atención en los
228 mecanismos que cobran relevancia respecto a la fluorescencia cuando metales pesados como
229 el platino o iridio están presentes en un sistema luminiscente, dichos fenómenos son el cruce
230 intersistema y la fosforescencia. El cruce intersistema es una transición entre dos niveles
231 vibracionales isoenergéticos de diferentes multiplicidades, usualmente del estado excitado S_1
232 a un nivel excitado triplete de menor energía T_n ($S_1 \rightarrow T_n$). De acuerdo con las reglas de
233 selección, la transición entre estados de diferente multiplicidad es prohibida, sin embargo, si
234 el acoplamiento espín-órbita¹ es grande, este proceso puede ser posible. Debido a que el cruce
235 intersistema transcurre en un intervalo de tiempo de 10^{-10} – 10^{-8} s, compite con la
236 interconversión interna y la relajación vibracional (10^{-12} – 10^{-10} s) provocando que el proceso
237 sea ineficiente, sin embargo, si el tiempo de vida media del estado excitado es grande y hay
238 pocas probabilidades de un decaimiento vibracional al estado base, este proceso es favorecido.

239 La fosforescencia es un proceso radiante en el que se emiten fotones del estado triplete
240 de menor energía T_1 al estado base S_0 ($T_1 \rightarrow S_0$), al igual que la fluorescencia, la emisión ocurre
241 desde el nivel vibracional de menor energía del estado excitado y sin haber un cambio en la
242 posición de los núcleos durante el proceso. Como en el caso del cruce intersistema, la
243 fosforescencia implica cambiar la multiplicidad de sistema mediante acoplamiento espín-órbita
244 por lo que es el proceso más lento de todos los mecanismos de relajación convirtiéndolo en el
245 mecanismo menos eficiente, ya que la probabilidad que ocurra la conversión interna al estado
246 base o la fluorescencia son más altas en el periodo de tiempo en el que un electrón decae por

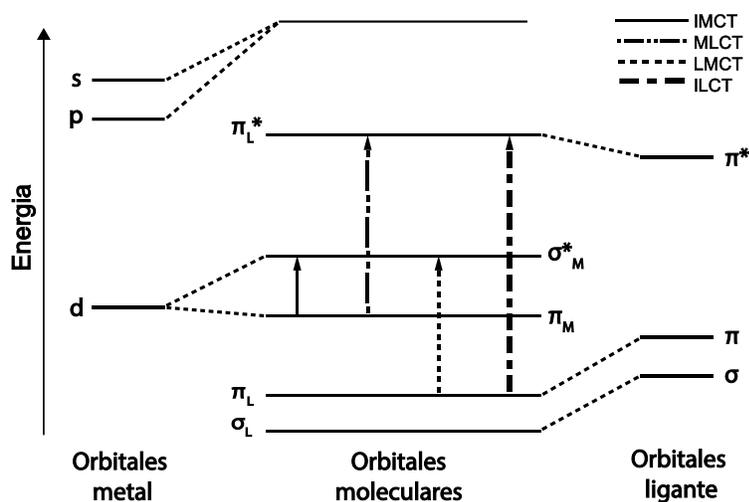
¹ El acoplamiento espín-órbita se refiere a la interacción entre el momento magnético de espín y el momento angular orbital en el que se encuentra el electrón, permitiendo el cambio de multiplicidad del sistema. Dicho proceso puede ser favorecido mediante el uso de átomos pesados con orbitales de gran momento angular (d y f)

247 fosforescencia. (10^{-4} – 10^{-1} s). Debido a que la energía de los estados triplete es menor
 248 comparada con la de los estados singulete, las energías de los fotones emitidos por
 249 fosforescencia tendrán mayor longitud de onda que los emitidos por fluorescencia.

250

251 II.4.2 Transferencia de carga en compuesto de coordinación y organometálicos

252 Si en un proceso de absorción o emisión los orbitales inicial y final se encuentran
 253 separados en el espacio, la promoción del electrón es acompañada de un cambio en el momento
 254 dipolar de la molécula, generando el fenómeno de transferencia de carga[79]. Dichas
 255 transiciones pueden ocurrir entre zonas dentro de un mismo ligante (ILCT) o dos ligantes
 256 diferentes (LLCT), dentro del mismo metal (IMCT), o entre orbitales del metal y del ligante
 257 (MLCT, LMCT) como se puede observar en la Figura 14.



258

259 *Figura 14. Transferencias de carga dentro de un compuesto de coordinación u organometálico.*

260

261 La absorción o la emisión de fotones que involucran transferencia de carga tienen
 262 diferentes energías relativas, usualmente las transiciones que se encuentran a menores
 263 longitudes de onda son las ILCT, debido a que la separación entre niveles energéticos es grande
 264 por lo que se requiere mayor energía para promover un electrón entre los dos estados. De
 265 acuerdo con el mismo razonamiento, la energía de dichas transiciones se suele encontrar en el
 266 orden $ILCT > MLCT \approx LMCT > IMCT$.

267 **II.4.3 Encendido de la luminiscencia**

268 Para favorecer el proceso de emisión es necesario eficientar los procesos radiantes
269 respecto a los no radiantes, esto es, aumentar la eficiencia de la absorción de luz, y aumentar
270 la eficiencia cuántica de los procesos de emisión. De acuerdo con las reglas de selección² los
271 coeficientes de absorptividad molar varían generalmente de la forma $\pi \rightarrow \pi^* > n \rightarrow \pi^* > d \rightarrow \pi^*$
272 $> d \rightarrow d^*$, por lo que para maximizar la absorción se requiere un extenso sistema π con una
273 brecha energética que se encuentre en el rango visible o en ultravioleta cercano.

274 En términos generales la eficiencia cuántica aumenta mientras menor disipación de
275 energía de manera vibracional exista, por lo tanto, la formación de sistemas rígidos con pocos
276 grados de libertad favorece el decaimiento mediante emisión de fotones. Debido a que la
277 fosforescencia compite fuertemente con los procesos no radiantes, es poco común encontrar
278 compuestos fosforescentes con grandes eficiencias cuánticas, sin embargo, la generación de
279 estados excitados de largo tiempo de vida favorece dicho proceso. Estos estados se generan
280 introduciendo grupos electrodonadores y electroattractores en regiones espacialmente
281 separadas en la molécula, provocando que las transferencias de carga se mantengan en el
282 tiempo, y si esta energía no es disipada vibracionalmente favorece el cruce intersistema
283 eficientando la fosforescencia.

284 **II.4.4 Extinción “Quenching”**

285 Quenching es el fenómeno por el cual la intensidad de emisión de un fluoróforo (F)
286 disminuye, dicha disminución es debida a la interferencia de una segunda sustancia llamada
287 “quencher” o extintor (Q) la cual, dependiendo del mecanismo por el cual disipa la energía
288 electrónica del fluoróforo puede clasificarse como quenching dinámico y quenching estático.

289 *II.4.4.1 Quenching estático.*

290 En sistemas en disolución con baja viscosidad, el quenching estático se refiere a la
291 formación de una especie F-Q no luminiscente, es decir, en dicho complejo la luz absorbida
292 regresa al estado basal sin emitir fotones. La dependencia de la intensidad de emisión respecto
293 a la concentración de quencher es:

² Las reglas de selección establecen que las transiciones electrónicas más probables son aquellas en la que el momento total de espín se mantiene y la paridad cambia.

294
$$\frac{I_0}{I} = 1 - k_s[Q] \quad (1)$$

295 Donde:

296 $\frac{I_0}{I}$ es la razón de cambio de la intensidad de emisión respecto al sistema sin quencher.

297 k_s es la constante de asociación entre el fluoróforo y el quencher.

298 $[Q]$ es la concentración de quencher.

299

300 *II.4.4.2 Quenching dinámico.*

301 Este fenómeno ocurre entre dos fluoróforos F y Q que intercambian energía después de
302 la excitación de F (F*). Esta energía puede ser disipada en el medio a largo alcance (FRET³) y
303 corto alcance (DET⁴), o bien emitirse como un fotón de menor energía respecto al emitido
304 únicamente por F* mediante la formación de un excíplex (FQ*) o un excímero (FF*) si tanto
305 el quencher como el fluoróforo son la misma especie. Dicho fenómeno es modelado mediante
306 la ecuación de Stern-Volmer:

307
$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (2)$$

308 Donde:

309 $\frac{I_0}{I}$ es la razón de cambio de la intensidad de emisión respecto al sistema sin quencheador.

310 K_{SV} es la constante de Stern-Volmer.

311 $[Q]$ es la concentración de quencheador.

312

313 *II.4.4.3 Diferenciación y quenching simultáneo.*

314 Debido a que tanto el quenching dinámico como el estático presentan una dependencia
315 lineal con la concentración de quencher, la diferenciación de ambos procesos es difícil, sin
316 embargo, existen algunas diferencias respecto al comportamiento que tienen frente a diferentes
317 estímulos (Tabla 8).

318

³ Abreviación de Förster Resonance Energy Transfer, consiste en la transferencia de energía sin contacto directo.

⁴ Abreviación de Dexter Energy Transfer, consiste en la transferencia de energía mediante un traslape de las nubes electrónicas, excitando el quencheador y devolviendo al fluoróforo a su estado de baja energía.

319

Tabla 8. Diferencias entre quenching dinámico y estático.

Quenching	Dinámico	Estático
Tiempo de vida media	Disminuye con el aumento de concentración	No cambia
Espectro de absorción	Disminuye proporcionalmente o no cambia	Cambio en la estructura
Dependencia con la temperatura	Disminuye la emisión	Aumenta la emisión

320 En el quenching estático la formación de la especie F-Q disminuye la cantidad de
 321 moléculas que pueden emitir fotones, más la emisión del fluoróforo libre no cambia sus
 322 propiedades fotofísicas (longitud de onda, tiempo de vida media, etc.), sin embargo, el espectro
 323 de absorción puede mostrar cambios debido a la formación de nuevas especies que pueden
 324 absorber. En el quenching dinámico las propiedades que dependen de la población del estado
 325 excitado se verán afectadas por la concentración del quencher, por lo tanto, el tiempo de vida
 326 media de la emisión disminuirá debido a que cierta cantidad de electrones excitados decaerán
 327 por un proceso no radiante debido al quencher. Respecto a la temperatura el quenching
 328 dinámico es acelerado ya que el número de colisiones y relajamiento vibracional aumentan, a
 329 diferencia del quenching estático que disminuye debido a que el complejo F-Q en primera
 330 instancia puede no ser formado fácilmente o bien una vez formado puede romperse y generar
 331 más moléculas de fluoróforo libre que pueden emitir.

332 Debido a que en un mismo sistema se puede presentar tanto el quenching dinámico
 333 como el estático simultáneamente, es necesario también contar con herramientas que permitan
 334 el análisis conjunto de los dos fenómenos, en la ecuación 3 se muestra la relación que tienen
 335 ambas cantidades respecto a la intensidad de emisión.

$$336 \quad \frac{I_0}{I} = 1 + (K_{SV} + K_S)[Q] + K_{SV}K_S[Q]^2 \quad (3)$$

337 Donde:

338 $\frac{I_0}{I}$ es la razón de cambio de la intensidad de emisión respecto al sistema sin quencheador.

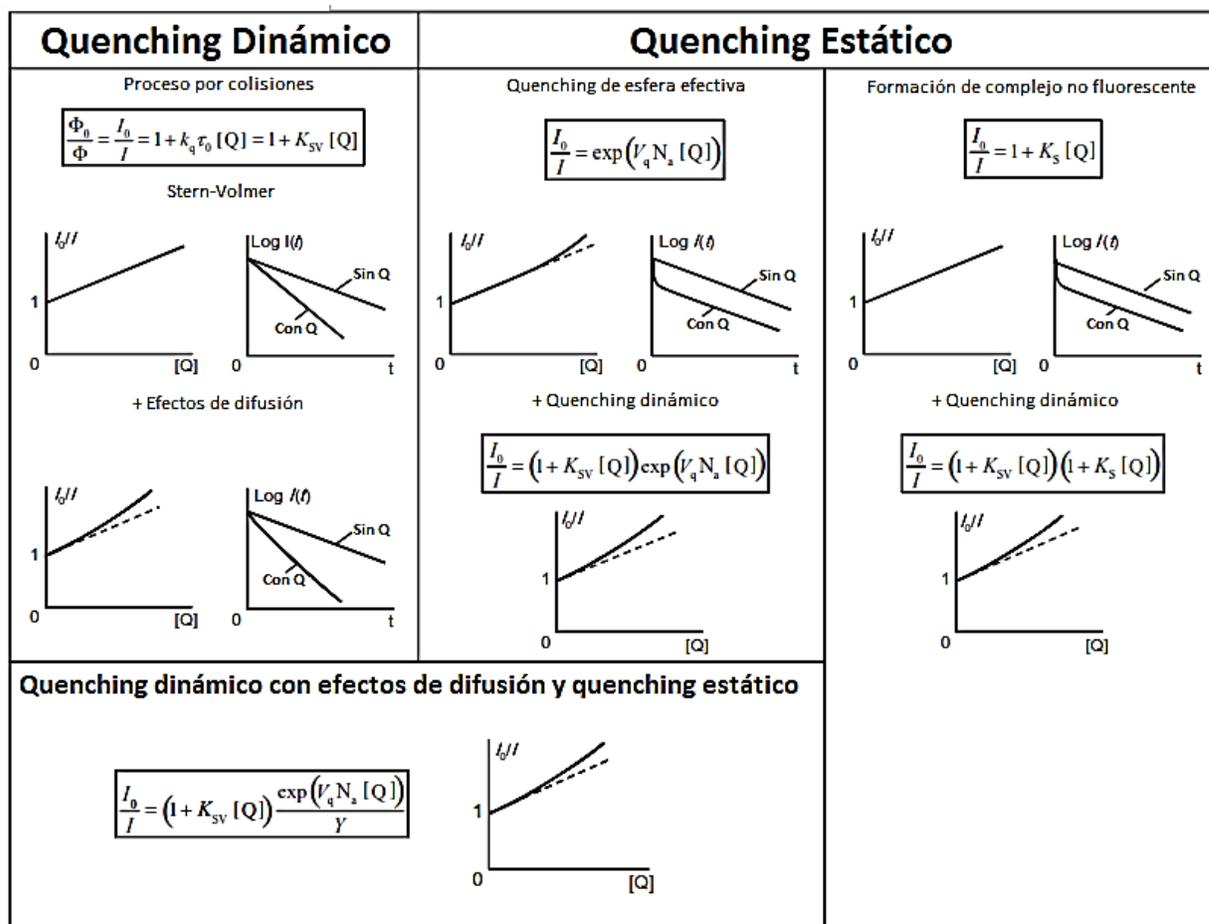
339 k_{SV} es la constante de Stern-Volmer.

340 k_S es la constante de asociación entre el fluoróforo y el quencher.

341 $[Q]$ es la concentración de quencheador.

342 En la Figura 15 se muestra los diferentes comportamientos de la grafica $\frac{I_0}{I}$ respecto a
 343 $[Q]$ con los diferentes tipos de quenching, e incluso algunos casos específicos donde la rigidez

344 del sistema (quenching estático de esfera efectiva) y la viscosidad (por difusión) pueden afectar
 345 la emisión.



346

347 *Figura 15. Representación gráfica de las diferencias entre quenching dinámico y estático. Basados en la*
 348 *referencia[79].*

349

350 II.5 Diseño de sensores para tioles biológicos

351 De acuerdo con lo visto en las secciones anteriores, para diseñar un sensor luminescente
 352 específico para tioles biológicos se requiere:

- 353
- 354 • Una unidad señalizadora rígido con alta conjugación que absorba a longitudes de onda
 355 en la región visible o ultravioleta, que tenga tiempo de vida media y eficiencia cuántica
 356 altas.
 - 357 • Una unidad de reconocimiento específica hacia tioles de rápida respuesta, alta
 sensibilidad y selectividad.

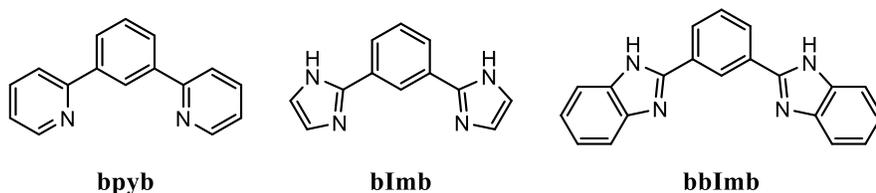
- 358 • Un sensor fácil de preparar, estable, soluble en agua y que requiera pocas cantidades
359 para dar una respuesta analítica a concentraciones micromolares.
360

361 En las secciones siguientes se mostrará como los complejos NCN con platino(II)
362 pueden solucionar en su mayoría estar características.

363 II.5.1 Ligantes NCN tipo pinza como unidad señalizadora

364 Los ligantes tipo pinza son compuesto quelantes que se unen al centro metálico
365 mediante tres sitios de unión convergentes, dichos ligantes son comúnmente ocupados en
366 conjunción con metales de transición debido a que forman estructuras estabilizadas mediante
367 efecto quelato, si además estos ligantes cuentan con un extenso sistema π , su nivel LUMO (π^*)
368 es energéticamente accesible al metal generando transferencias del tipo MLCT. Dentro de los
369 ligantes más usados para el desarrollo de sensores encontramos los basados en los fragmentos
370 1,3-bis(2-piridinil)benceno (**bpyb**) y el 1,3-bis(1H-imidazol-2-il) benceno (**bImb**) (Figura 16)
371 [80–83].El primero suele presentar una estabilidad hacia las condiciones fisiológicas y de
372 sensado, sin embargo, la introducción de nuevos sustituyentes tiene que ser realizada desde las
373 materias primas, mientras que el segundo muestra una estabilidad menor pero el hidrógeno del
374 imidazol es fácilmente sustituible lo que facilita la formación de una familia de compuestos
375 dada. Para mejorar su estabilidad se prefiere el uso de benzimidazoles(**bbImb**), ya que el
376 benceno bloquea las posiciones 3 y 4 susceptibles a posibles ataques nucleofílicos [84].

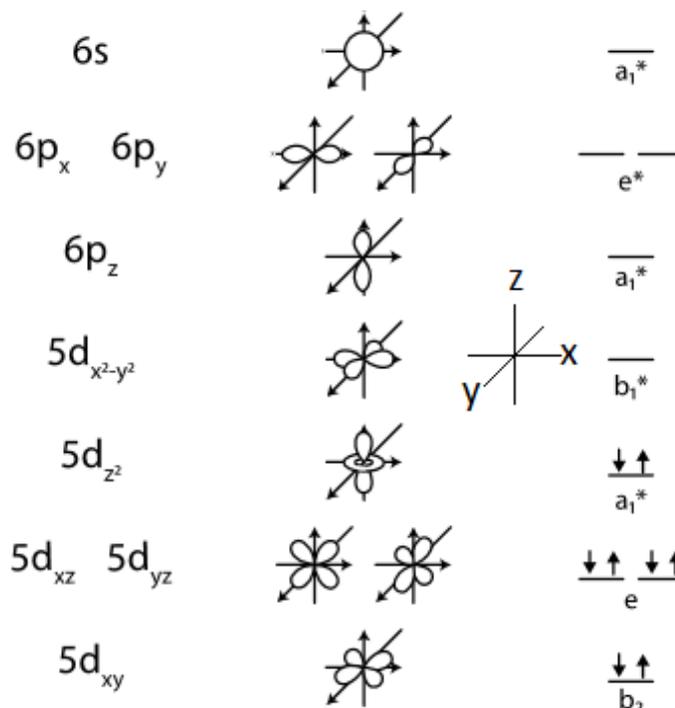
377 Esta familia de compuestos suele presentar bandas de absorción estructuradas a
378 longitudes de onda entre 230–340 nm debidas a transiciones π - π^* y presentan una
379 luminiscencia en el rango del azul[85]. Sin embargo, debido a su planaridad provocada por la
380 extensión del sistema conjugado suelen relajarse mediante apilamiento π por lo que no es
381 factible ocuparlo a altas concentraciones[86].



383 *Figura 16. 1,3-bis(2-piridinil)benceno (Izquierda), 1,3-bis(1H-imidazol-2-il)benceno (Medio) y*
384 *1,3-bis(1H-bencimidazol-2-il)benceno (Derecha).*
385

386 II.5.2 Platino como unidad luminiscente y punto de contacto

387 El platino(II) es un ion metálico con configuración electrónica d^8 que presenta una
 388 geometría cuadrada en la cual los orbitales 5d forman una configuración de bajo espín donde
 389 un orbital con simetría b_1 (x^2-y^2) permanece vacío permitiendo que participe en la formación
 390 de un nuevo enlace de coordinación y actuando como un ácido de Lewis (Figura 17).



391

392 *Figura 17. Desdoblamiento de los orbitales moleculares del platino(II) en un complejo con geometría*
 393 *cuadrada (D_{4h}) Basado en la referencia [87].*

394

395 Dicho ordenamiento orbital provoca que el efecto e influencia *trans* en complejos
 396 basado en Pt(II) sea generado, de acuerdo a Pinter y colaboradores [88], cuando un ligante
 397 deforma al complejo cuadrado permitiendo la hibridación de orbitales $5d(x^2-y^2)$ y $6p_x$
 398 permitiendo así que un fuerte donador σ estabilice al reactante y al mismo tiempo permitiendo
 399 que un aceptor π estabilice el estado de transición bimolecular, por lo tanto la combinación de
 400 un ligante donador σ *trans* a la zona de contacto en conjunción con ligantes aceptores π
 401 favorece el rápido intercambio en la zona de contacto.

