



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

**“QUIMIOSENSORES FLUORESCENTES PARA  
NUCLEÓTIDOS, NEUROTRANSMISORES Y ANALITOS  
MODELO DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA BASADOS  
EN RECEPTORES BIFUNCIONALES DE  
ZINC(II)-BORONATO”**

**TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA  
M. EN C. IVÁN JONATHAN BAZANY RODRÍGUEZ**

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

**CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2021.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

**“QUIMIOSENSORES FLUORESCENTES PARA  
NUCLEÓTIDOS, NEUROTRANSMISORES Y ANALITOS  
MODELO DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA BASADOS  
EN RECEPTORES BIFUNCIONALES DE  
ZINC(II)-BORONATO”**

**TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS**

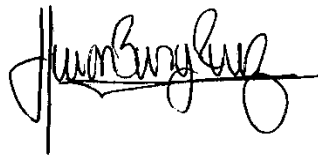
**PRESENTA  
M. EN C. IVÁN JONATHAN BAZANY RODRÍGUEZ**



**CDMX, ENERO DE 2021.**

# JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Anatoly Yatsimirsky
Vocal	Dra. Silvia Elena Castillo Blum
Vocal	Dr. Jorge Peón Peralta
Vocal	Dr. Víctor Sánchez Mendieta
Secretario	Dra. José Guadalupe López Cortés



---

M. en C. Iván Jonathan Bazany Rodríguez

**Sustentante**



---

Dr. Alejandro Dorazco González

**Tutor**



El trabajo experimental de esta tesis se desarrolló en el laboratorio 1 de Química Inorgánica del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UNAM-UAEMex y en el laboratorio 3 de Química Inorgánica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los resultados de este trabajo de tesis doctoral se presentaron en los siguientes eventos:

- Sociedad Química de México. 52° Congreso Mexicano de Química y 36° Congreso Nacional de Educación Química. Puerto Vallarta, Jalisco. Modalidad: Presentación Oral. “Quimiodetección Fluorescente de Nucleótidos y Aniones Biológicos Usando un Receptor Dinuclear de Zinc (II) Basado en 5,8-Bis[N-(metil)di-(2-dipicolil)amino]quinolina”. Septiembre 2017.
- UNAM. Instituto de Química. Simposio Interno. Ciudad Universitaria, CDMX. Modalidad: Cartel. “Turn-On Fluorescence Sensing of Nucleoside Polyphosphates in Aqueous Solution Using a Bis[zinc(II)-dipicolylamine]-Based Artificial Receptor”. Junio de 2018.
- RMFT. XVII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica. Monterrey, Nuevo León. Modalidad: Cartel. “Caracterización Topológica y Espectros RMN de Nuevos Quimiosensores Fluorescentes Especializados en Nucleótidos y Aniones Biológicos”. Noviembre de 2018.
- ACS. Fall 2020 Virtual Meeting. Modalidad: Cartel. Chemosensing of GTP Based On a Fluorescent Dinuclear Zn (II)-dipicolylamine Complex in Water. Agosto de 2020.
- UNAM. Instituto de Química. Simposio Interno; Simposio Virtual. Ciudad Universitaria, CDMX. Modalidad: Cartel. “L-DOPA” selective recognition by water-soluble boronic acids bearing zinc-terpyridine. Diciembre de 2020.

# AGRADECIMIENTOS

A la **UNAM** por todos los servicios brindados.

Al **Dr. Alejandro Dorazco González** por su amistad, asesoría y apoyo este proyecto.

Al **CONACyT** por la beca otorgada (No. 577221) para realizar mis estudios de maestría.

A los siguientes proyectos por el financiamiento: Ciencia Básica-CONACyT **CB-239648**; Investigación e Innovación Tecnológica, **PAPIIT-UNAM-216220**.

A los miembros del jurado y a mi comité tutor por sus comentarios para mejorar esta tesis.

Al personal técnico de RMN del CCIQS UNAM-UAEM y del Instituto de Química de la UNAM: **Ma. en C. María de las Nieves Zavala Segovia, Quím. María de los Ángeles Peña González, Dra. Beatriz Quiroz García y M. en C. Elizabeth Huerta Salazar** por su ayuda en las titulaciones espectroscópicas de RMN.