402

403 **II.5.3 Propiedades fotofísicas de compuestos organometálicos de Pt(II) tipo pinza con** 404 **ligantes NCN**

405 La conjunción de los ligantes NCN con Pt(II) nos permite aprovechar la ventaja de
406 ambos fragmentos. Desde el punto de vista químico dichos compuestos son altamente estables,
407 debido a que el platino está fuertemente enlazado al ligante, además presentan una fuerte
408 influencia y efecto *trans*, lo que favorece las reacciones de intercambio de ligante en el cuarto
409 sitio de coordinación del complejo, específicamente el platino tiene afinidad hacia ligantes
410 blandos como tiolatos, yoduros y fosfinas, por lo que el reconocimiento de tioles biológicos a
411 bajas concentraciones puede ser factible, sin embargo, su selectividad no suele ser muy
412 grande.[81,89] En términos de solubilidad dichos complejos no suelen ser completamente
413 solubles en disolventes polares próticos como agua y alcoholes, y a concentraciones
414 milimolares suelen presentar auto agregación favorecida por apilamiento π e interacciones
415 metalofílicas Pt-Pt, entre las principales estrategias para sopesar esta característica se suele
416 utilizar grupos polares que permitan una mayor solubilidad en agua y sustituyentes robustos
417 en el ligante que no permitan un eficiente apilamiento π [83,90–94].

418 Desde el punto de vista fotofísico este tipo de compuestos tienen tiempos de vida media
419 de la emisión largos (hasta 1 μ s) además de altos rendimientos cuánticos respecto a otros
420 sistemas con platino ($\Phi_F=0.09-0.64$)[86,95–97], esto debido a que la fuerte interacción Pt-C
421 permite un mayor desdoblamiento de los orbitales d, lo que genera que las transiciones
422 MLCT/LC se encuentre a menores energías respecto a las transiciones d-d, que son
423 térmicamente accesibles y que podrían provocar un fuerte quenching dinámico[86,97,98].

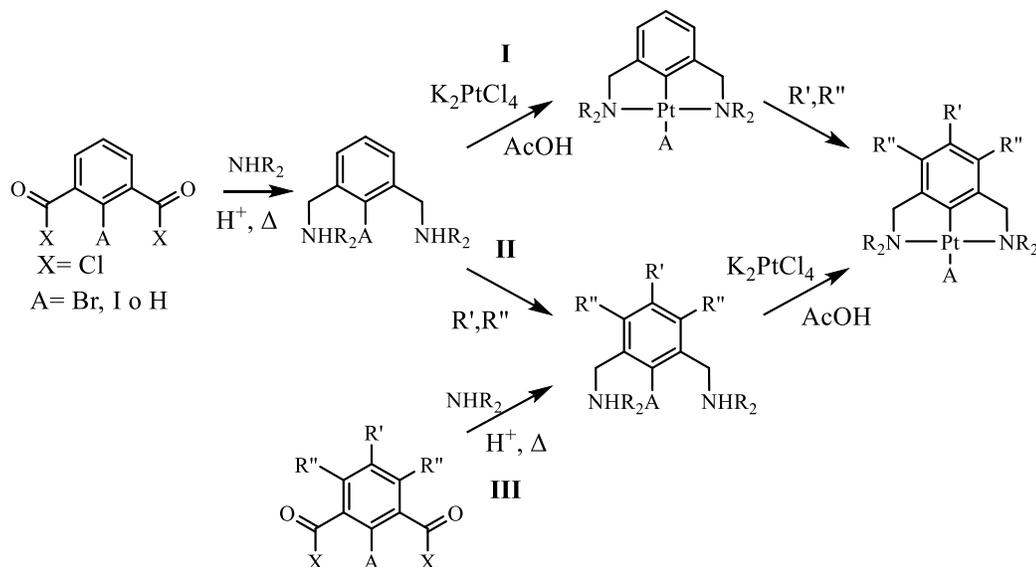
424 En el caso específico de los compuesto de Pt(II) con derivados de **bbImb**, el espectro
425 de absorción suele mostrar bandas estructuradas entre 200 y 400 nm debidas a transiciones
426 LC mientras que las transiciones LC/MLCT se encuentran entre 350 y 500 nm, respecto a la
427 emisión estas suelen encontrarse en el rango de emisión verde y se suelen encontrar tiempos
428 de vida media entre 0.1 y 137 μ s, y eficiencias cuánticas entre el 0.02 y 0.44 [85,99,100].

429

430 **II.6 Síntesis de compuestos NCN y derivados organometálicos**

431 La síntesis general de complejos ciclometalados se basa en tres rutas sintéticas
432 principales (Figura 18)[90]. El uso de cada una de estas metodologías depende de la zona en

433 la cual se quiera agregar un sustituyente, de acuerdo a lo observado en la literatura , si los
 434 sustituyentes R unidos al nitrógeno quieren ser cambiando, como en el caso de los
 435 benzimidazoles, la ruta más sencilla seria la ruta **I**, si se desea se desean complejos con
 436 sustitución en R'' se ocupa la ruta **II** , mientras que, si se requiere agregar los sustituyentes R'
 437 usualmente se ocupa la ruta **III** [81,83,96].



438

439

440

Figura 18. Rutas sintéticas para la formación de complejos tipo pinza NCN-Pt(II).

1 **III. Objetivos**

2 **III.1 Objetivo General**

3 Realizar el diseño original de un receptor artificial luminiscente basado en un complejo
4 ciclometalado de platino(II) con ligantes tipo pinza NCN, que presente una alta afinidad y
5 selectividad en agua sobre homocisteína, cisteína y glutatión.

6 **III.2 Hipótesis**

7 Se espera que el complejo ciclometalado catiónico de platino(II) con un ligante
8 tridentado del tipo NCN y un sitio de coordinación disponible puede ser usado como receptor
9 luminiscente para la quimiodetección de tioles biológicos en medios acuosos por cambio de
10 sus propiedades fotofísicas en tiempo real.

11 **III.3 Objetivos Particulares**

- 12 1. Sintetizar y caracterizar el complejo propuesto, así como sus intermediarios.
- 13 2. Estudiar la estabilidad del complejo organometálico sintetizado en un medio acuoso por
14 espectroscopía de fluorescencia.
- 15 3. Estudiar las propiedades fotofísicas (absorción, emisión, transiciones, etc.) del complejo
16 sintetizado.
- 17 4. Evaluar el complejo sintetizado como un quimiosensor para tioles biológicos, biotina y
18 otros aminoácidos por titulaciones espectroscópicas de emisión y absorción en un medio
19 acuoso.
- 20 5. Determinar las constantes de afinidad entre el complejo organometálico y los bioanalitos
21 propuestos.
- 22 6. Estudiar los sitios de coordinación y sitios de unión a través de experimentos de resonancia
23 magnética nuclear ^1H .
- 24 7. Explorar las condiciones adecuadas para la obtención de monocristales adecuados para
25 difracción de rayos-X del complejo y realizar un estudio teórico con dichos resultados.
- 26 8. Estudiar la selectividad y la relación entre estructura química-actividad entre el receptor y
27 los bioanalitos.

28

29 .

IV. Experimental

IV.1 Disolventes y reactivos

Los reactivos y disolventes utilizados fueron adquiridos de fuentes comerciales (Sigma-Adrich, Tecsiquim), se usaron tal y como se recibieron, excepto en los casos que se indique el método de purificación. La mayoría de los disolventes son anhidros o grado HPLC, sin embargo, algunos fueron secados por técnicas convencionales.

IV.2 Instrumentación

Los espectros de IR, se obtuvieron usando un equipo Perkin-Elmer Attenuated Total Reflectance FT-Spectrometer (ATR); en todos los espectros obtenidos se muestra el número de onda (cm^{-1}) contra el porciento de transmitancia (T%).

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se obtuvieron utilizando Trimetilsilano como referencia. Equipo Bruker Advanced 300MHz. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm.

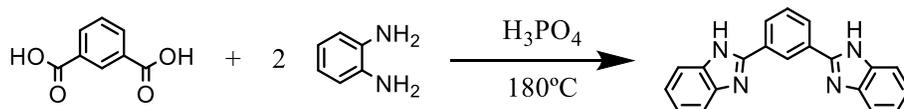
Los espectros de masas se obtuvieron usando un espectrómetro de masas marca JEOL modelo JMS-T100LC cuando el modo de ionización fue DART+ y un cromatógrafo de líquidos acoplado a masas marca Bruker Daltonics modelo Esquire 6000 cuando el modo de ionización fue ESI.

Los experimentos por espectrofotometría de UV-VIS se hicieron con un espectrofotómetro de arreglo de diodos, Agilent modelo Cary 100, con redisolución de 2nm con una precisión de longitud de onda $<\pm 0.5\text{nm}$ y una precisión fotométrica $<\pm 0.005\text{A}$. Se utilizaron celdas de cuarzo (Paso óptico [1cm], Volumen [3mL]).

Los experimentos por espectroscopía de fluorescencia se realizaron con un espectrofluorímetro Agilent Varian modelo Cary Eclipse (ventana espectral de 200 a 800nm), con una exactitud de longitud de onda de $\pm 0.5\text{nm}$ y una relación señal ruido 550/1. Las celdas utilizadas son de cuarzo (Paso óptico [1cm], Volumen [3mL]).

28 **IV.3 Síntesis de compuestos**

29 Los espectros de ^{13}C -RMN, IR y MS se encuentran en la sección de anexos para
30 aumentar la fluidez del texto.

31 **IV.3.1 L0**

32
33 En un matraz de bola de 50 mL se pesaron 500 mg (3 mmol) de ácido isoftálico y se mezclaron
34 con 814 mg (7.5 mmol) de *o*-fenilendiamina en 20 mL de ácido *orto*-fosfórico y se dejó
35 reaccionar durante 4 horas a 180°C con una trampa Dean-Stark para eliminar el agua del
36 sistema. La mezcla resultante fue vertida sobre hielo, filtrada a vacío y el sólido resultante
37 neutralizado con NaHCO_3 . Posteriormente el sólido fue disuelto en acetonitrilo, filtrado al
38 vacío y se evaporó el disolvente. El sólido de color blanco fue recristalizado en metanol.

39 Rendimiento: 50%

- 40 • ^1H -RMN (300 MHz, 25°C , $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 13.14 (s, 2H), 9.07 (s, 1H), 8.27 (dd, $J =$
41 7.79 Hz, 1.74 Hz, 2H), 7.75 (t, $J = 7.81$ Hz, 1H), 7.71 (s, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.25 (dd, $J =$
42 6.26 Hz, 2.95 Hz, 4H).
- 43 • ^{13}C -RMN (75 MHz, 25°C , $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 151.20, 144.26, 135.60, 131.42, 130.13,
44 127.96, 125.18, 123.23, 122.32, 119.40, 112.00.
- 45 • IR-ATR (cm^{-1}): $\nu = 3116$ (d), 3064 (d), 1438 (m), 737 (s), 704 (m).
- 46 • EI(+) MS: m/z : 310 [L0] $^+$.
- 47 • Elem. Anal. Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4$ (310.35): C, 77.40; H, 4.55; N, 18.05; Encontrado:
48 C, 77.50; H, 4.78; N, 18.23.

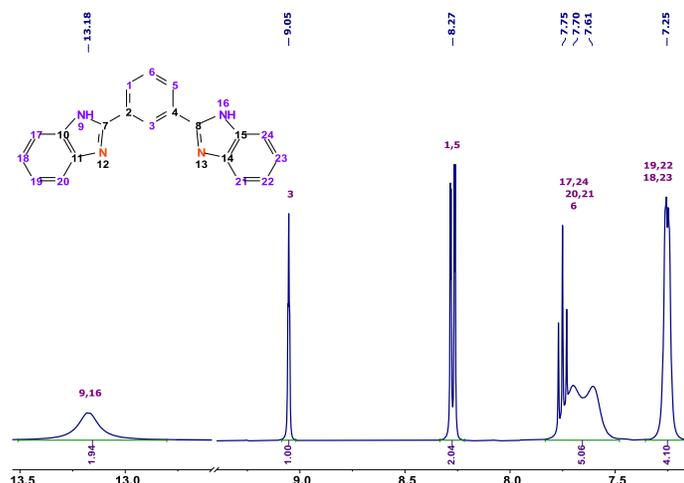
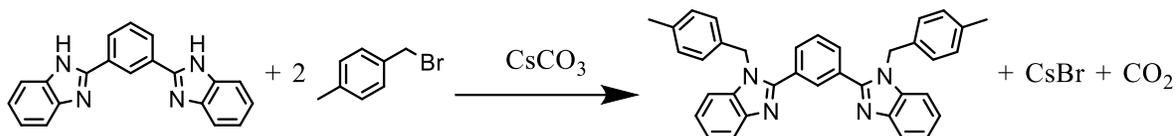


Figura 19. Espectro de ^1H -RMN del compuesto L0 en $\text{DMSO}-d_6$.

IV.3.2 L1

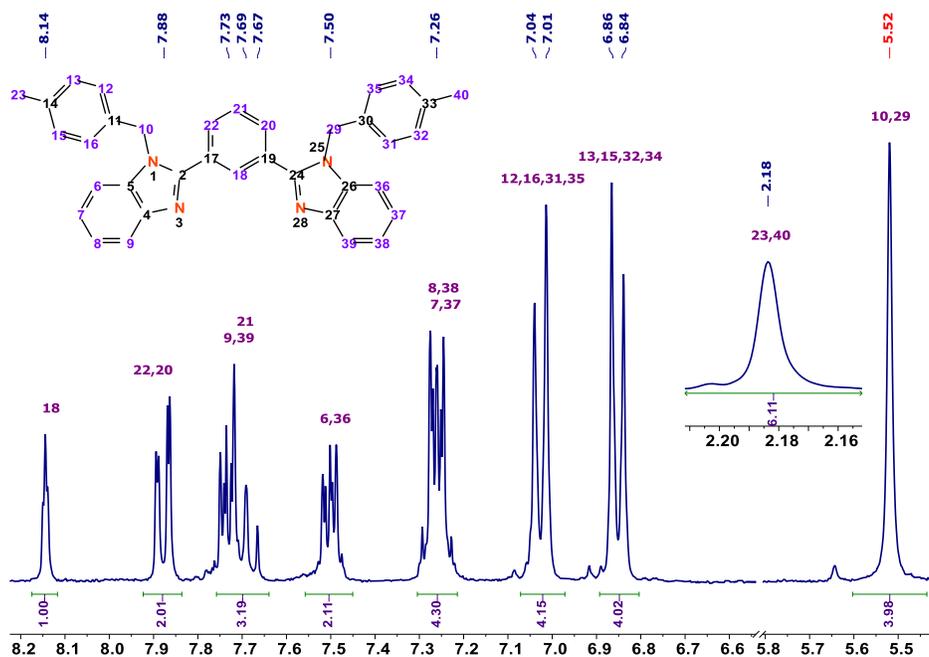


En un matraz de bola bajo atmosfera inerte de N_2 , se mezclaron 200 mg de L0 (0.65 mmol) con 441 mg de Cs_2CO_3 en DMF seco durante 18 min, posteriormente se agregaron 238.5 mg de bromuro de p-xinilo (1.3 mmol) y la reacción se mantuvo durante 18 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, el disolvente se evaporó a presión reducida y se disolvió el sólido en acetonitrilo caliente, cuando empezó a formarse una goma, esta se filtró y la disolución resultante se dejó enfriar dando cristales cafés.

Rendimiento: 95%

- ^1H -RMN (300 MHz, 25°C , $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 8.15 (s, 1H), 7.88 (dd, $J = 7.70$ Hz, 1.73 Hz, 2H), 7.76-7.66 (m, 3H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 4H), 7.02 (d, $J = 7.90$, 4H), 6.85 (d, $J = 7.91$, 4H), 5.52 (s, 4H), 2.18 (s, 6H).
- ^{13}C -RMN (75 MHz, 25°C , $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 152.92, 143.13, 137.20, 136.37, 134.20, 131.27, 130.64, 130.39, 129.86, 129.76, 126.64, 123.34, 122.78, 119.83, 111.73, 47.75, 21.04.
- **IR-ATR** (cm^{-1}): $\nu = 3037$ (d), 2917 (d), 1460 (m), 1436 (m), 1393 (m), 807 (m), 737 (s), 700 (m).
- **DART(+)** MS: m/z : 519 [$\text{L1} + \text{H}$] $^+$.
- **Elem. Anal.** Calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{N}_4$ (518.25): C, 83.77; H, 5.83; N, 10.80; Encontrado: C, 82.60; H, 5.77; N, 10.86

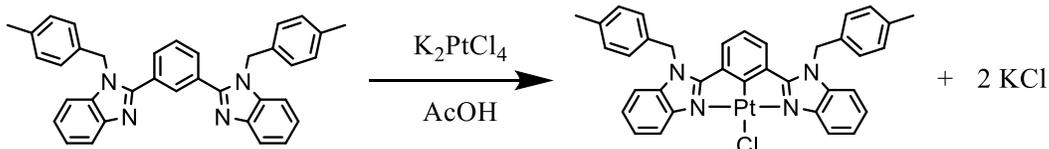
71



72

73 *Figura 20. Porción del Espectro de ^1H -RMN del compuesto L1 en DMSO- d_6 mostrando las señales*
 74 *correspondientes al compuesto.*
 75

76 IV.3.3 [Pt(L1)(Cl)]



77

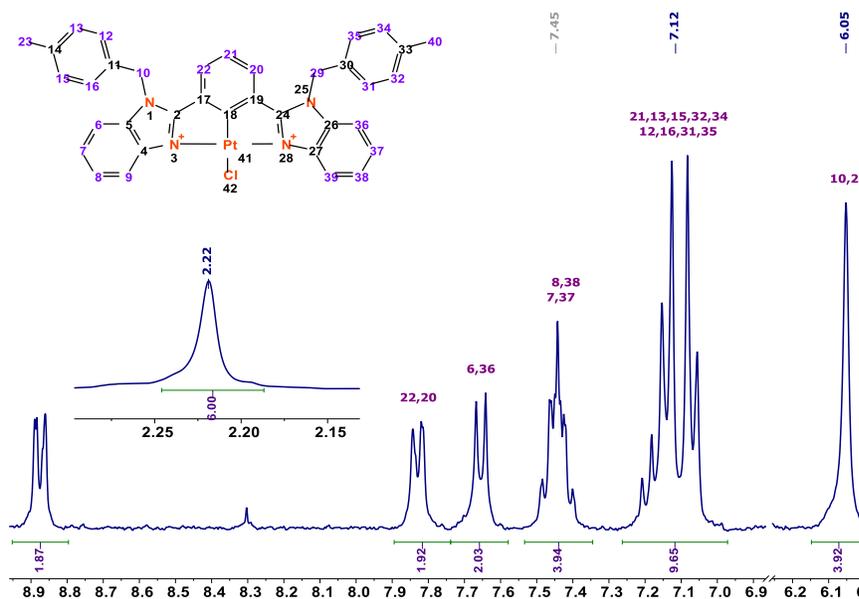
78 En un tubo de vidrio para microondas de 10 mL se mezclaron 50 mg de L1 (0.1 mmol) junto
 79 con 44 mg de K_2PtCl_4 (0.1 mmol) en 6 mL de ácido acético glacial. La reacción se realizó en
 80 dos intervalos de 40 min a 120°C y 200 MW. La disolución resultante se enfrió a temperatura
 81 ambiente y el sólido amarillo se filtró al vacío, fue lavado con una mezcla acuosa de etanol y
 82 se secó al vacío. El sólido fue cristalizado mediante una difusión de cloroformo en una
 83 disolución saturada de DMSO con el complejo.

84 Rendimiento:80%

- 85 • ^1H -RMN (300 MHz, 25°C , DMSO- d_6): δ (ppm) 8.87 (d, $J = 9.02$, 2H), 7.82 (dz, $J = 7.38$
 86 Hz, 2H), 7.65 (d, $J = 7.87$, 2H), 7.52-7.37 (m, 4H), 7.22-7.00 (m, 10H), 6.05 (s, 4H), 2.22
 87 (s, 6H).

- 88 • ^{13}C -RMN (75 MHz, 25°C, DMSO- d_6): δ (ppm) 152.92, 143.13, 137.20, 136.37, 134.20,
 89 131.27, 130.64, 130.39, 129.86, 129.76, 126.64, 123.34, 122.78, 119.83, 111.73, 47.75,
 90 21.04.
 91 • IR-ATR (cm^{-1}): $\nu = 3040$ (f), 2920 (f), 2854 (f), 1440 (m), 1393 (m), 806 (m), 742 (s), 702
 92 (m).
 93 • DART(+) MS: m/z : 749 $[[\text{Pt}(\text{L1})\text{Cl}] + \text{H}]^+$.
 94 • Elem. Anal. Calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{29}\text{ClN}_4$ (748): C, 57.79; H, 3.91; N, 7.49;
 95 Encontrado: C, 58.13 H,4.5, N, 7.37

96

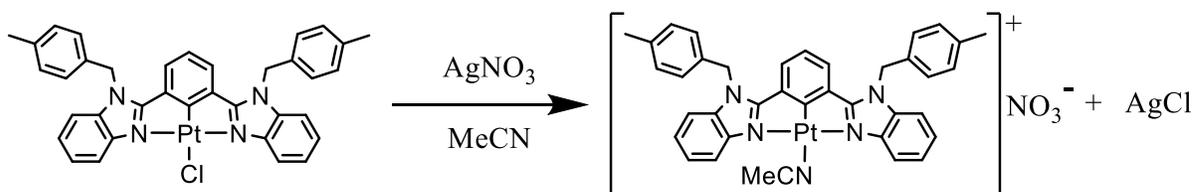


97

98 *Figura 21. Porción del Espectro de ^1H -RMN del compuesto $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{Cl})]$ en DMSO- d_6 mostrando las señales*
 99 *correspondientes al cloro complejo.*

100 IV.3.4 $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{MeCN})]\text{NO}_3$

101



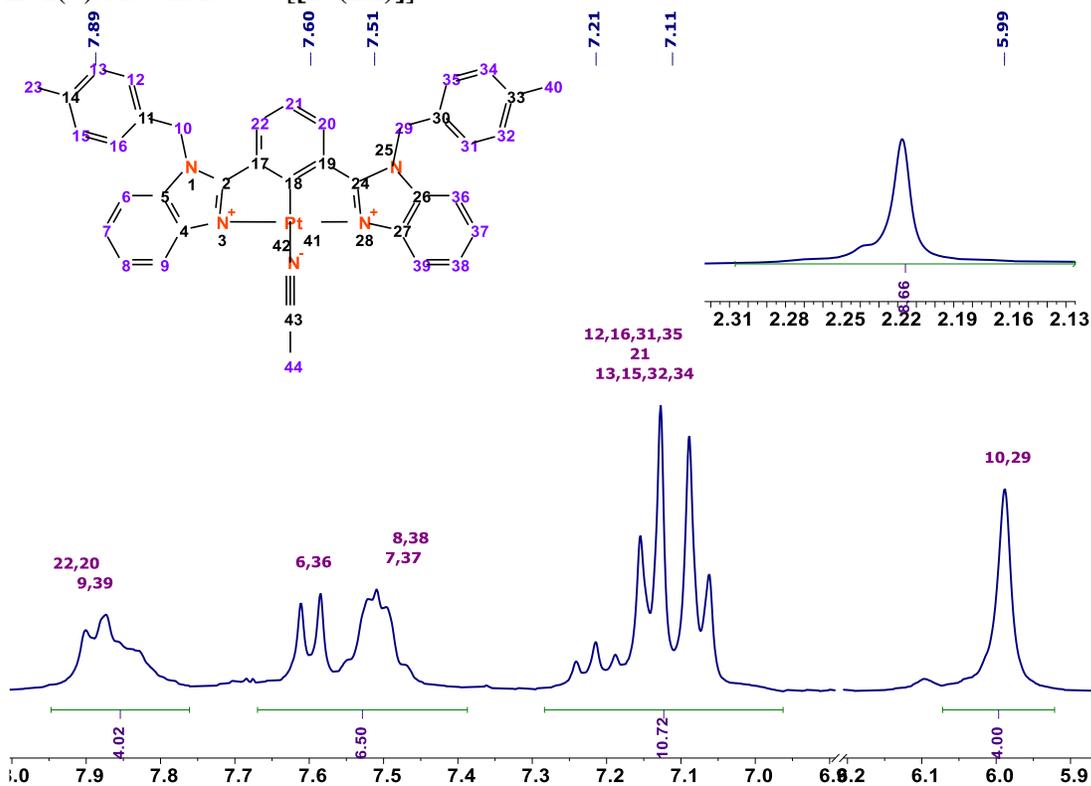
102

103 En un tubo para microondas de 10 mL se disolvieron en 6 mL de acetonitrilo 100 mg de
 104 $[\text{Pt}(\text{L1})(\text{Cl})]$ (0.13 mmol) y 25 mg de AgNO_3 (0.16 mmol). La mezcla se dejó reaccionar
 105 durante 20 minutos a 80°C con una potencia de 200 MW. La disolución resultante se filtró

106 sobre celita y la disolución resultante se dejó evaporar a temperatura ambiente, generando
 107 cristales amarillos.

108 Rendimiento: 98%

- 109 • **¹H-RMN** (300 MHz, 25°C, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 7.89 (m, 4H), 7.60 (d, *J* = 9.05 Hz, 2H),
 110 7.51 (m, 4H), 7.21 (t, *J* = 8.41 Hz, 2H), 7.11 (dd, *J* = 11.34 Hz, *J* = 8.0 Hz, 4H), 5.99 (s,
 111 4H), 2.21 (s, 6H).
- 112 • **IR-ATR** (cm⁻¹): ν = 3408 (m), 2923 (m), 2843 (m), 1519 (f), 1442 (f), 1338(f), 1286 (f),
 113 743 (f).
- 114 • **ESI(+)** MS: m/z: 753 [[Pt(L1)]]⁺.



115
 116 *Figura 22. Porción del Espectro de ¹H-RMN del compuesto [Pt(L1)(1MeCN)]NO₃ en DMSO-*d*₆ mostrando*
 117 *las señales correspondientes del complejo catiónico.*
 118

119 IV.4 Estudio teórico del complejo [PtL1(MeCN)]NO₃

120 Los cálculos fueron realizados ocupando el programa Gaussian09W con el funcional
 121 CAM-B3LYP y la base 6-311g+(d,p) para los átomos C,H y N y una base de potencial efectivo
 122 de *core* LANL2TZ con polarización f para el átomo de platino, el disolvente fue modelado
 123 usando el modelo CPCM ocupando el acetonitrilo como disolvente.

124 La optimización del estado de menor energía se realizó utilizando como punto de partida la
 125 estructura obtenida por difracción de rayos X del complejo [Pt(L1)(MeCN)] y el mínimo local
 126 fue identificado mediante la ausencia de frecuencias imaginarias. Para el cálculo de las fuerzas
 127 del oscilador y la energía de las transiciones se utilizó la estructura optimizada usando el
 128 método TD-DFT con la redisolución de las primeras 80 transiciones singulete. El análisis de
 129 composición orbital se realizó mediante un cálculo de energía ocupando los parámetros
 130 pop=full iop(3/33=1, 3/36=-1) más las condiciones anteriormente descritas, los resultados
 131 fueron extraídos con GaussSum.

132 La densidad electrónica de los fragmentos L1, Pt y MeCN en el estado basal y en los estados
 133 excitados fue calculado mediante una suma ponderada de los porcentajes de densidad de cada
 134 fragmento de los orbitales contribuyentes a dicho estado, dicha función se observa en la
 135 ecuación 2

$$136 \quad \rho_O(\%_F) = \sum_1^i \frac{\% \rho_i}{100} (\% \rho_{Fi}) \quad (2)$$

137 Donde:

138 $\rho_O(\%_F)$ es la densidad electrónica del orbital total que se encuentra en el fragmento F.

139 $\% \rho_i$ es el porcentaje de contribución del orbital i-esimo al orbital total.

140 $\% \rho_{Fi}$ es el porcentaje de contribución de densidad electrónica del fragmento F al orbital i-
 141 ésimo

142 Las transferencias de carga fueron calculadas restando los porcentajes de densidad de L1, Pt y
 143 MeCN presentes en el estado excitado y en estado base mediante la ecuación 3.

$$144 \quad CT_F = \% \rho_{Ff} - \% \rho_{Fi} \quad (3)$$

145 Donde:

146 CT_F es la transferencia de carga en el fragmento F.

147 $\% \rho_{Ff}$ es el porcentaje de densidad electrónica del fragmento F en el estado final.

148 $\% \rho_{Fi}$ es el porcentaje de densidad electrónica del fragmento F en el estado inicial.

149

150

V. Resultados y discusión

V.1 Difracción de rayos X de monocristal

Los detalles cristalográficos completos se encuentran en la sección VII.1

V.1.1 L0

El cristal presenta un sistema monoclinico con un grupo espacial $P2_1/c$. La unidad asimétrica del cristal de L0 contiene una molécula de 1,3-bis(1H-benzimidazol-2-il)benceno y dos moléculas de metanol [$C_{20}H_{14}N_4(CH_3OH)_2$], el ángulo de torsión entre los anillos benzimidazol es de 23.45° . Desde el punto de vista supramolecular la estructura de L0 presenta enlaces de hidrógeno intermoleculares N–H \cdots N entre los nitrógenos saturados e insaturados del fragmento benzimidazol, enlaces de hidrógeno N–H \cdots O con entre estos mismos nitrógenos y las moléculas de disolvente e interacciones tipo O–H \cdots O entre moléculas de metanol. Los parámetros de los enlaces de hidrógeno se muestran en la Tabla 9. Finalmente se observa una interacción π entre los anillos de imidazol con una distancia entre centroides de 3.633 Å y un ángulo de 14.35° , la distancia entre planos es de 3.51 Å (Figura 23).

Tabla 9. Enlaces de hidrógeno dentro del cristal del compuesto L0.

D-H \cdots A	d(D-H) (Å)	d(D \cdots A) (Å)	d(H \cdots A) (Å)	<(DHA) (°)
N2-H2B \cdots N1	0.87	2.863	2.028	159.3
N4-H4A \cdots O2	0.87	2.735	1.869	171.86
O2-H2 \cdots O1	0.85	2.667	1.824	171.66
O1-H1 \cdots N3	0.84	2.797	1.964	169.29

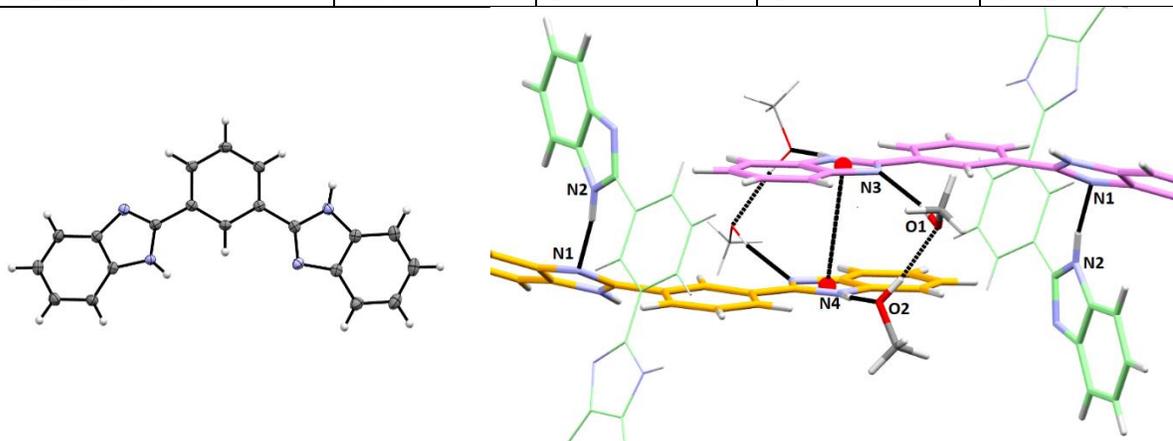
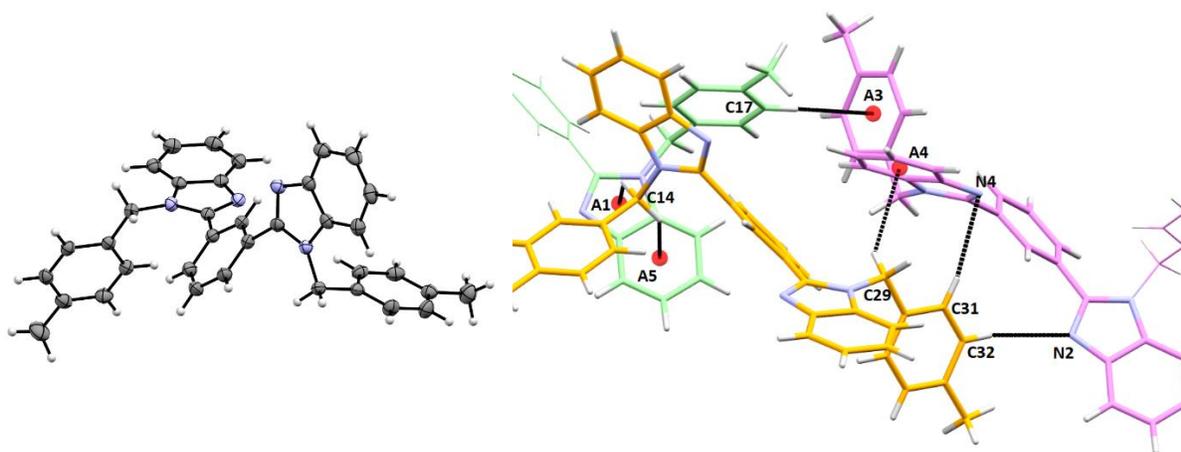


Figura 23 Estructura del complejo (izquierda) e interacciones intermoleculares (derecha) en la molécula L0.

20 **V.1.2 L1**

21 El complejo L1 presenta un sistema cristalino ortorrómbico con un grupo espacial
 22 $P2_12_12_1$. Dicha estructura consiste en un fragmento neutral de
 23 1,3-bis(1-(4-(metil)bencil)-benzimidazol-2-il)benceno [$C_{36}H_{30}N_4$], el ángulo de torsión entre
 24 los planos de benzimidazol es de 76.18° . A nivel supramolecular la estructura presenta
 25 interacciones del tipo $C-H\cdots\pi$ entre los metilenos y los anillos de benzimidazol, y entre los
 26 fragmentos xileno, los parámetros de dichas interacciones son mostrados en la Tabla 10. El
 27 hecho que las interacciones $CH\rightarrow\pi$ cobren relevancia para la estabilidad de la red cristalina es
 28 debido a la libre rotación de los benzimidazoles y xilenos que dificulta el apilamiento π , y al
 29 mismo tiempo, la sustitución del hidrógeno enlazado al nitrógeno del benzimidazol por el
 30 grupo xileno evita la formación de buenos grupos donadores H lo que desfavorece la formación
 31 de enlaces de hidrógeno.



32

33 *Figura 24. Estructura del complejo (izquierda) e interacciones π -CH en el cristal de L. (derecha)*

34

35

Tabla 10. Parámetros de los enlaces de halógeno en el compuesto L1.

D-H \cdots A	d(D-H) (Å)	d(D \cdots A) (Å)	d(H \cdots A) (Å)	\angle (DHA) ($^\circ$)	Tipo
C14-H14B \cdots A1	0.99	3.64	2.909	131.3	CH- π
C14-H14A \cdots A5	0.99	3.674	2.992	127.04	CH- π
C17-H17 \cdots A3	0.95	3.602	2.741	151.12	CH- π
C29-H29B \cdots A4	0.099	3.431	2.753	126.14	CH- π
C31-H31 \cdots N4	0.95	3.654	2.719	168	Enlace-H
C32-H32 \cdots N2	0.95	3.643	2.713	166.5	Enlace-H

36 A1 y A2 son los centroides del benceno del benzimidazol y del xileno respectivamente.

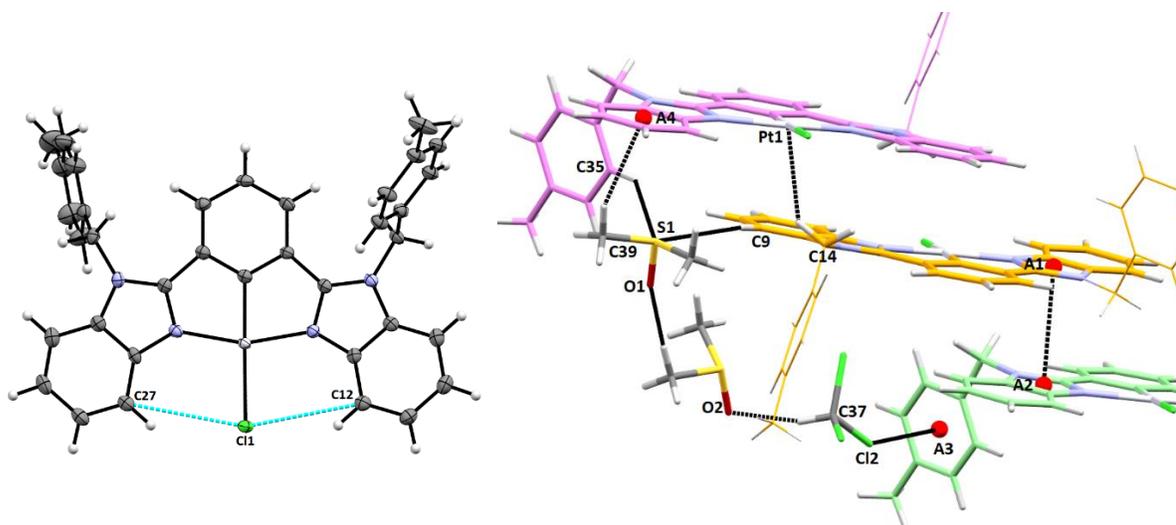
37 **V.1.3 [Pt(L1)(Cl)]**

38 El compuesto presenta un sistema cristalino triclinico y un grupo espacial P-1, el
 39 sistema presenta un ángulo de torsión entre los planos de benzimidazol de 5.34°. Dicho sistema
 40 presenta enlaces de halógeno con la molécula del tipo $\text{C-Cl}_{\text{HCl}_3}\text{-C}_{\text{xii}}$, enlaces de hidrógeno entre
 41 disolventes $\text{CH}_{\text{HCl}_3}\text{-ODMSO}$ $\text{CH}_{\text{DMSO}}\text{-ODMSO}$ y enlaces de hidrógeno intramoleculares débiles
 42 del tipo $\text{CH}_{\text{Ar}}\text{-Cl}$, los parámetros de dichas interacciones son enlistados en la Tabla 11. A
 43 diferencia del compuesto L1, la formación del complejo organometálico genera que los
 44 benzimidazoles mantengan su planaridad y rigidez alrededor del centro metálico, lo que
 45 favorece la presencia de interacciones π , como se puede observar en la Figura 25. La distancia
 46 interplanar entre los planos generados por el fragmento central que rodea al átomo de platino
 47 es de 3.383 Å y la distancia entre centroides de 3.415 Å con un ángulo de 10.65°.

48 *Tabla 11. Distancia y ángulos en las interacciones C-H... π en el compuesto [Pt(L1)(Cl)].*

D-H...A	d(D-H) (Å)	d(D...A) (Å)	d(H...A) (Å)	<(DHA) (°)	Tipo
C39-H39A...A4	0.98	3.656	2.812	144.65	CH- π
C35-H35...S1	0.95	3.762	2.966	142.3	Enlace-H
C9-H9...S1	0.95	3.989	3.096	157.3	Enlace-H
C14-H14B...Pt1	0.99	3.599	2.8479	133.2	CH-Pt
C41-H41B...O1	0.98	3.121	2.142	176.9	Enlace-H
C37-H37...O2	1.001	3.015	2.069	156.9	Enlace-H
C37-Cl3...A3	1.752	4.8	3.259	145.01	Enlace-Cl
C12-H12...Cl1	0.95	3.518	2.745	138.97	Enlace-H
C27-H27...Cl1	0.95	3.503	2.742	137.64	Enlace-H

49

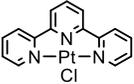
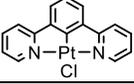
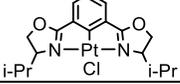
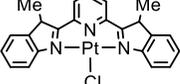
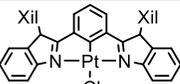


50 *Figura 25. Estructura química del complejo [Pt(L1)Cl](izquierda) y sus interacciones π en la red*
 51 *cristalina.(derecha)*

52

53 Un aspecto para tener en cuenta es la comparación de las distancias y ángulos alrededor
 54 del átomo de platino (Tabla 12) con los mismos parámetros encontrados en otros compuestos
 55 similares.

56 *Tabla 12. Comparación de los parámetros alrededor del platino en compuestos NEN de platino. E=C o N*

Molécula	d(Pt-E) ^a (Å)	d(Pt-N _{Cis}) (Å)	d(Pt-Cl) (Å)	(N _{Cis} -Pt-E) (°)	Ref.
	1.946(5)	2.028(5)	2.308(13)	81.103(9)	[101]
	1.907(8)	2.037(6)	2.417(2)	80.1(3)	[102]
	1.928(10)	2.034(10)	2.379(3)	80(1)	[103]
	1.962(13)	2.011(12)	2.293(5)	80.4(5)	[104]
	1.934(2)	2.025(2)	2.4053(6)	80.00(9)	-

57 ^a E= C o N en el anillo central.

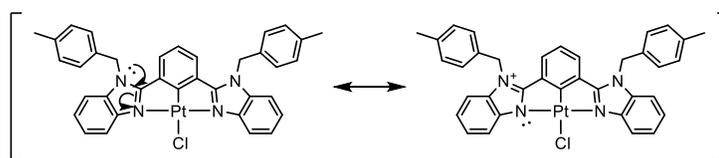
58 Se observa que respecto a sus análogos NNN, la distancia Pt-C en el complejo
 59 [Pt(L1)(Cl)] es entre 0.012 Å y 0.028 Å más corto que la distancia Pt-N, mientras que la
 60 distancia Pt-Cl es 0.1 Å y 0.1123 Å más larga, ambas observaciones pueden ser explicadas
 61 mediante la influencia *trans* que presenta el átomo de carbono. Dicha influencia hace más lábil
 62 al cloro para reacciones de sustitución, lo cual debería repercutir en la disminución de los
 63 tiempos de reacción y la energía de los posteriores enlaces formados.

64 La distancia Pt-N_{cis} en el complejo [Pt(L1)(Cl)] (2.025 Å) es menor que la encontrada
 65 en sus análogos NCN (2.034–2.037 Å) pero se acerca más al valor de una terpiridina (2.028 Å)
 66 que de su análogo NNN de benzimidazol (2.011 Å) (Tabla 12 entrada 1). Estos valores sugieren
 67 que la interacción de los benzimidazoles con el centro metálico es más fuerte que en la
 68 terpiridina correspondiente sea organometálica o no; sin embargo, la disminución en la
 69 longitud del enlace Pt-C provoca un aumento en la tensión angular del centro metálico, lo que
 70 conlleva a una elongación del enlace Pt-N, lo que explicaría la diferencia de longitudes de
 71 enlace respecto al complejo NNN de benzimidazol, pero la conservación del ángulo N-Pt-E.

72

73 V.2 Resonancia Magnética Nuclear

74 La asignación inicial de las señales fue realizada ocupando la información obtenida de
 75 síntesis anteriores del mismo ligante L0 y L1[105], dichas asignaciones son mostradas en la
 76 sección de resultados experimentales (Sección IV.1) sin embargo es importante recalcar los
 77 cambios más significativos en cada reacción (Figura 28). El espectro de L0 tiene como
 78 característica principal la señal del hidrógeno perteneciente al NH del benzimidazol que se
 79 encuentra a 13.17 ppm, la cual al interactuar con el medio polar y debido a la libre rotación
 80 presentan un ensanchamiento, al realizar la N-Alquilacion con bromuro de *p*-xileno dicha señal
 81 desaparece y al mismo tiempo las señales de los hidrógenos CH₂ y CH₃ del xileno aparecen en
 82 5.51 ppm y 2.17 ppm, respectivamente. Al realizar la metalación con platino se observa que la
 83 señal perteneciente al hidrógeno del benceno central desaparece, lo cual da evidencia de la
 84 formación del complejo organometálico. Además de esto se observa que la señal de los
 85 hidrógenos que apuntan directamente al átomo de cloro sufren un desplazamiento de 1.18 ppm
 86 a campo bajo, lo cual indica una desprotección de dichos hidrógenos y da evidencia hacia la
 87 hipótesis de la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular expuesta en la sección
 88 V.1.3. Finalmente los átomos de hidrógenos pertenecientes al CH₂ también sufren un
 89 desplazamiento hacia campo bajo de 0.41 ppm, lo cual se propone que puede deberse a un
 90 efecto de resonancia provocado por la coordinación del átomo de platino (Figura 27).



91
 92 *Figura 26. Formas canónicas los dos nitrógenos del fragmento imidazol.*
 93

94 En el complejo activado con acetonitrilo el cambio más notable es en el desplazamiento
 95 de 1.1 ppm de los hidrógenos que estaban interactuando con el cloro, cuyas señales aparecen
 96 nuevamente a estar en 7.7 ppm aproximadamente.

97

98

99

100

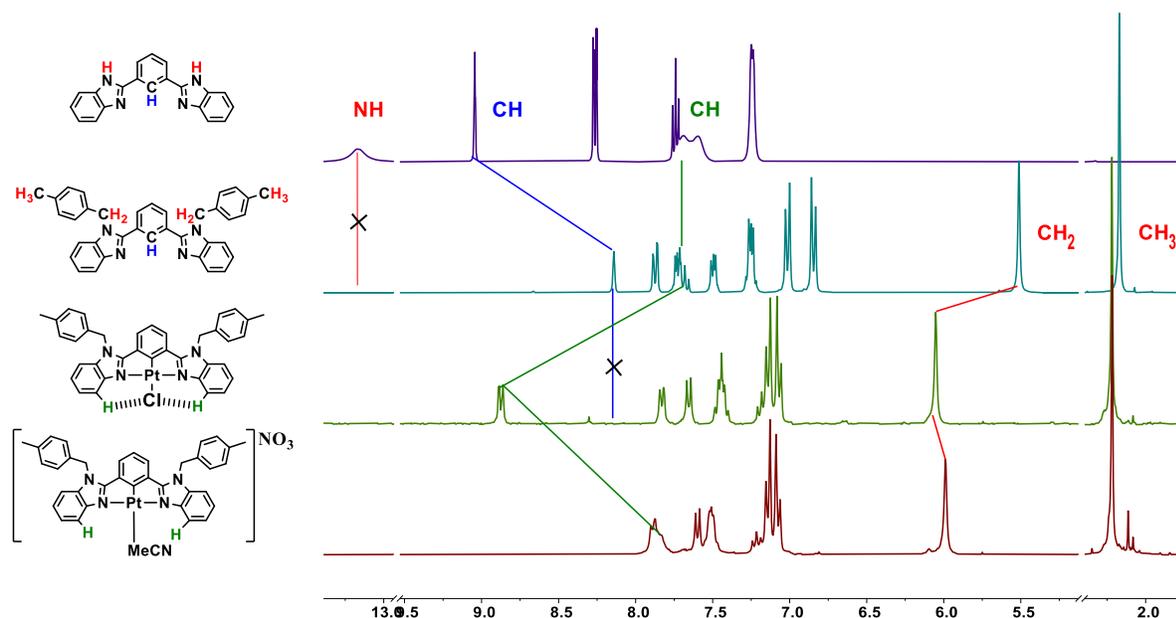


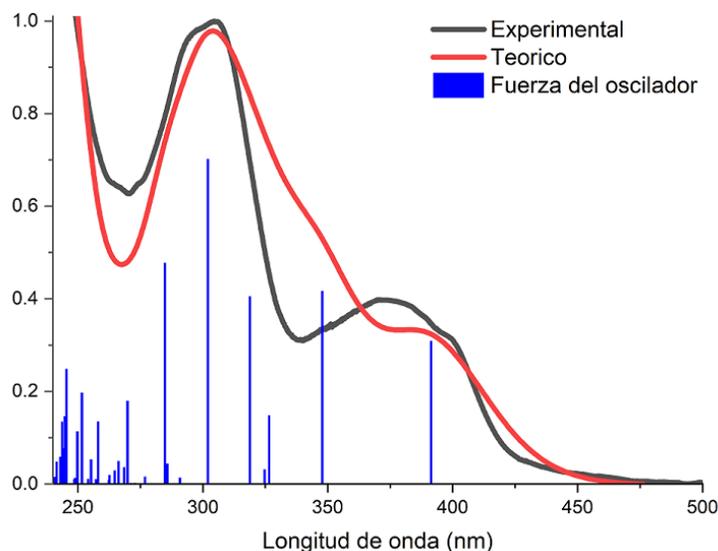
Figura 27. Comparación de los espectros de ^1H -RMN (400MHz, DMSO-d_6) de los compuestos sintetizados.

101

102

103 V.3 Estudio teórico del complejo $[\text{PtL1}(\text{MeCN})]\text{NO}_3$

104 Con la finalidad de determinar la naturaleza de las transiciones presentes en dicho
105 compuesto, se realizó un estudio teórico de dicho compuesto. El primer paso del estudio teórico
106 fue comparar el espectro de absorción teórico y experimental del complejo para observar si los
107 resultados generados eran confiables, como se observa en la Figura 29 dichos espectros
108 coinciden en intensidad y longitud de onda dando variaciones máximas de 7nm respecto a los
109 máximos experimentales. Posteriormente se procedió a analizar las transiciones
110 vibroelectrónicas con una fuerza del oscilador mayor a 0.2 (Tabla 13), como se observa en la
111 Figura 32 (diagrama de densidad de estados) las transiciones mayores a 300 nm son entre los
112 estados H-1, HOMO con contribución del platino, a los orbitales LUMO y L+1 concentrada
113 en el ligante, mientras que las absorciones a menores longitudes de onda son debidas a
114 transferencias de densidad dentro del ligante L1 con muy poca contribución del platino y el
115 ligante MeCN. En la imagen 30 se muestra una superficie de potencial electrostático de la
116 transferencia MLCT a 394 nm en la cual el fragmento del benzimidazol y el benceno central
117 reciben casi la totalidad de la densidad electrónica transferida mientras que el platino pierde
118 aproximadamente un 9% de su densidad respecto al estado basal.



119

120

121

122

Figura 28. Espectro de absorción experimental y teórico al nivel de teoría CAM-B3LYP/6-311g-(d,p), LANL2TZ(f).

123

Tabla 13. Transiciones electrónicas relevantes en el complejo $[Pt(L1)(MeCN)]$

Longitud de onda (nm)	Fuerza del oscilador	Transiciones ^a	Estado Inicial			Diferencia de densidad entre E_f-E_i			Transición
			L1	Pt	MeCN	L1	Pt	MeCN	
394	0.23	HOMO→LUMO (82%)	85	15	0	9	-9	1	MLCT
		HOMO→L+1 (10%)							
340	0.31	H-1→LUMO (57%)	81	19	1	8	-9	0	MLCT
		HOMO→L+1 (23%)							
303	0.3	H-1→LUMO (26%)	81	19	1	2	-2	0	b
		HOMO→LUMO (10%)							
		HOMO→L+1 (50%)							
282	0.52	H-9→LUMO (12%)	93	7	0	1	-1	1	b
		H-2→LUMO (48%)							
261	0.35	H-2→LUMO (11%)	95	5	0	-2	1	1	b
		H-2→L+1 (49%)							
197	0.26	HOMO→L+11 (15%)	84	15	0	-2	2	0	b
194	0.26	H-7→L+1 (13%)	87	11	0	1	-1	0	b
		HOMO→L+4 (25%)							
184	0.59	H-8→L+4 (13%)	99	1	0	0	0	0	b

124

125

^a Únicamente se muestran las transiciones que contribuyen más del 10%, para posteriores cálculos se utilizan todas las transiciones.

126

^b Sin transferencia de carga, la diferencia de densidad electrónica es muy pequeña entre diferentes fragmentos.

127

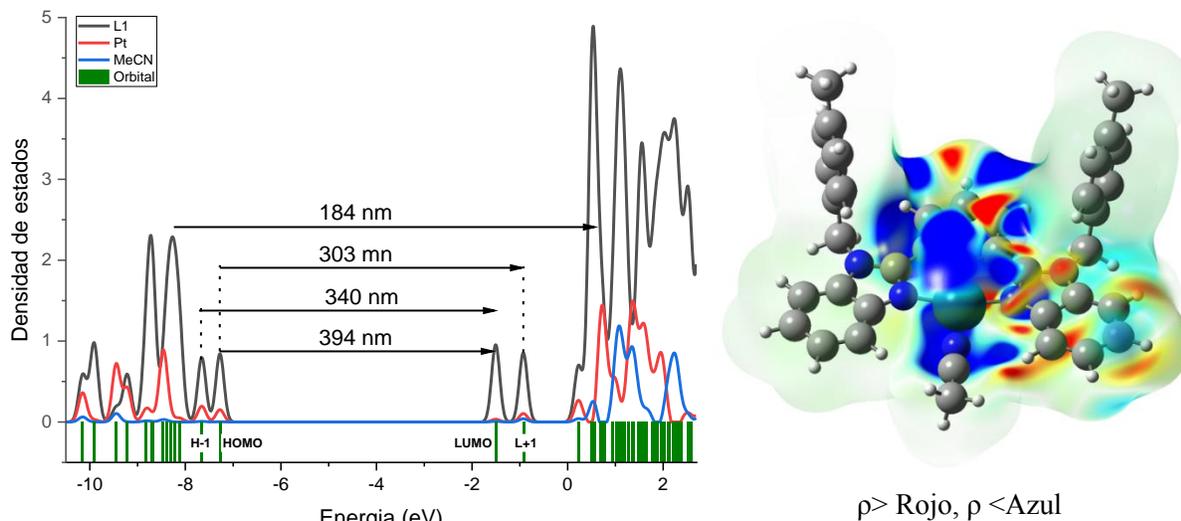


Figura 29. Diagrama de densidad de estados en el complejo $[Pt(L1)(MeCN)]$ con las contribuciones de los fragmentos L1, Pt y MeCN a cada orbital (Izquierda) y superficie de energía potencial de la transferencia de carga a 394 nm. (derecha).

128 V.4 Reconocimiento molecular de tioles biológicos

129 V.4.1 Estabilidad del complejo en medios acuosos

130 Los primeros estudios en disolución del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ fueron
 131 experimentos de estabilidad química y linealidad en diferentes disolventes y medios acuosos
 132 por técnicas espectroscópicas.

133 En general, el complejo catiónico $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ es insoluble en agua pura,
 134 alcoholes y THF en concentraciones micromolares, sin embargo, las disoluciones stock del
 135 complejo en mezclas acuosas conteniendo 30% de CH_3CN son estables en concentraciones
 136 micromolares ($< 10^{-4}$ M) y cumplen bien la ley de Lambert-Beer hasta 12 μM . Por lo tanto,
 137 estas condiciones fueron utilizadas para los siguientes estudios.

138 La Figura 31 muestra los espectros de absorción y emisión de una disolución
 139 H_2O/CH_3CN (v/v, 7/3) del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ (10 mM) a pH= 7.4 (10 mM
 140 MOPS). La banda intensa alrededor de 306 nm es asignada usualmente a transiciones
 141 intraligante (IL) del tipo $\pi - \pi^*$ y la banda de menor energía alrededor de 360 nm es asignada,
 142 en estudios previos, a una combinación de transiciones IL con transferencia de carga metal-
 143 ligante (MLCT) involucrando transiciones del tipo $[d\pi(Pt) - \pi^*(NCN)]$. [106][93] La emisión
 144 intensa de color verde a temperatura ambiente en el intervalo de 500 a 600 nm, es
 145 principalmente originada por la transferencia de carga metal-ligante (MLCT) del estado triplete
 146 excitado $[d\pi(Pt(II)) - \pi^*(NCN)]$. [106]

147 Es conocido que en complejos metálicos d^8 tipo pinza con geometría cuadrada plana,
148 la presencia de un sustituyente aniónico donador σ como el anillo de fenilo mejora
149 considerablemente la emisión y rendimientos cuánticos en comparación con los ligantes
150 neutros como terpiridinas, porque hace que el estado excitado de emisión (MLCT) sea más
151 bajo en energía comparado con los estados excitados no radiativos del tipo ^3d-d , lo cual reduce
152 la pérdida de energía a través de procesos no fotoluminiscentes.

153 La Figura 31 muestra los máximos de emisión a 500 y 535 nm ($\lambda_{ex}=380$ nm) en función
154 del tiempo y prácticamente la intensidad de emisión permanece constante hasta los 100 min.
155 La Figura 32 muestra los datos de linealidad de la emisión a 535 nm del complejo en un
156 intervalo de concentración de 0 – 12 μ M. Los datos espectroscópicos de la emisión en función
157 del tiempo y el comportamiento lineal observado (Intensidad vs Concentración, $R^2=0.99482$)
158 son evidencia de la estabilidad química del complejo en medios acuosos y en presencia de
159 oxígeno. Adicionalmente, el espectro de absorción no muestra bandas alrededor de 650 nm,
160 asignada a los agregados moleculares inducidos generalmente por interacciones $Pt \cdots Pt$, por lo
161 tanto, se puede deducir que el complejo estudiado se mantiene como una especie monomérica
162 en medios acuosos en el intervalo de concentraciones micromolares, lo cual es particularmente
163 favorable para fenómenos de reconocimiento molecular selectivos.

164

165 **V.4.2 Reconocimiento molecular de tioles**

166 La primera evidencia de la afinidad del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ por ligantes *S*-
167 donadores fue obtenida por un experimento de selectividad relativa a través de mediciones
168 fluorimétricas. Cisteína, homocisteína, glutatión, una serie de aminoácidos de referencia
169 (alanina, arginina, aspartato, fenilalanina, glicina, glutamato, histidina, prolina, serina, tirosina,
170 triptófano, valina) y biotina (Vitamina B₇) fueron adicionados a una disolución acuosa pre-
171 equilibrada y amortiguada (pH= 7.4) del complejo de Pt(II) (10 μ M) hasta una concentración
172 final de 100 μ M y la disminución de la intensidad de emisión en el máximo de 500 nm fue
173 adquirida después de 3.0 min, como se muestra en la Figura 33 en coordenadas de Stern-
174 Volmer.

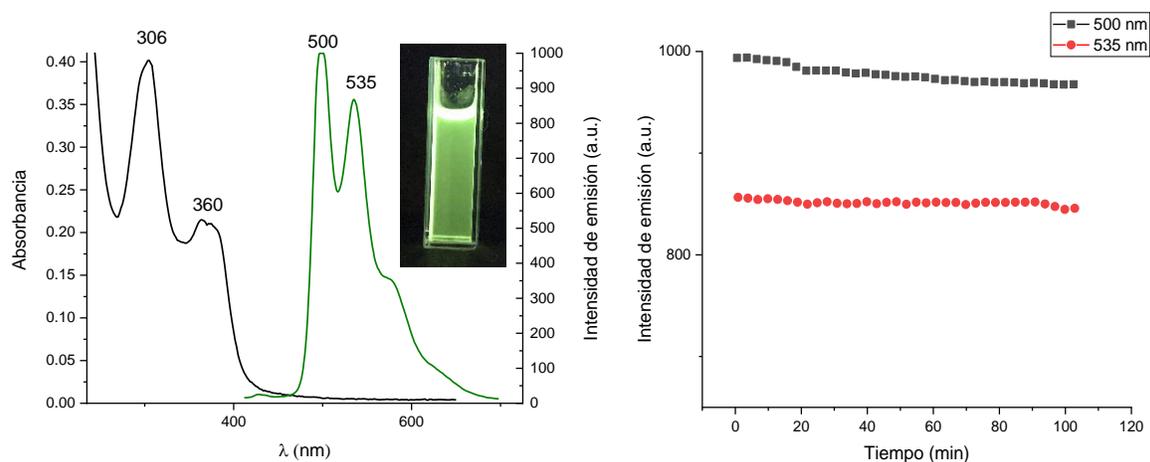


Figura 30. (A) Espectro de absorción y emisión de $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ ($10 \mu M$) en una mezcla $H_2O:MeCN$ (v/v, 7/3) $\lambda_{exc}=380 \text{ nm}$ a $pH=7.4$ MOPS $10mM$. (B) La intensidad de emisión de los máximos 500 y 537 nm en función del tiempo.

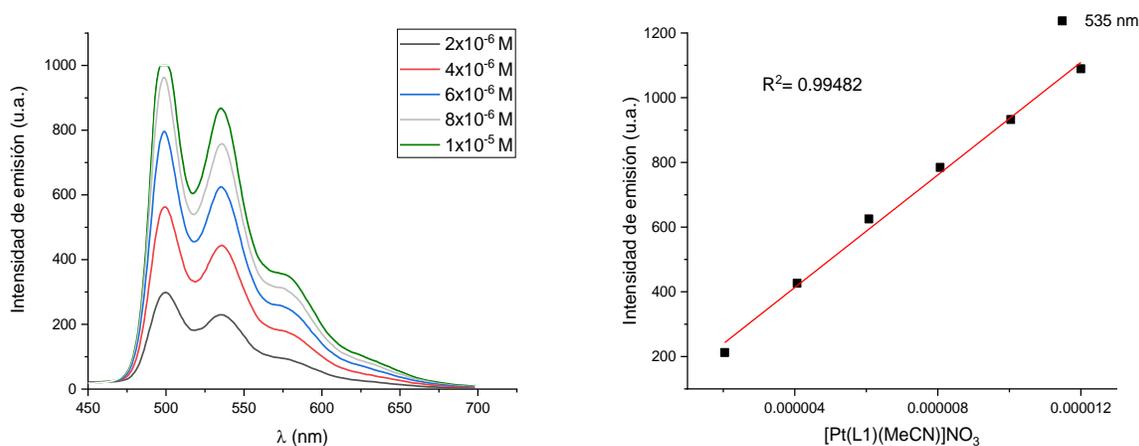
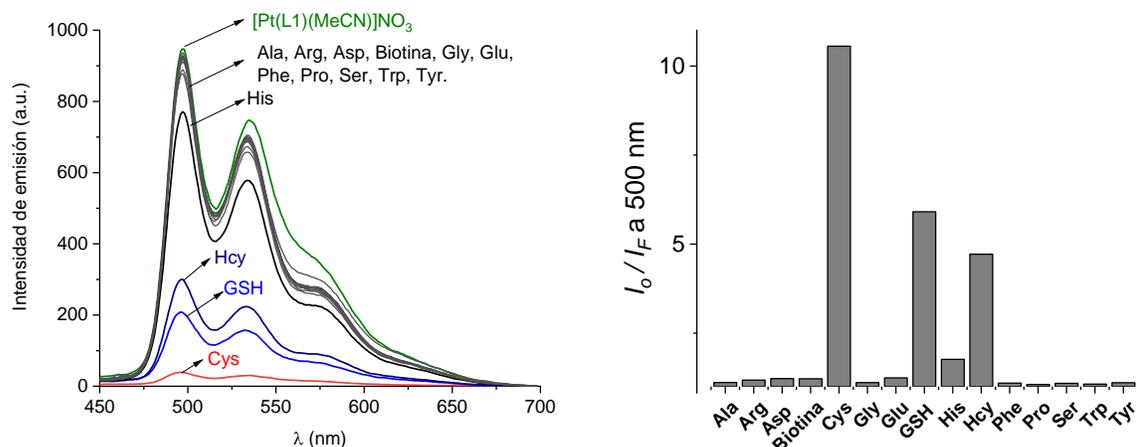


Figura 31. (A) Espectros de emisión del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ a diferentes concentraciones en una mezcla 70:30 $H_2O/MeCN$ $pH=7.4$ MOPS $10mM$ $\lambda_{exc}=380 \text{ nm}$. (B) Intensidad del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ a diferentes concentraciones mostrando un ajuste lineal de los datos.

175 Los aminoácidos no polares/polares (alanina, serina, prolina, valina), aromáticos
 176 (fenilalanina, tirosina, triptófano), aniónicos (aspartato y glutamato), catiónicos (histidina y
 177 arginina) y biotina dieron una respuesta analítica muy débil, suprimiendo la emisión verde de
 178 la disolución alrededor del 5 %. En contraste, la adición de homocisteína y glutatión resultó
 179 en una disminución modesta de la intensidad de emisión, pero significativamente menor a la
 180 observada para cisteína ~ 95%. ($I_o/I_F = 10.55$, I_o = intensidad inicial y I_F = intensidad final). Este
 181 resultado no es inesperado debido a alta energía de disociación del enlace Pt-S. A partir de los
 182 datos experimentales, los analitos con ligantes O/N-donadores como el caso de los aminoácidos

183 producen una respuesta analítica muy débil posiblemente por las altas de energías de
 184 hidratación de estas moléculas.



185 *Figura 32. Cambios de emisión en los espectros de disoluciones acuosas amortiguadas (70:30 H₂O/MeCN*
 186 *pH=7.4 MOPS) del complejo [Pt(L1)(MeCN)]NO₃ (10 μM) como resultado de la adición de tioles*
 187 *biológicos, aminoácidos y biotina.*

185

186 A continuación, se estudió la afinidad del complejo de platino hacia los tioles
 187 biológicos y el modo de unión por titulaciones fluorimétricas y espectrofotométricas. En
 188 general, la adición de los tioles produce una extinción fuerte de la fluorescencia, sin
 189 desplazamientos considerables en los máximos y con una selectividad para la cisteína sobre
 190 glutatión y homocisteína. Los perfiles de las curvas fluorimétricas pueden ser bien ajustados a
 191 un modelo 1:1 usando un tratamiento de mínimos cuadrados no lineales con la ecuación (3),
 192 donde I_F es la intensidad observada, I_H es la intensidad del complejo de Pt libre, ΔI_∞ es el
 193 máximo cambio espectral por la presencia del analito, [G]_T es la concentración total del analito,
 194 y K(1:1) es el valor de la constante de unión. La familia de espectros y los ajustes se muestran
 195 en la Figura 34.

196

$$I_F = I_H + \frac{\Delta I_\infty \left\{ [H]_T + [G]_T + \frac{1}{K(1:1)} - \left[\left([H]_T + [G]_T + \frac{1}{K(1:1)} \right)^2 - 4[H]_T[G]_T \right]^{0.5} \right\}}{2[H]_T} \quad (3)$$

197

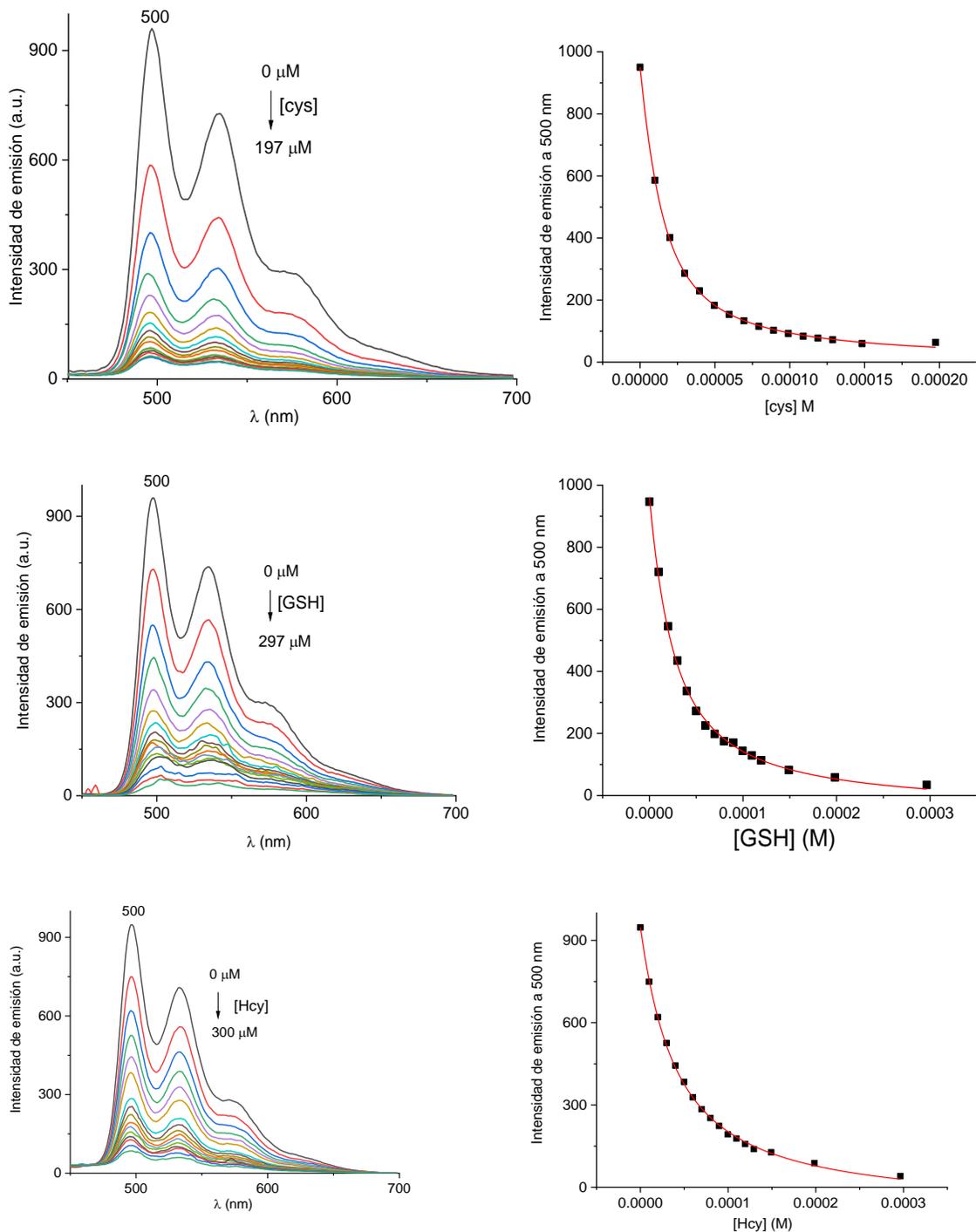


Figura 33. (A) Titulaciones fluorimétricas del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ (10 μM , $\lambda_{ex} = 380$ nm) con cisteína (arriba), glutati3n (intermedio) y homocisteína (abajo) en una mezcla 70:30 $H_2O/MeCN$ pH=7.4 MOPS 10mM. La línea s3lida de los perfiles de titulaci3n corresponde al ajuste para un modelo 1:1 con la ecuaci3n (1).

198

199 Los valores correspondientes de las constantes de asociaci3n estimadas junto con los
 200 parámetros analíticos se muestran en la Tabla 13. La constante de uni3n para cisteína a pH=

201 7.4 fue calculada en $K(1:1) = 100400 \pm 2500 \text{ M}^{-1}$ y es considerablemente mayor que las
 202 estimadas para glutatión y homocisteína. Este valor representa una de las constantes de
 203 asociación más grandes entre las reportadas en la literatura[4,107,108].

204 Por motivos de comparación se estimó la afinidad con histidina, considerando la posible
 205 coordinación del fragmento de benzimidazol al centro metálico de Pt(II). La constante de
 206 unión con histidina ($K(1:1) = 2700 \pm 170 \text{ M}^{-1}$) es dos órdenes de magnitud menor que la
 207 observada para cisteína. Basados en las titulaciones fluorimétricas el orden de afinidad del
 208 complejo por los analitos estudiados es: cisteína > glutatión > homocisteína > histidina > resto
 209 de aminoácidos. En general, para el complejo tipo pinza de platino, se encontró una mayor
 210 afinidad por los analitos con grupos S-donadores comparados con los analitos que tienen grupos
 211 O y N-donadores.

212 La afinidad entre los tioles biológicos estudiados parece ser resultado de factores
 213 electrónicos de disponibilidad del par de electrones en el átomo de azufre y de la acidez del
 214 grupo -SH, debido que existe una dependencia lineal ($R^2 = 0.996$) entre las constantes de
 215 asociación calculadas y las constantes de acidez (pK_a) de los tioles reportadas en la literatura,
 216 como se muestra en la Tabla 15. Entre los tioles estudiados la cisteína tiene el valor de pK_a más
 217 bajo, lo cual se puede deducir que a un pH fisiológico de 7.4, existe una contribución
 218 considerable y mayor de la especie tioleto comparada con glutatión y homocisteína que tienen
 219 valores de pK_a mayores.

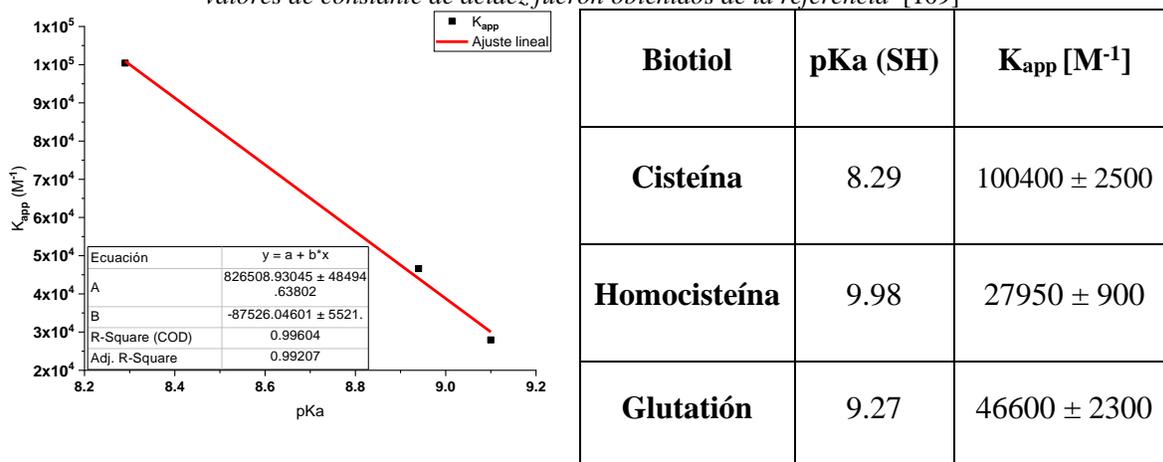
220 Para el caso de cisteína existe una notable dependencia lineal de la intensidad de
 221 fluorescencia en función del analito en el intervalo de concentración 0 – 20 μM ($R^2 = 0.9967$)
 222 con un límite de detección de 0.1 μM . El límite de detección es definido como $\text{LOD} = 3\sigma/s$
 223 donde σ es la desviación estándar del blanco y s es la pendiente de la curva de calibración que
 224 corresponde a la constante de Stern-Volmer ($K_{SV} = 1.21 (\pm 0.04) \times 10^6$).

225 *Tabla 14. Constantes de asociación (M^{-1}) estimadas para tioles biológicos e histidina.*

Analito	$K_{(1:1)}$	I_0/I	[analito]	pH
Cisteína	100400 ± 2500	10.55	$0 - 1.97 \times 10^{-4}$	7.4
Cisteína	8200 ± 490	3.01	$0 - 4.0 \times 10^{-4}$	6.0
Cisteína	7780 ± 710	9.22	$0 - 3.9 \times 10^{-4}$	6.5
Cisteína	16500 ± 900	9.85	$0 - 3.0 \times 10^{-4}$	7.0
Cisteína	55500 ± 1900	7.26	$0 - 2.5 \times 10^{-4}$	8.2
Glutatión	46600 ± 2300	5.90	$0 - 2.9 \times 10^{-4}$	7.4
Homocisteína	27950 ± 900	4.71	$0 - 3.0 \times 10^{-4}$	7.4
Histidina	2700 ± 170	1.76	$0 - 8.6 \times 10^{-4}$	7.4

226
227

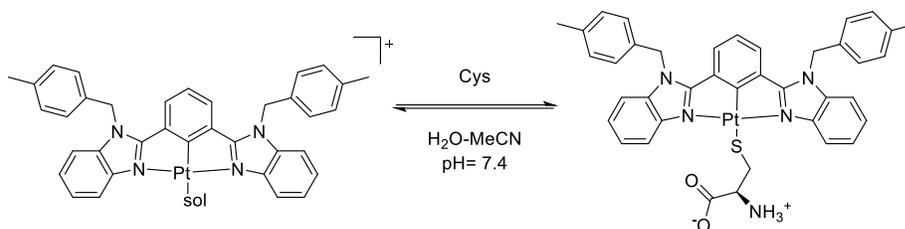
Tabla 15. *pKa* y constantes aparentes de asociación de los tioles biológicos con $[PtL(MeCN)]NO_3$. Los valores de constante de acidez fueron obtenidos de la referencia [109]



Biotiol	pKa (SH)	$K_{app} [M^{-1}]$
Cisteína	8.29	100400 ± 2500
Homocisteína	9.98	27950 ± 900
Glutati3n	9.27	46600 ± 2300

228 Para comprobar el modelo de un3n se realiz3 un an3lisis de la estequiometria en
229 disoluci3n del complejo de Pt con ciste3na a trav3s del m3todo de variaci3n continua. Los
230 gr3ficos de Job a dos longitudes de onda son mostrados en la Figura 36. El cambio m3ximo
231 en la intensidad se encuentra a una fracci3n molar de la ciste3na de 0.5, lo cual confirma un
232 modelo de un3n 1:1.

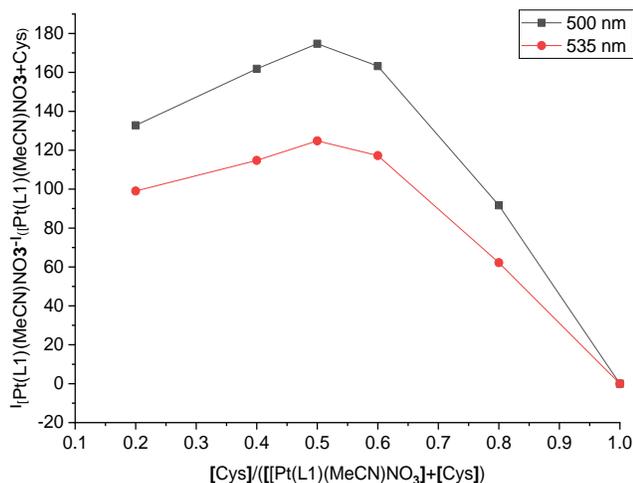
233 La Figura 37 muestra la familia de espectros de absorci3n obtenidos cuando la
234 disoluci3n acuosa del complejo de Pt es titulada con ciste3na. La presencia de un punto
235 isob3stico aproximadamente en 400 nm indica que solo dos especies est3n presentes en el
236 equilibrio (Figura 36). La disminuci3n de la absorbancia ($\Delta A = 0.09$) en el m3ximo de 360 nm
237 en funci3n de adiciones consecutivas de ciste3na (0 – 180 μM) genera una curva que puede ser
238 perfectamente ajustada a un modelo 1:1 con la ecuaci3n (1). La constante de asociaci3n
239 calculado es de $K(1:1) = 71750 \pm 5000$. Los valores de afinidad determinados por dos t3cnicas
240 espectrosc3picas son similares, lo cual soporta un equilibrio 1:1 en disoluci3n entre el complejo
241 de Pt y la ciste3na y hace evidente la fuerte afinidad del complejo por este tiol biol3gico.



242

243

Figura 34. Equilibrio propuesto en disolución para el reconocimiento de cisteína por el quimiosensor de Pt.



244

245

246

247

Figura 35. Análisis de la estequiometría del complejo de platino con cisteína a través de un gráfico de Job, concentración final de los componentes 10 μ M. λ_{ex} = 380 nm en una mezcla 70:30 H₂O/MeCN pH=7.4 MOPS 10mM.

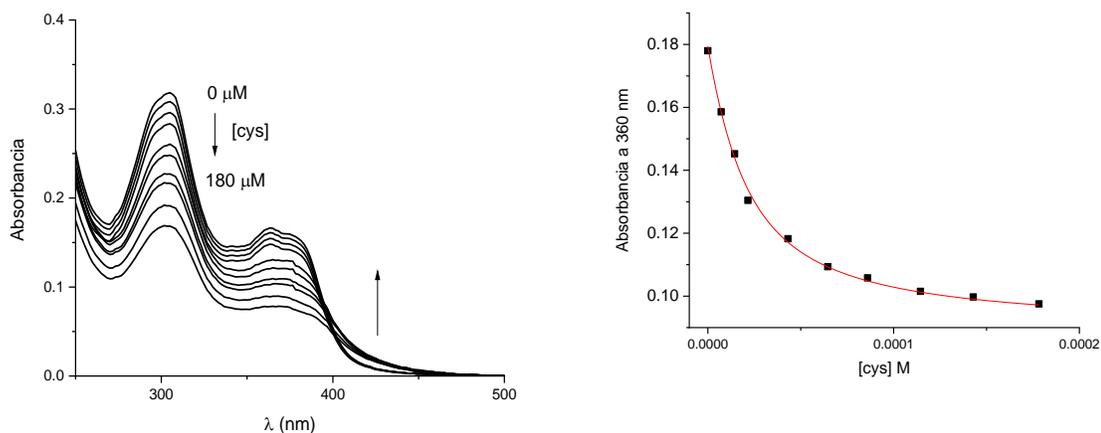


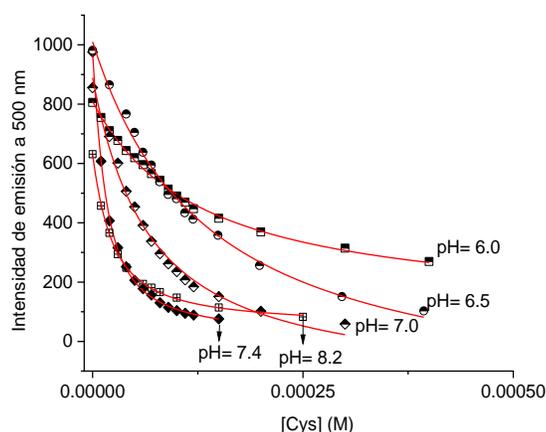
Figura 36. Titulación espectrofotométrica de una disolución acuosa amortiguada (MOPS, 10 mM a pH= 7.4) conteniendo 30% de MeCN del complejo de platino (10 μ M). Las flechas indican la dirección de los cambios espectrales en función de la adición de cisteína. La curva muestra el perfil de absorbancia a 360 nm para concentraciones crecientes de cisteína. La línea sólida fue obtenida por un ajuste de los datos para una modelo 1:1.

248

249 V.4.3 Dependencia del pH

250 En este estudio también se exploró el efecto del pH dentro del intervalo de 6.0 – 8.2
251 sobre la extinción de la fluorescencia y la afinidad de cisteína por el complejo de Pt. En general,
252 se observa una afinidad dependiente del pH, lo cual no es inesperado debido a las propiedades
253 ácido-base de la cisteína.

254 A valores de pH menores a 7.4 se observó una disminución considerable de la afinidad
255 por cisteína, de un orden de magnitud. Los valores de afinidad a diferentes pH se muestran en
256 la Tabla 14 y los perfiles experimentales fluorimétricos ajustados se muestran en la Figura 37.
257 La disminución de la afinidad del complejo de Pt por cisteína puede ser atribuida al incremento
258 del grado de protonación del analito, por otra parte, a pH= 8.2 se observó una disminución de
259 la emisión fluorescente y una disminución de la afinidad, lo cual puede ser resultado de la
260 formación de hidroxocomplejos de platino.



261

262 *Figura 37. Titulaciones fluorimétricas del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ ($10 \mu M$, $\lambda_{ex} = 380 \text{ nm}$) con cisteína*
263 *en una mezcla 70:30 $H_2O/MeCN$ a diferentes valores de pH=7.4 MOPS 10mM. La línea sólida de los perfiles*
264 *de titulación corresponde al ajuste para un modelo 1:1 con la ecuación (1).*

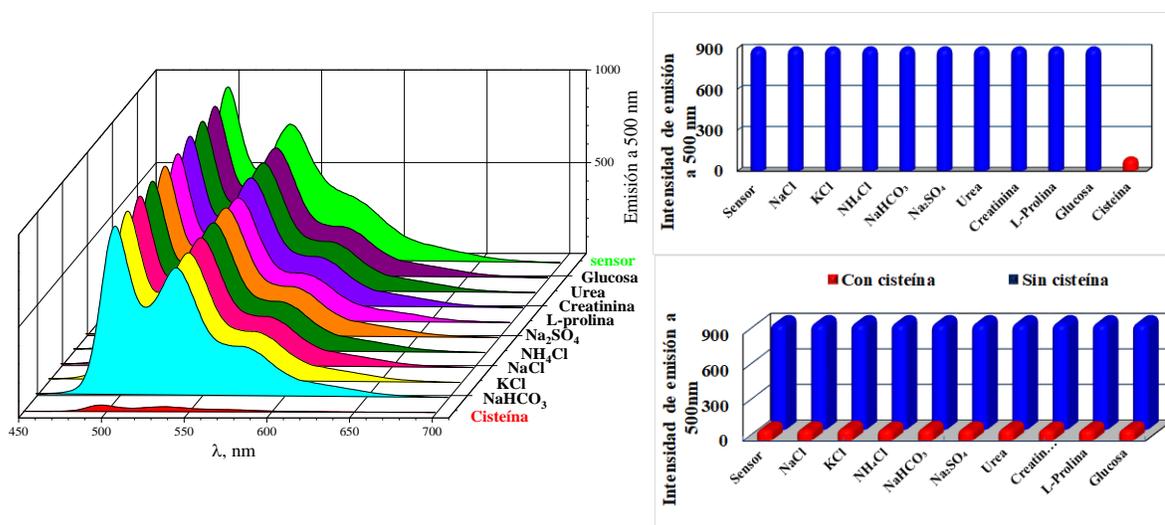
265

266

267 V.4.4 Detección de cisteína en presencia de interferencias

268 Para aplicaciones prácticas, se requiere que los quimiosensores no solo presenten una
269 respuesta óptica eficiente hacia el analito, también es altamente deseado que presenten
270 selectividad en presencia de potenciales interferencias coexistentes en muestras reales.[110]
271 Por lo tanto, se realizó un experimento de selectividad del quimiosensor de Pt hacia cisteína

272 en presencia de interferencias biológicas presentes en el plasma sanguíneo y la orina tales
 273 como: creatinina, L-Prolina, D-glucosa, NaCl, KCl, NH₄Cl, MgCl₂ y NaHCO₃ a pH
 274 fisiológico. Las adiciones de estas interferencias a la disolución acuosa del quimiosensor de
 275 Pt(II) hasta una concentración final de 100 μM producen un cambio insignificante del espectro
 276 de emisión como se muestra en la Figura 398. Dicha Figura también muestra que la respuesta
 277 óptica a 500 nm inducida por cisteína no es afectada por la presencia de las especies de fondo
 278 en el plasma sanguíneo y la orina. Únicamente la cisteína induce una fuerte extinción de la
 279 fluorescencia. Estos descubrimientos son interesantes por que el complejo de Pt puede actuar
 280 como un quimiosensor selectivo en fluidos biológicos con una respuesta eficiente y rápida.



281

282 *Figura 38. Espectros de emisión (Izquierda), intensidades a 500 nm (Derecha) de una disolución acuosa del*
 283 *complejo de Pt (10 μM) en una disolución acuosa conteniendo 30% de MeCN a pH= 7.4 en presencia de*
 284 *interferencias coexistentes en el plasma sanguíneo y orina y respuesta fluorescente del complejo de platino por*
 285 *la presencia de cisteína en presencia de los componentes del plasma sanguíneo.*
 286

VI. Conclusiones

Se logró desarrollar y caracterizar un receptor artificial luminiscente basado en un mecanismo Turn Off con alta afinidad y selectividad hacia tioles biológicos en disoluciones acuosas, en especial con preferencia hacia cisteína ($K= 100400 \pm 2500$) sobre homocisteína ($K= 27950 \pm 900$) y glutatión ($K= 46600 \pm 2300$). Dicho receptor es estable en concentraciones $<20 \mu\text{M}$ en un sistema MeCN/H₂O 30:70. Bajo excitación de 380 nm estas disoluciones acuosas presentan una fuerte emisión verde con máximos en 500 y 535 nm atribuida a las transferencias de carga metal-ligante, dicha afirmación es apoyada mediante cálculos teóricos basados en el espectro de absorción del complejo [Pt(L1)MeCN].

Se determinó que el complejo [Pt(L1)MeCN]NO₃ es funcional en el rango de pH=6 a pH=7.4 y que las constantes de afinidad van aumentando respecto a la disminución de la acidez del medio, además, se comprobó que la selectividad de dicho complejo hacia los tioles biológicos esta linealmente relacionada con el p*K*_a del tiol de dichos analitos, lo que da evidencia hacia la afirmación de que el modo de unión es llevado a cabo mediante el azufre del grupo SH.

Finalmente se observó que la detección de cisteína puede llevarse a cabo con el complejo de [Pt(L1)MeCN]NO₃ con un límite de detección de 0.1 μM incluso en la presencia de especies interferentes coexistentes en el plasma sanguíneo y orina.

En general, estos resultados destacan la utilidad de un nuevo complejo tipo pinza NCN de platino(II), soluble y luminiscente en medios acuosos, para aplicaciones analíticas enfocadas en la detección en tiempo real de cisteína.

23
24
25
26
27
28
29
30
31 .

VII. Perspectivas

Además de los estudios realizados en el presente documento, se planea seguir analizando dicho sistema, en específico se plantean los siguientes objetivos.

- Realizar un estudio del modo de unión entre el complejo $[\text{Pt}(\text{L1})\text{MeCN}]\text{NO}_3$ y los tioles biológicos mediante el uso de técnicas como espectrometría de masas y difracción de rayos X.
- Desarrollar una metodología que permita utilizar dicho sistema para la quimiodetección en muestras reales tanto de plasma sanguíneo como en orina.

1

VIII. Anexos

2 VIII.1 Detalles cristalográficos de la resolución y refinamiento los cristales obtenidos.

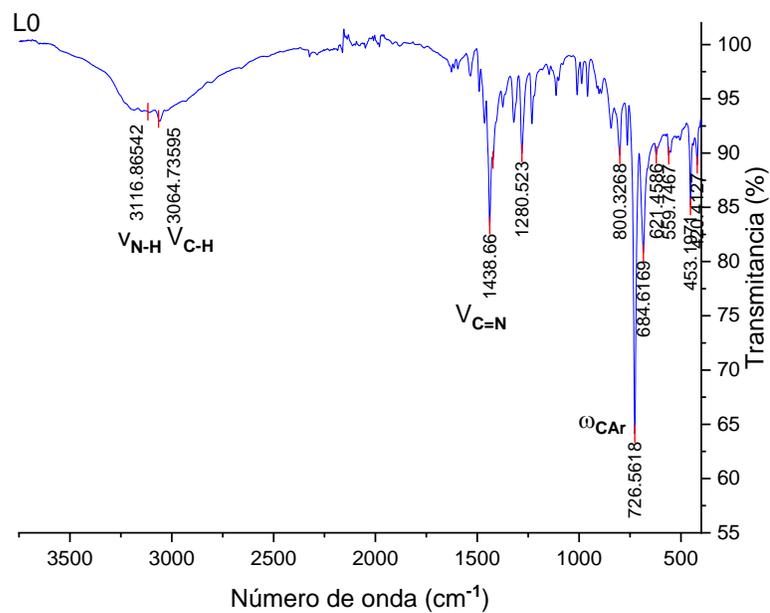
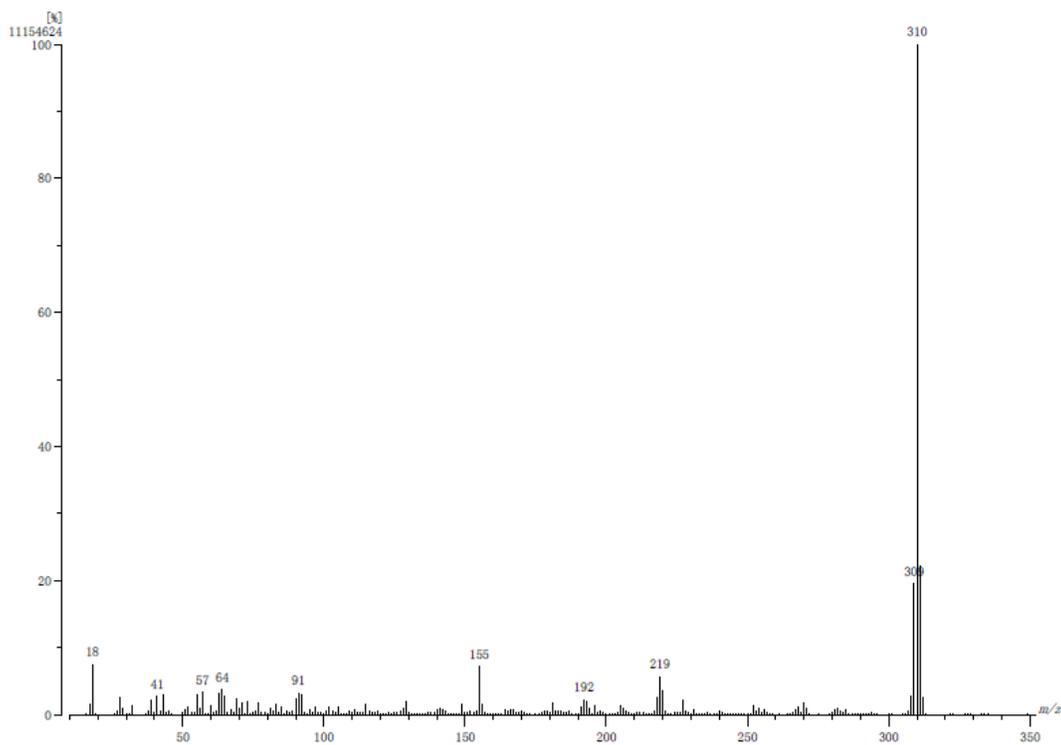
	L0	L1	[Pt(L1)Cl]
Formula empírica	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₂	C ₃₆ H ₃₀ N ₄	C ₄₁ H ₄₂ C ₁₄ N ₄ O ₂ PtS ₂
Peso molecular	374.43	518.64	1023.79
Sistema cristalino	Monoclínico	Ortorrómico	Triclínico
Temperatura (K)	100(2)	100(2)	100(2) K
Radiación [Å]	0.71073	1.54178	0.71073 Å
Grupo espacial	P2 ₁ /c	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P-1
Dimensiones de la celda unitaria a, b, c (Å)	a = 9.8926(5), α = 90 b = 20.3533(10), β = 94.247(1) c = 9.4625(5), γ = 90	a = 9.4657(3), α = 90 b = 15.5390(5). β = 90 c = 19.0490(6), γ = 90	a = 9.9701(3) Å α = 78.0421(6)°. b = 13.7048(4) Å β = 80.1577(6)°. c = 16.1235(5) Å γ = 72.6277(6)°
Volumen (Å ³)	1900.01(17)	2801.87(15)	2042.88(11)
Z	4	4	2
D _{calc} (g/cm ³)	1.309	1.229	1.664
μ (MoKα) (mm ⁻¹)	0.086	0.564	3.839
F(000)	792	1096	1020
Tamaño del cristal (mm ³)	0.396 x 0.275 x 0.206	0.280 x 0.202 x 0.114	.242 x 0.124 x 0.056
Theta min-max (°)	2.001 a 27.407°	3.671 a 70.061°	1.579 a 27.444
Índice de rangos	-12<=h<=12, - 26<=k<=26, - 12<=l<=12	-9<=h<=11, - 18<=k<=18, - 23<=l<=23	-12<=h<=12 -17<=k<=17 -20<=l<=20
Reflexiones colectadas	20692	42103	32782
Reflexiones independientes	4325 [R(int) = 0.0227]	5256 [R(int) = 0.0355]	9328 [R(int) = 0.0225]
Datos / restricciones / parámetros	4325 / 5 / 267	5256 / 0 / 363	9328 / 814 / 674
Índices R finales. [I>2σ(I)]	R1 = 0.0367, wR2 = 0.0931	R1 = 0.0284, wR2 = 0.0750	R1 = 0.0210, wR2 = 0.0509
Índices R	R1 = 0.0407, wR2 = 0.0963	R1 = 0.0292, wR2 = 0.0758	R1 = 0.0226, wR2 = 0.0517
Diff mas grande pico hoyo.	0.312 y -0.219 e.Å ⁻³	0.187 y -0.167 e.Å ⁻³	1.063 y -1.789 e.Å ⁻³

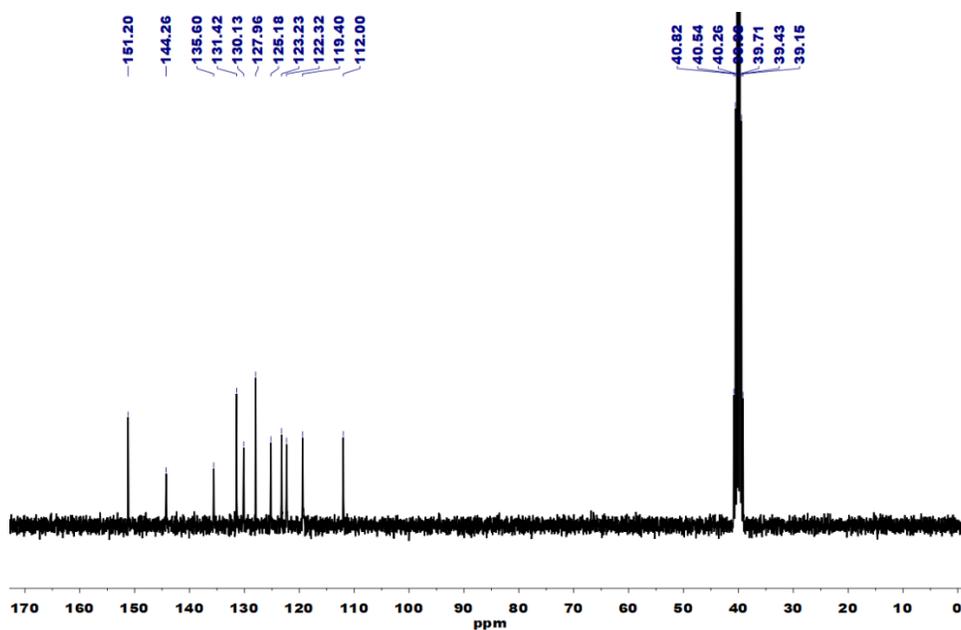
3

4

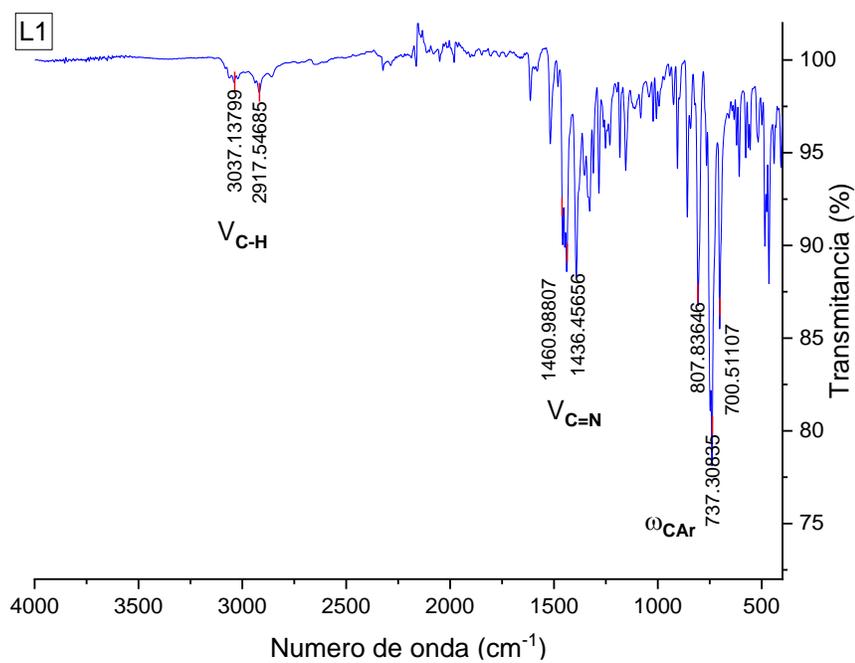
5 VIII.2 Espectroscopía de los compuestos sintetizados.

6 VIII.2.1 L0

7
8 *Figura 39. Espectro de IR del complejo L0.*9
10
11 *Figura 40. Espectro de masas del complejo L0, realizado por EI+ (DMSO)*



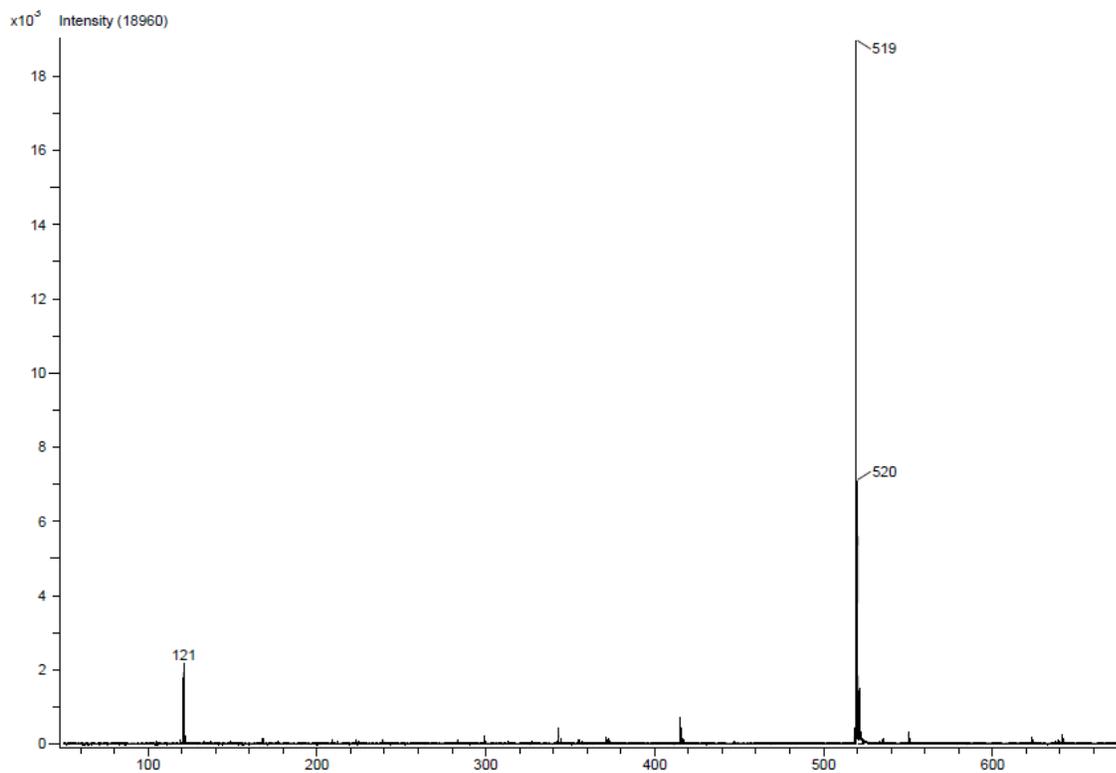
12

13 *Figura 41. Espectro de ^{13}C -RMN en DMSO-6d 400MHz del L0.*14 **VIII.2.2 L1**

15

16

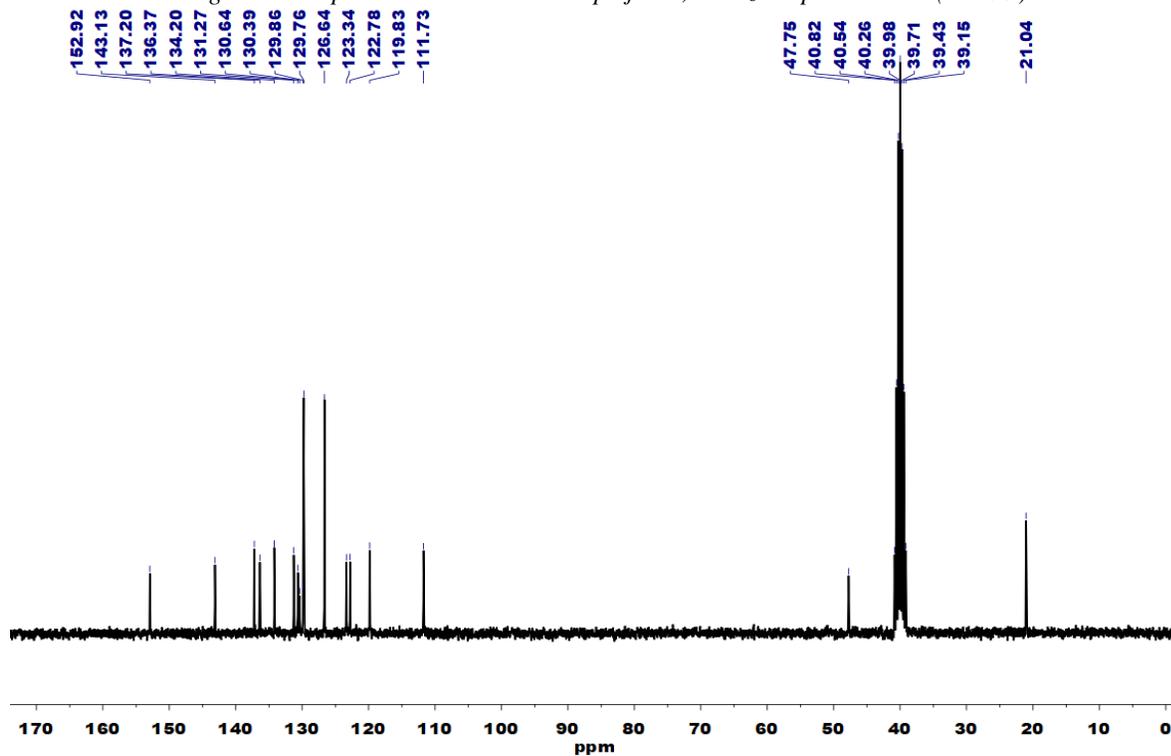
Figura 42. Espectro de IR del complejo L1.



17

18

Figura 43. Espectro de masas del complejo LI, realizado por DART+ (DMSO)



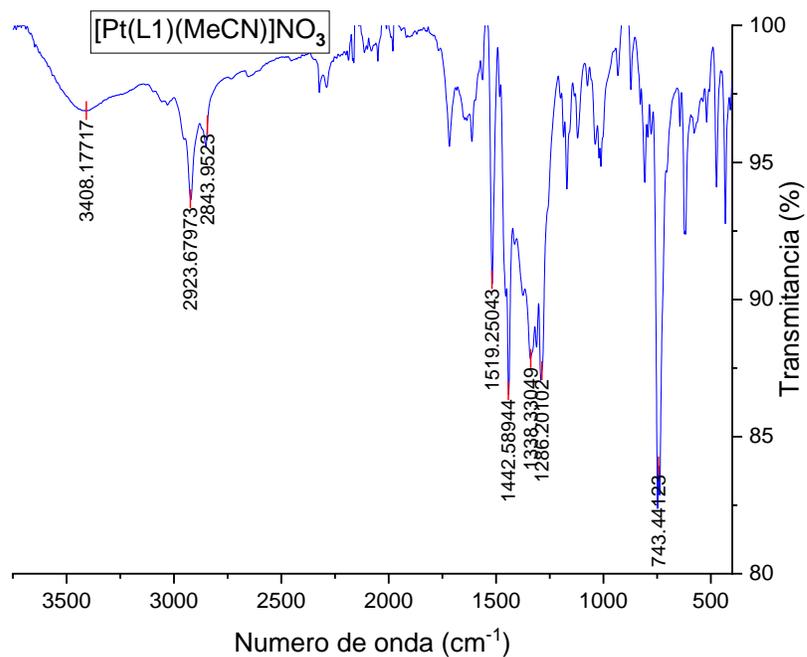
19

20

21

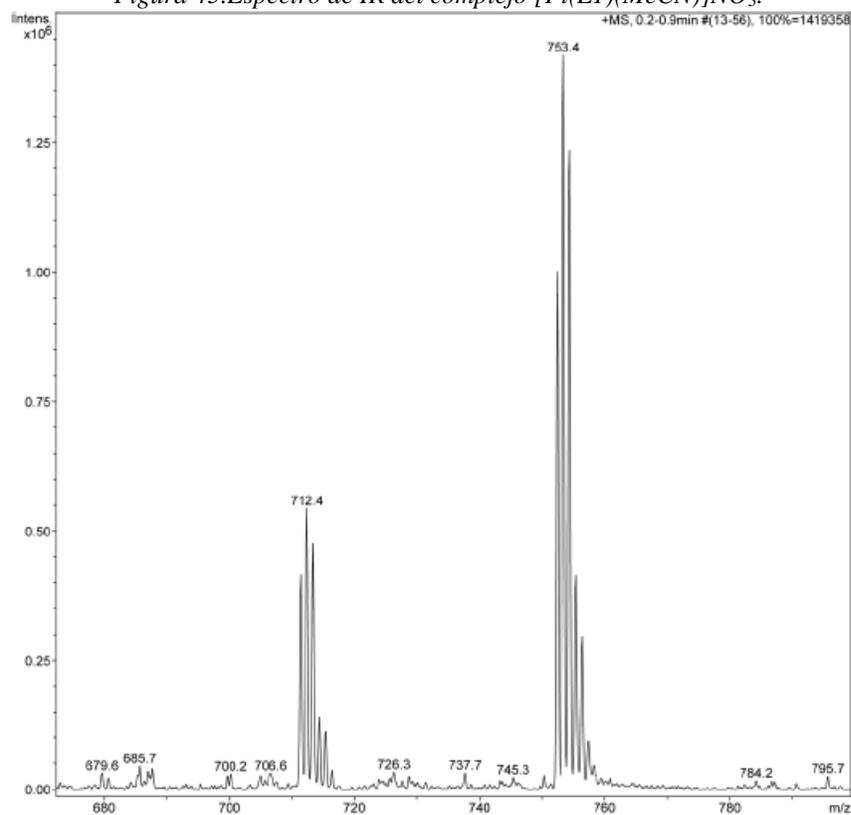
Figura 44. Espectro de ¹³C-RMN en DMSO-6d 400MHz del LI.

22 VIII.2.3 [Pt(L1)Cl]

23 VIII.2.4 [Pt(L1)(MeCN)]NO₃

24

25

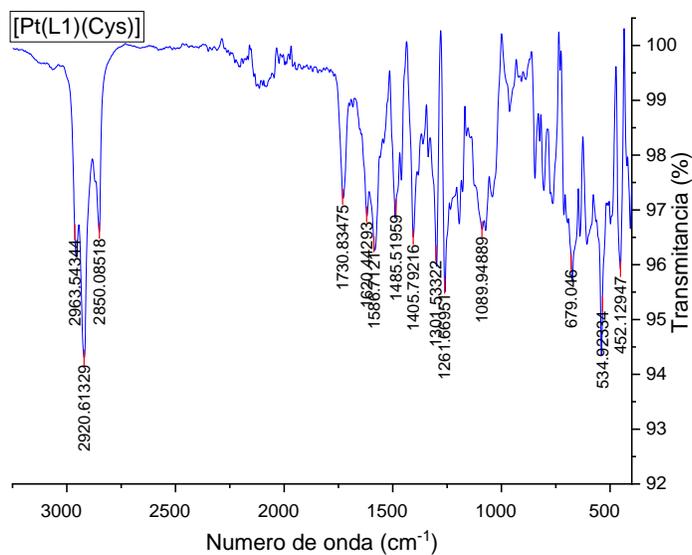
Figura 45. Espectro de IR del complejo [Pt(L1)(MeCN)]NO₃.

26

27

28

Figura 46. Espectro de masas del complejo [Pt(L1)(MeCN)]NO₃, realizado por ESI+ (DMSO)

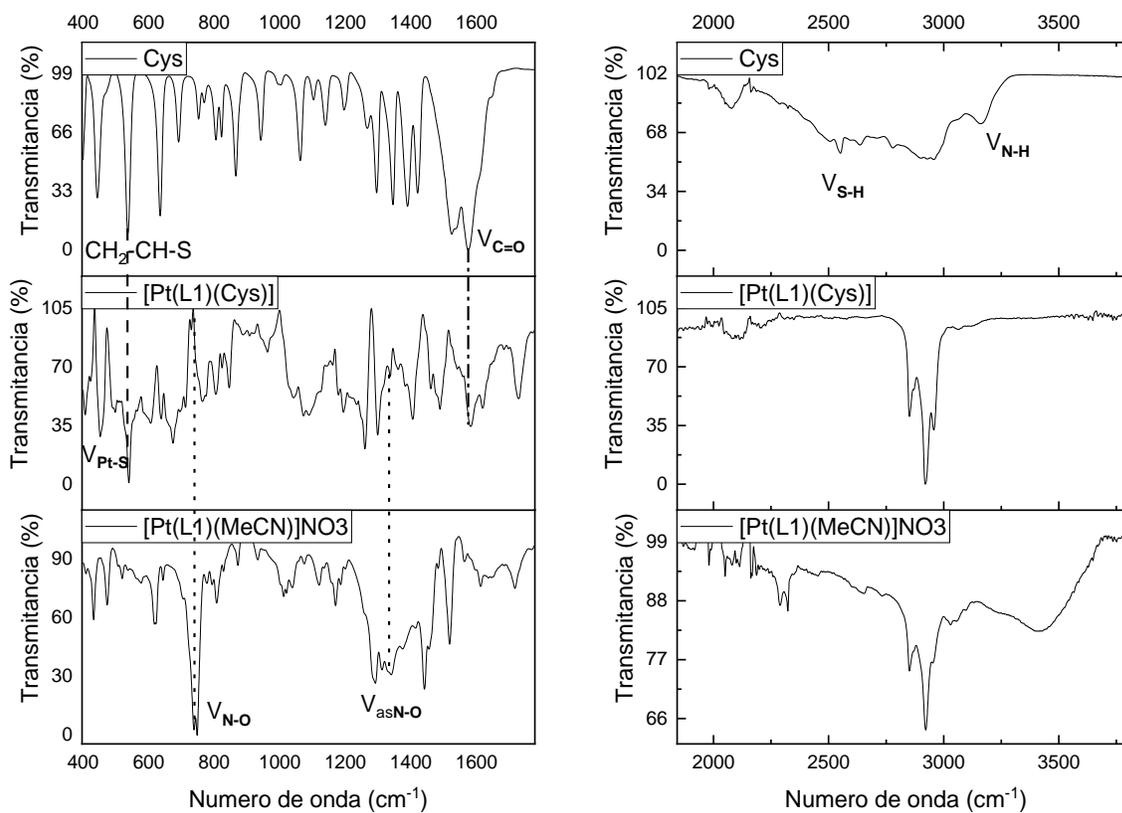


29

30

31

Figura 47. Espectro de IR del complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ tratado con cisteína.



32

33

34

Figura 48. Comparación de los espectros de IR de la cisteína con el complejo $[Pt(L1)(MeCN)]NO_3$ y el producto de la reacción entre ambos

IX. Referencias

- 1
- 2 [1] K.Y. Zhang, K.K.-W. Lo, Chemosensing and Diagnostics, in: *Compr. Inorg. Chem. II*,
3 Elsevier, 2013: pp. 657–732. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097774-4.00804-4>.
- 4 [2] K.G. Reddie, K.S. Carroll, Expanding the functional diversity of proteins through
5 cysteine oxidation, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12 (2008) 746–754.
6 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.07.028>.
- 7 [3] I. Morgenstern, M.T.M. Raijmakers, W.H.M. Peters, H. Hoensch, W. Kirch,
8 Homocysteine, Cysteine, and Glutathione in Human Colonic Mucosa: Elevated Levels
9 of Homocysteine in Patients with Inflammatory Bowel Disease, *Dig. Dis. Sci.* 48 (2003)
10 2083–2090. <https://doi.org/10.1023/A:1026338812708>.
- 11 [4] J.O. Escobedo, O. Rusin, W. Wang, O. Alptürk, K.K. Kim, X. Xu, R.M. Strongin,
12 Detection of Biological Thiols, *Rev. Fluoresc.* 2006. (2007) 139–162.
13 https://doi.org/10.1007/0-387-33016-x_6.
- 14 [5] A. Hernanz, E. Fernández-Vivancos, C. Montiel, J.J. Vazquez, F. Arnalich, Changes in
15 the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging, *Life Sci.*
16 67 (2000) 1317–1324. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00722-0](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00722-0).
- 17 [6] G. Salemi, M.C. Gueli, M. D’Amelio, V. Saia, P. Mangiapane, P. Aridon, P. Ragonese,
18 I. Lupo, Blood levels of homocysteine, cysteine, glutathione, folic acid, and vitamin
19 B12 in the acute phase of atherothrombotic stroke, *Neurol. Sci.* 30 (2009) 361–364.
20 <https://doi.org/10.1007/s10072-009-0090-2>.
- 21 [7] B.J. Mills, M.M. Weiss, C.A. Lang, M.C. Liu, C. Ziegler, Blood glutathione and
22 cysteine changes in cardiovascular disease, *J. Lab. Clin. Med.* 135 (2000) 396–401.
23 <https://doi.org/10.1067/mlc.2000.105976>.
- 24 [8] M.G. Donner, G.K. Klein, P.B. Mathes, P. Schwandt, W.O. Richter, Plasma total
25 homocysteine levels in patients with early-onset coronary heart disease and a low
26 cardiovascular risk profile, *Metabolism.* 47 (1998) 273–279.
27 [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(98\)90256-6](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(98)90256-6).
- 28 [9] A. McCaddon, P. Hudson, D. Hill, J. Barber, A. Lloyd, G. Davies, B. jör. Regland,

- 29 Alzheimer's disease and total plasma amino thiols, *Biol. Psychiatry*. 53 (2003) 254–260.
30 [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01451-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01451-8).
- 31 [10] J.S. Stamler, A. Slivka, *Biological Chemistry of Thiols in the Vasculature and in*
32 *Vascular-related Disease*, *Nutr. Rev.* 54 (2009) 1–30. [https://doi.org/10.1111/j.1753-](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1996.tb03770.x)
33 [4887.1996.tb03770.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1996.tb03770.x).
- 34 [11] A. Pastore, R. Massoud, C. Motti, A. Lo Russo, G. Fucci, C. Cortese, G. Federici, Fully
35 automated assay for total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, glutathione,
36 cysteamine, and 2-mercaptopropionylglycine in plasma and urine, *Clin. Chem.* 44
37 (1998) 825–832. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.4.825>.
- 38 [12] X. Guan, B. Hoffman, C. Dwivedi, D.P. Matthees, A simultaneous liquid
39 chromatography/mass spectrometric assay of glutathione, cysteine, homocysteine and
40 their disulfides in biological samples, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 31 (2003) 251–261.
41 [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00594-0](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00594-0).
- 42 [13] R.A. Winters, J. Zukowski, N. Ercal, R.H. Matthews, D.R. Spitz, Analysis of
43 Glutathione, Glutathione Disulfide, Cysteine, Homocysteine, and Other Biological
44 Thiols by High-Performance Liquid Chromatography Following Derivatization by N-
45 (1-Pyrenyl)maleimide, *Anal. Biochem.* 227 (1995) 14–21.
46 <https://doi.org/10.1006/abio.1995.1246>.
- 47 [14] R. Głowacki, E. Bald, Fully automated method for simultaneous determination of total
48 cysteine, cysteinylglycine, glutathione and homocysteine in plasma by HPLC with UV
49 absorbance detection, *J. Chromatogr. B.* 877 (2009) 3400–3404.
50 <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.012>.
- 51 [15] N. Lawrence, Electrochemical detection of thiols in biological media, *Talanta*. 53 (2001)
52 1089–1094. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00579-8](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00579-8).
- 53 [16] R. Ferin, M.L. Pavão, J. Baptista, Methodology for a rapid and simultaneous
54 determination of total cysteine, homocysteine, cysteinylglycine and glutathione in
55 plasma by isocratic RP-HPLC, *J. Chromatogr. B.* 911 (2012) 15–20.
56 <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.10.022>.
- 57 [17] M.A. Mansoor, A.M. Svardal, P.M. Ueland, Determination of the in vivo redox status

- 58 of cysteine, cysteinylglycine, homocysteine, and glutathione in human plasma, *Anal.*
59 *Biochem.* 200 (1992) 218–229. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90456-H](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90456-H).
- 60 [18] W. Wang, Introductory Chapter: What is Chemical Sensor?, in: *Progresses Chem. Sens.*,
61 *InTech*, 2016: pp. 3–8. <https://doi.org/10.5772/64626>.
- 62 [19] N.R. Council, *Expanding the Vision of Sensor Materials*, National Academies Press,
63 Washington, D.C., 1995. <https://doi.org/10.17226/4782>.
- 64 [20] B. Valeur, Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition,
65 *Coord. Chem. Rev.* 205 (2000) 3–40. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00246-0).
- 66 [21] H.S. Jung, X. Chen, J.S. Kim, J. Yoon, Recent progress in luminescent and colorimetric
67 chemosensors for detection of thiols, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 6019–6031.
68 <https://doi.org/10.1039/c3cs60024f>.
- 69 [22] C.-X. Yin, K.-M. Xiong, F.-J. Huo, J.C. Salamanca, R.M. Strongin, Fluorescent Probes
70 with Multiple Binding Sites for the Discrimination of Cys, Hcy, and GSH, *Angew.*
71 *Chemie Int. Ed.* 56 (2017) 13188–13198. <https://doi.org/10.1002/anie.201704084>.
- 72 [23] J. Liu, Y.-Q. Sun, Y. Huo, H. Zhang, L. Wang, P. Zhang, D. Song, Y. Shi, W. Guo,
73 Simultaneous Fluorescence Sensing of Cys and GSH from Different Emission
74 Channels, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 574–577. <https://doi.org/10.1021/ja409578w>.
- 75 [24] T. Liu, F. Huo, C. Yin, J. Li, J. Chao, Y. Zhang, A triphenylamine as a fluorophore and
76 maleimide as a bonding group selective turn-on fluorescent imaging probe for thiols,
77 *Dye. Pigment.* 128 (2016) 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.12.031>.
- 78 [25] W. Zhang, C. Yin, Y. Zhang, J. Chao, F. Huo, A turn-on fluorescent probe based on 2,4-
79 dinitrosulfonyl functional group and its application for bioimaging, *Sensors Actuators,*
80 *B Chem.* 233 (2016) 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.089>.
- 81 [26] C. Huang, Y. Qian, A highly sensitive two-photon fluorescent probe for glutathione with
82 near-infrared emission at 719 nm and intracellular glutathione imaging, *Spectrochim.*
83 *Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 217 (2019) 68–76.
84 <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.03.042>.
- 85 [27] L.-Y. Niu, Q.-Q. Yang, H.-R. Zheng, Y.-Z. Chen, L.-Z. Wu, C.-H. Tung, Q.-Z. Yang,

- 86 BODIPY-based fluorescent probe for the simultaneous detection of glutathione and
 87 cysteine/homocysteine at different excitation wavelengths, *RSC Adv.* 5 (2015) 3959–
 88 3964. <https://doi.org/10.1039/C4RA13526A>.
- 89 [28] Y. Yue, C. Yin, F. Huo, J. Chao, Y. Zhang, Thiol-chromene click chemistry: A turn-on
 90 fluorescent probe for specific detection of cysteine and its application in bioimaging,
 91 *Sensors Actuators B Chem.* 223 (2016) 496–500.
 92 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.127>.
- 93 [29] Y. Yue, F. Huo, X. Li, Y. Wen, T. Yi, J. Salamanca, J.O. Escobedo, R.M. Strongin, C.
 94 Yin, pH-Dependent Fluorescent Probe That Can Be Tuned for Cysteine or
 95 Homocysteine, *Org. Lett.* 19 (2017) 82–85. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b03357>.
- 96 [30] Y. Liu, X. Lv, J. Liu, Y.-Q. Sun, W. Guo, Construction of a Selective Fluorescent Probe
 97 for GSH Based on a Chloro-Functionalized Coumarin-enone Dye Platform, *Chem. - A*
 98 *Eur. J.* 21 (2015) 4747–4754. <https://doi.org/10.1002/chem.201406004>.
- 99 [31] Y. Kim, S. V. Mulay, M. Choi, S.B. Yu, S. Jon, D.G. Churchill, Exceptional time
 100 response, stability and selectivity in doubly-activated phenyl selenium-based
 101 glutathione-selective platform, *Chem. Sci.* 6 (2015) 5435–5439.
 102 <https://doi.org/10.1039/C5SC02090E>.
- 103 [32] L. Hakuna, B. Doughan, J.O. Escobedo, R.M. Strongin, A simple assay for glutathione
 104 in whole blood, *Analyst.* 140 (2015) 3339–3342.
 105 <https://doi.org/10.1039/C5AN00345H>.
- 106 [33] L. Yuan, W. Lin, Y. Xie, S. Zhu, S. Zhao, A Native-Chemical-Ligation-Mechanism-
 107 Based Ratiometric Fluorescent Probe for Amino thiols, *Chem. - A Eur. J.* 18 (2012)
 108 14520–14526. <https://doi.org/10.1002/chem.201201606>.
- 109 [34] F. Huo, J. Kang, C. Yin, Y. Zhang, J. Chao, A turn-on green fluorescent thiol probe
 110 based on the 1,2-addition reaction and its application for bioimaging, *Sensors Actuators*
 111 *B Chem.* 207 (2015) 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.023>.
- 112 [35] A. Barve, M. Lowry, J.O. Escobedo, J. Thainashmuthu, R.M. Strongin, Fluorescein Tri-
 113 Aldehyde Promotes the Selective Detection of Homocysteine, *J. Fluoresc.* 26 (2016)
 114 731–737. <https://doi.org/10.1007/s10895-015-1762-3>.

- 115 [36] H. Wang, G. Zhou, H. Gai, X. Zhou, X. Chen, A fluorescein-based probe with high
116 selectivity to cysteine over homocysteine and glutathione, *Chem. Commun.* 48 (2012)
117 8341. <https://doi.org/10.1039/c2cc33932c>.
- 118 [37] T. Chen, X. Pei, Y. Yue, F. Huo, C. Yin, An enhanced fluorescence sensor for specific
119 detection Cys over Hcy/GSH and its bioimaging in living cells, *Spectrochim. Acta - Part*
120 *A Mol. Biomol. Spectrosc.* 209 (2019) 223–227.
121 <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.10.049>.
- 122 [38] C. Yin, W. Zhang, T. Liu, J. Chao, F. Huo, A near-infrared turn on fluorescent probe
123 for biothiols detection and its application in living cells, *Sensors Actuators, B Chem.*
124 246 (2017) 988–993. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.02.176>.
- 125 [39] X. Hou, Z. Li, B. Li, C. Liu, Z. Xu, An “off-on” fluorescein-based colorimetric and
126 fluorescent probe for the detection of glutathione and cysteine over homocysteine and
127 its application for cell imaging., *Sensors Actuators, B Chem.* 260 (2018) 295–302.
128 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.013>.
- 129 [40] X. Yang, Y. Guo, R.M. Strongin, A seminaphthofluorescein-based fluorescent
130 chemodosimeter for the highly selective detection of cysteine, *Org. Biomol. Chem.* 10
131 (2012) 2739. <https://doi.org/10.1039/c2ob25178g>.
- 132 [41] O. Rusin, N.N. St. Luce, R.A. Agbaria, J.O. Escobedo, S. Jiang, I.M. Warner, F.B.
133 Dawan, K. Lian, R.M. Strongin, Visual Detection of Cysteine and Homocysteine, *J.*
134 *Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 438–439. <https://doi.org/10.1021/ja036297t>.
- 135 [42] L.Y. Niu, Y.Z. Chen, H.R. Zheng, L.Z. Wu, C.H. Tung, Q.Z. Yang, Design strategies
136 of fluorescent probes for selective detection among biothiols, *Chem. Soc. Rev.* 44
137 (2015) 6143–6160. <https://doi.org/10.1039/c5cs00152h>.
- 138 [43] Z.-B. Zheng, J.-C. Cui, Y.-F. Han, Y.-Q. Ge, J. Zuo, W.-X. Hao, Development of fast-
139 response turn-on phosphorescent probes for biothiols based on ruthenium(
140 II) complexes, *Anal. Methods.* 11 (2019) 2341–2350.
141 <https://doi.org/10.1039/C9AY00356H>.
- 142 [44] K. Kaur, R. Saini, A. Kumar, V. Luxami, N. Kaur, P. Singh, S. Kumar,
143 Chemodosimeters: An approach for detection and estimation of biologically and

- 144 medically relevant metal ions, anions and thiols, *Coord. Chem. Rev.* 256 (2012) 1992–
 145 2028. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.04.013>.
- 146 [45] B. Zhang, C. Wei, A Label-Free Fluorescent Sensor Based on Structure-Switching
 147 Oligonucleotides for the Detection of Ag⁺, Biothiols and Acetylcholinesterase Activity,
 148 *ChemistrySelect.* 2 (2017) 6844–6849. <https://doi.org/10.1002/slct.201701089>.
- 149 [46] Y.K. Yang, S. Shim, J. Tae, Rhodamine-sugar based turn-on fluorescent probe for the
 150 detection of cysteine and homocysteine in water, *Chem. Commun.* 46 (2010) 7766–
 151 7768. <https://doi.org/10.1039/c0cc02381g>.
- 152 [47] T. Zou, C.T. Lum, S.S.Y. Chui, C.M. Che, Gold(III) complexes containing N-
 153 heterocyclic carbene ligands: Thiol “switch-on” fluorescent probes and anti-cancer
 154 agents, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 52 (2013) 2930–2933.
 155 <https://doi.org/10.1002/anie.201209787>.
- 156 [48] D. Maheshwaran, S. Priyanga, R. Mayilmurugan, Copper(Cu^{II})-
 157 benzimidazole complexes as efficient fluorescent probes for I^- -cysteine in
 158 water, *Dalt. Trans.* 46 (2017) 11408–11417. <https://doi.org/10.1039/C7DT01895A>.
- 159 [49] H.S. Jung, J.H. Han, Y. Habata, C. Kang, J.S. Kim, An iminocoumarin–Cu(ii)
 160 ensemble-based chemodosimeter toward thiols, *Chem. Commun.* 47 (2011) 5142.
 161 <https://doi.org/10.1039/c1cc10672d>.
- 162 [50] H. Wang, G. Zhou, X. Chen, An iminofluorescein-Cu²⁺ ensemble probe for selective
 163 detection of thiols, *Sensors Actuators B Chem.* 176 (2013) 698–703.
 164 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.10.006>.
- 165 [51] C. Li, X. Shang, Y. Chen, H. Chen, T. Wang, Biothiol detection by “ON-OFF-ON”
 166 fluorescence probe based on anthracene derivative, *J. Mol. Struct.* 1179 (2019) 623–
 167 629. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.11.056>.
- 168 [52] L. Yang, L. Li, Y. Li, H. Zheng, H. Song, H. Zhang, N. Yang, L. Ji, N. Ma, G. He, A
 169 highly sensitive Ru(ii) complex-based phosphorescent probe for thiophenol detection
 170 with aggregation-induced emission characteristics, *New J. Chem.* 44 (2020) 1204–1210.
 171 <https://doi.org/10.1039/c9nj05093k>.
- 172 [53] Y.G. Shi, J.H. Yao, Y.L. Duan, Q.L. Mi, J.H. Chen, Q.Q. Xu, G.Z. Gou, Y. Zhou, J.F.

- 173 Zhang, 1,8-Naphthalimide-Cu(II) ensemble based turn-on fluorescent probe for the
174 detection of thiols in organic aqueous media, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 23 (2013)
175 2538–2542. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.03.004>.
- 176 [54] Z.Q. Hu, L.L. Sun, Y.Y. Gu, Y. Jiang, A sensitive and selective fluorescent probe for
177 detection of glutathione in the presence of Cu²⁺ and its application to biological
178 imaging, *Sensors Actuators, B Chem.* 212 (2015) 220–224.
179 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.01.084>.
- 180 [55] Q. Li, R. Guo, W. Lin, A Fluorescence Turn-On Probe for Thiols with a Tunable
181 Dynamic Range, *J. Fluoresc.* 26 (2016) 1077–1081. [https://doi.org/10.1007/s10895-](https://doi.org/10.1007/s10895-016-1796-1)
182 [016-1796-1](https://doi.org/10.1007/s10895-016-1796-1).
- 183 [56] G. He, J. Li, Z. Wang, C. Liu, X. Liu, L. Ji, C. Xie, Q. Wang, Synthesis of a fluorogenic
184 probe for thiols based on a coumarin schiff base copper complex and its use for the
185 detection of glutathione, *Tetrahedron.* 73 (2017) 272–277.
186 <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.12.012>.
- 187 [57] Y.W. Yip, Z. Yan, G.L. Law, W.T. Wong, Reaction-Based Europium Complex for
188 Specific Detection of Cysteine Over Homocysteine and Glutathione with Variable-
189 Temperature Kinetic Studies, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2019 (2019) 813–820.
190 <https://doi.org/10.1002/ejic.201801315>.
- 191 [58] F. Xie, H. Tan, Z. Li, H. Yang, A europium-based fluorescence probe for detection of
192 thiols in urine, *Anal. Methods.* 6 (2014) 6990–6996.
193 <https://doi.org/10.1039/c4ay01187b>.
- 194 [59] Ş.N. Karuk Elmas, I. Berk Gunay, A. Karagoz, A. Bostanci, G. Sadi, I. Yilmaz, A Novel
195 Fluorescent Probe Based on Perylene Derivative for Hg²⁺ Ions and Biological Thiols
196 and its Application in Live Cell Imaging and Theoretical Calculations, *Electroanalysis.*
197 32 (2020) 775–780. <https://doi.org/10.1002/elan.201900655>.
- 198 [60] L. Wang, T. Yao, S. Shi, Y. Cao, W. Sun, A label-free fluorescent probe for Hg²⁺ and
199 biothiols based on graphene oxide and Ru-complex, *Sci. Rep.* 4 (2014) 1–6.
200 <https://doi.org/10.1038/srep05320>.
- 201 [61] J. Fan, C. Chen, Q. Lin, N. Fu, A fluorescent probe for the dual-channel detection of Hg

- 202 2+/Ag⁺ and its Hg²⁺-based complex for detection of mercapto biomolecules with a
 203 tunable measuring range, *Sensors Actuators, B Chem.* 173 (2012) 874–881.
 204 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.08.004>.
- 205 [62] Z. Mao, J. Liu, T.-S.S. Kang, W. Wang, Q.-B. Bin Han, C.-M.M. Wang, C.-H.H. Leung,
 206 D.-L.L. Ma, An Ir(III) complex chemosensor for the detection of thiols, *Sci. Technol.*
 207 *Adv. Mater.* 17 (2016) 109–114. <https://doi.org/10.1080/14686996.2016.1162081>.
- 208 [63] K. Huang, I.W. Bulik, A.A. Martí, Time-resolved photoluminescence spectroscopy for
 209 the detection of cysteine and other thiol containing amino acids in complex strongly
 210 autofluorescent media, *Chem. Commun.* 48 (2012) 11760.
 211 <https://doi.org/10.1039/c2cc36588j>.
- 212 [64] Y. Tang, H.R. Yang, H. Bin Sun, S.J. Liu, J.X. Wang, Q. Zhao, X.M. Liu, W.J. Xu, S.B.
 213 Li, W. Huang, Rational design of an “oFF-ON” phosphorescent chemodosimeter based
 214 on an iridium(III) complex and its application for time-resolved luminescent detection
 215 and bioimaging of cysteine and homocysteine, *Chem. - A Eur. J.* 19 (2013) 1311–1319.
 216 <https://doi.org/10.1002/chem.201203137>.
- 217 [65] B. Tang, Y. Xing, P. Li, N. Zhang, F. Yu, G. Yang, A rhodamine-based fluorescent
 218 probe containing a Se-N bond for detecting thiols and its application in living cells, *J.*
 219 *Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 11666–11667. <https://doi.org/10.1021/ja072572q>.
- 220 [66] G. Li, Y. Chen, J. Wu, L. Ji, H. Chao, Thiol-specific phosphorescent imaging in living
 221 cells with an azobis(2,2'-bipyridine)-bridged dinuclear iridium(iii) complex, *Chem.*
 222 *Commun.* 49 (2013) 2040–2042. <https://doi.org/10.1039/c3cc38687b>.
- 223 [67] M. Zhang, M.L. Saha, M. Wang, Z. Zhou, B. Song, C. Lu, X. Yan, X. Li, F. Huang, S.
 224 Yin, P.J. Stang, Multicomponent Platinum(II) Cages with Tunable Emission and Amino
 225 Acid Sensing, *J. Am. Chem. Soc.* 139 (2017) 5067–5074.
 226 <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12536>.
- 227 [68] W.-L.L. Tong, M.C.W.W. Chan, S.-M.M. Yiu, Congested Cyclometalated Platinum(II)
 228 Ditopic Frameworks and Their Phosphorescent Responses to S-Containing Amino
 229 Acids, *Organometallics.* 29 (2010) 6377–6383. <https://doi.org/10.1021/om1007488>.
- 230 [69] K. Huang, H. Yang, Z. Zhou, H. Chen, F. Li, T. Yi, C. Huang, A highly selective

- 231 phosphorescent chemodosimeter for cysteine and homocysteine based on platinum(II)
232 complexes, *Inorganica Chim. Acta.* 362 (2009) 2577–2580.
233 <https://doi.org/10.1016/j.ica.2008.11.026>.
- 234 [70] R. Zhang, X. Yu, Z. Ye, G. Wang, W. Zhang, J. Yuan, Turn-on luminescent probe for
235 cysteine/homocysteine based on a ruthenium(II) complex, *Inorg. Chem.* 49 (2010)
236 7898–7903. <https://doi.org/10.1021/ic100810z>.
- 237 [71] G.Y. Li, J.P. Liu, H.Y. Huang, Y. Wen, H. Chao, L.N. Ji, Colorimetric and luminescent
238 dual-signaling responsive probing of thiols by a ruthenium(II)-azo complex, *J. Inorg.*
239 *Biochem.* 121 (2013) 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.12.019>.
- 240 [72] W. Zhang, R. Zhang, J. Zhang, Z. Ye, D. Jin, J. Yuan, Photoluminescent and
241 electrochemiluminescent dual-signaling probe for bio-thiols based on a ruthenium(II)
242 complex, *Anal. Chim. Acta.* 740 (2012) 80–87.
243 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.028>.
- 244 [73] Z. Dai, L. Tian, Z. Ye, B. Song, R. Zhang, J. Yuan, A lanthanide complex-based
245 ratiometric luminescence probe for time-gated luminescence detection of intracellular
246 thiols, *Anal. Chem.* 85 (2013) 11658–11664. <https://doi.org/10.1021/ac403370g>.
- 247 [74] D.B. Varshey, J.R.G. Sander, T. Friščić, L.R. MacGillivray, *Supramolecular*
248 *Interactions*, in: *Supramol. Chem.*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2012.
249 <https://doi.org/10.1002/9780470661345.smc003>.
- 250 [75] F. Biedermann, H.J. Schneider, Experimental Binding Energies in Supramolecular
251 Complexes, *Chem. Rev.* 116 (2016) 5216–5300.
252 <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00583>.
- 253 [76] luminescence, in: *IUPAC Compend. Chem. Terminol.*, IUPAC, Research Triangle Park,
254 NC, n.d. <https://doi.org/10.1351/goldbook.L03641>.
- 255 [77] H.H. Jaffe, A.L. Miller, The fates of electronic excitation energy, *J. Chem. Educ.* 43
256 (1966) 469. <https://doi.org/10.1021/ed043p469>.
- 257 [78] J. V Caspar, E.M. Kober, B.P. Sullivan, T.J. Meyer, Application of the energy gap law
258 to the decay of charge-transfer excited states, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 630–632.
259 <https://doi.org/10.1021/ja00366a051>.

- 260 [79] B. Valeur, M.N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence*, Wiley-VCH Verlag GmbH
 261 & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2012. <https://doi.org/10.1002/9783527650002>.
- 262 [80] K. Takenaka, M. Minakawa, Y. Uozumi, NCN Pincer Palladium Complexes: Their
 263 Preparation via a Ligand Introduction Route and Their Catalytic Properties, *J. Am.*
 264 *Chem. Soc.* 127 (2005) 12273–12281. <https://doi.org/10.1021/ja052780n>.
- 265 [81] M. Albrecht, G. van Koten, Platinum Group Organometallics Based on “Pincer”
 266 Complexes: Sensors, Switches, and Catalysts, *Angew. Chemie Int. Ed.* 40 (2001) 3750–
 267 3781. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20011015\)40:20<3750::AID-
 268 ANIE3750>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20011015)40:20<3750::AID-ANIE3750>3.0.CO;2-6).
- 269 [82] C.W. Rogers, M.O. Wolf, Luminescent molecular sensors based on analyte coordination
 270 to transition-metal complexes, *Coord. Chem. Rev.* 233–234 (2002) 341–350.
 271 [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00023-1).
- 272 [83] H. Valdés, L. González-Sebastián, D. Morales-Morales, Aromatic para-functionalized
 273 NCN pincer compounds, *J. Organomet. Chem.* 845 (2017) 229–257.
 274 <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.05.034>.
- 275 [84] C.M. Storey, H.P. Cook, A.B. Chaplin, Complexes of NHC-Based CEC Pincer Ligands,
 276 in: *Pincer Compd.*, Elsevier, 2018: pp. 173–189. [https://doi.org/10.1016/B978-0-12-
 277 812931-9.00008-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812931-9.00008-6).
- 278 [85] Z. Wang, Z. Sun, X.-Q. Hao, J.-L. Niu, D. Wei, T. Tu, J.-F. Gong, M.-P. Song, Neutral
 279 and Cationic NCN Pincer Platinum(II) Complexes with 1,3-Bis(benzimidazol-2'-
 280 yl)benzene Ligands: Synthesis, Structures, and Their Photophysical Properties
 281 (Supporting Information), *Organometallics.* 33 (2014) 1563–1573.
 282 <https://doi.org/10.1021/om400946n>.
- 283 [86] S.J. Farley, D.L. Rochester, A.L. Thompson, J.A.K. Howard, J.A.G. Williams,
 284 Controlling Emission Energy, Self-Quenching, and Excimer Formation in Highly
 285 Luminescent NACAN-Coordinated Platinum(II) Complexes, *Inorg. Chem.* 44 (2005)
 286 9690–9703. <https://doi.org/10.1021/ic051049e>.
- 287 [87] E. Canadell, M.-L. Doublet, C. Iung, *Orbital Approach to the Electronic Structure of*
 288 *Solids*, First, Oxford University Press, New York, 2013.

- 289 <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199534937.001.0001>.
- 290 [88] B. Pinter, V. Van Speybroeck, M. Waroquier, P. Geerlings, F. De Proft, trans effect and
291 trans influence: importance of metal mediated ligand–ligand repulsion, *Phys. Chem.*
292 *Chem. Phys.* 15 (2013) 17354. <https://doi.org/10.1039/c3cp52383g>.
- 293 [89] A. Dorazco-González, Use of Pincer Compounds as Metal-Based Receptors for
294 Chemosensing of Relevant Analytes, in: *Pincer Compd.*, Elsevier, 2018: pp. 587–597.
295 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812931-9.00027-X>.
- 296 [90] M.Q. Slagt, G. Rodríguez, M.M.P. Grutters, R.J.M. Klein Gebbink, W. Klopper, L.W.
297 Jenneskens, M. Lutz, A.L. Spek, G. van Koten, Synthesis and Properties of para-
298 Substituted NCN-Pincer Palladium and Platinum Complexes, *Chem. - A Eur. J.* 10
299 (2004) 1331–1344. <https://doi.org/10.1002/chem.200305336>.
- 300 [91] V. Rani, H.B. Singh, R.J. Butcher, Protic and substituted NCN palladium(II) pincer
301 complexes with 1,3-bis(benzimidazol-2'-yl)-2-bromobenzenes: Structure and catalysis,
302 *J. Organomet. Chem.* 859 (2018) 33–43.
303 <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.01.027>.
- 304 [92] V. Rani, H.B. Singh, R.J. Butcher, Cationic NCN Palladium(II) Pincer Complexes of 5-
305 tert-Butyl-1,3-bis(N-substituted benzimidazol-2'-yl)benzenes: Synthesis, Structure, and
306 Pd•••Pd Metallophilic Interaction, *Organometallics*. 36 (2017) 4741–4752.
307 <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.7b00620>.
- 308 [93] A. Dorazco-Gonzalez, Chemosensing of Chloride Based on a Luminescent Platinum(II)
309 NCN Pincer Complex in Aqueous Media, *Organometallics*. 33 (2014) 868–875.
310 <https://doi.org/10.1021/om4007054>.
- 311 [94] B. Wieczorek, H.P. Dijkstra, M.R. Egmond, R.J.M. Klein Gebbink, G. van Koten,
312 Incorporating ECE-pincer metal complexes as functional building blocks in
313 semisynthetic metalloenzymes, supramolecular polypeptide hybrids, tamoxifen
314 derivatives, biomarkers and sensors, *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 812–822.
315 <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2008.12.010>.
- 316 [95] W.A. Tarran, G.R. Freeman, L. Murphy, A.M. Benham, R. Katakya, J.A.G.G. Williams,
317 Platinum(II) complexes of $\hat{N}\hat{C}N$ -coordinating 1,3-bis(2-pyridyl)benzene ligands:

- 318 Thiolate coligands lead to strong red luminescence from charge-transfer states, *Inorg.*
 319 *Chem.* 53 (2014) 5738–5749. <https://doi.org/10.1021/ic500555w>.
- 320 [96] G.D. Batema, M. Lutz, A.L. Spek, C.A. van Walree, C.D.M. Donegá, A. Meijerink,
 321 R.W.A. Havenith, J. Pérez-Moreno, K. Clays, M. Büchel, A. Van Dijken, D.L. Bryce,
 322 G.P.M. van Klink, G. Van Koten, Substituted 4,4'-Stilbenoid NCN-Pincer Platinum(II)
 323 Complexes. Luminescence and Tuning of the Electronic and NLO Properties and the
 324 Application in an OLED, *Organometallics.* 27 (2008) 1690–1701.
 325 <https://doi.org/10.1021/om700352z>.
- 326 [97] Z. Wang, J.-L. Niu, L.-Z. Zhang, J.-W. Guo, X.-Q. Hao, M.-P. Song, Synthesis,
 327 characterization and photophysical properties of the pincer platinum(II) complexes with
 328 m-bis(benzimidazol-2'-yl)benzene ligand, *Tetrahedron.* 70 (2014) 7496–7504.
 329 <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.08.019>.
- 330 [98] R. McGuire, M.C. McGuire, D.R. McMillin, Platinum(II) polypyridines: A tale of two
 331 axes, *Coord. Chem. Rev.* 254 (2010) 2574–2583.
 332 <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.04.013>.
- 333 [99] A.K.-W. Chan, E.S.-H. Lam, A.Y.-Y. Tam, D.P.-K. Tsang, W.H. Lam, M.-Y. Chan,
 334 W.-T. Wong, V.W.-W. Yam, Synthesis and Characterization of Luminescent
 335 Cyclometalated Platinum(II) Complexes of 1,3-Bis-Hetero-Azolybenzenes with
 336 Tunable Color for Applications in Organic Light-Emitting Devices through Extension
 337 of π Conjugation by Variation of the Heteroatom, *Chem. - A Eur. J.* 19 (2013) 13910–
 338 13924. <https://doi.org/10.1002/chem.201301586>.
- 339 [100] M.H.-Y. Chan, H.-L. Wong, V.W.-W. Yam, Synthesis and Photochromic Studies of
 340 Dithienylethene-Containing Cyclometalated Alkynylplatinum(II) 1,3-Bis(N -
 341 alkylbenzimidazol-2'-yl)benzene Complexes, *Inorg. Chem.* 55 (2016) 5570–5577.
 342 <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b00619>.
- 343 [101] D.J. Cárdenas, A.M. Echavarren, M.C. Ramírez de Arellano, Divergent Behavior of
 344 Palladium(II) and Platinum(II) in the Metalation of 1,3-Di(2-pyridyl)benzene,
 345 *Organometallics.* 18 (1999) 3337–3341. <https://doi.org/10.1021/om990125g>.
- 346 [102] S.D. Taylor, W. Howard, N. Kaval, R. Hart, J.A. Krause, W.B. Connick, Solid-state

- 347 materials for anion sensing in aqueous solution: Highly selective colorimetric and
348 luminescence-based detection of perchlorate using a platinum(ii) salt, *Chem. Commun.*
349 46 (2010) 1070–1072. <https://doi.org/10.1039/b923278h>.
- 350 [103] Y. Motoyama, Y. Mikami, H. Kawakami, K. Aoki, H. Nishiyama, Stereochemistry in
351 Asymmetric Alkylation of Aldimine via Chiral Bis(oxazolyl)phenylplatinum
352 Complexes, *Organometallics*. 18 (1999) 3584–3588.
353 <https://doi.org/10.1021/om990251k>.
- 354 [104] L.J. Grove, A.G. Oliver, J.A. Krause, W.B. Connick, Structure of a crystalline
355 vapochromic platinum(II) salt, *Inorg. Chem.* 47 (2008) 1408–1410.
356 <https://doi.org/10.1021/ic701523e>.
- 357 [105] E.O. Rodríguez, Síntesis y estudios espectroscópicos de quimiosensores luminiscentes
358 para aniones con interés biológico basados en complejos tipo pinza NCN de platino(II),
359 UNAM, 2017.
- 360 [106] A.Y.Y. Tam, D.P.K. Tsang, M.Y. Chan, N. Zhu, V.W.W. Yam, A luminescent
361 cyclometalated platinum(ii) complex and its green organic light emitting device with
362 high device performance, *Chem. Commun.* 47 (2011) 3383–3385.
363 <https://doi.org/10.1039/c0cc05538g>.
- 364 [107] X. Chen, Y. Zhou, X. Peng, J. Yoon, Fluorescent and colorimetric probes for detection
365 of thiols, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 2120. <https://doi.org/10.1039/b925092a>.
- 366 [108] H. Peng, W. Chen, Y. Cheng, L. Hakuna, R. Strongin, B. Wang, Thiol Reactive Probes
367 and Chemosensors, *Sensors*. 12 (2012) 15907–15946.
368 <https://doi.org/10.3390/s121115907>.
- 369 [109] S. Portillo-Ledesma, F. Sardi, B. Manta, M.V. Tourn, A. Clippe, B. Knoops, B. Alvarez,
370 E.L. Coitiño, G. Ferrer-Sueta, Deconstructing the Catalytic Efficiency of Peroxiredoxin-
371 5 Peroxidatic Cysteine, *Biochemistry*. 53 (2014) 6113–6125.
372 <https://doi.org/10.1021/bi500389m>.
- 373 [110] I.J. Bazany-Rodríguez, M.K. Salomón-Flores, J.M. Bautista-Renedo, N. González-
374 Rivas, A. Dorazco-González, Chemosensing of Guanosine Triphosphate Based on a
375 Fluorescent Dinuclear Zn(II)-Dipicolylamine Complex in Water, *Inorg. Chem.* 59

376 (2020) 7739–7751. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00777>.

377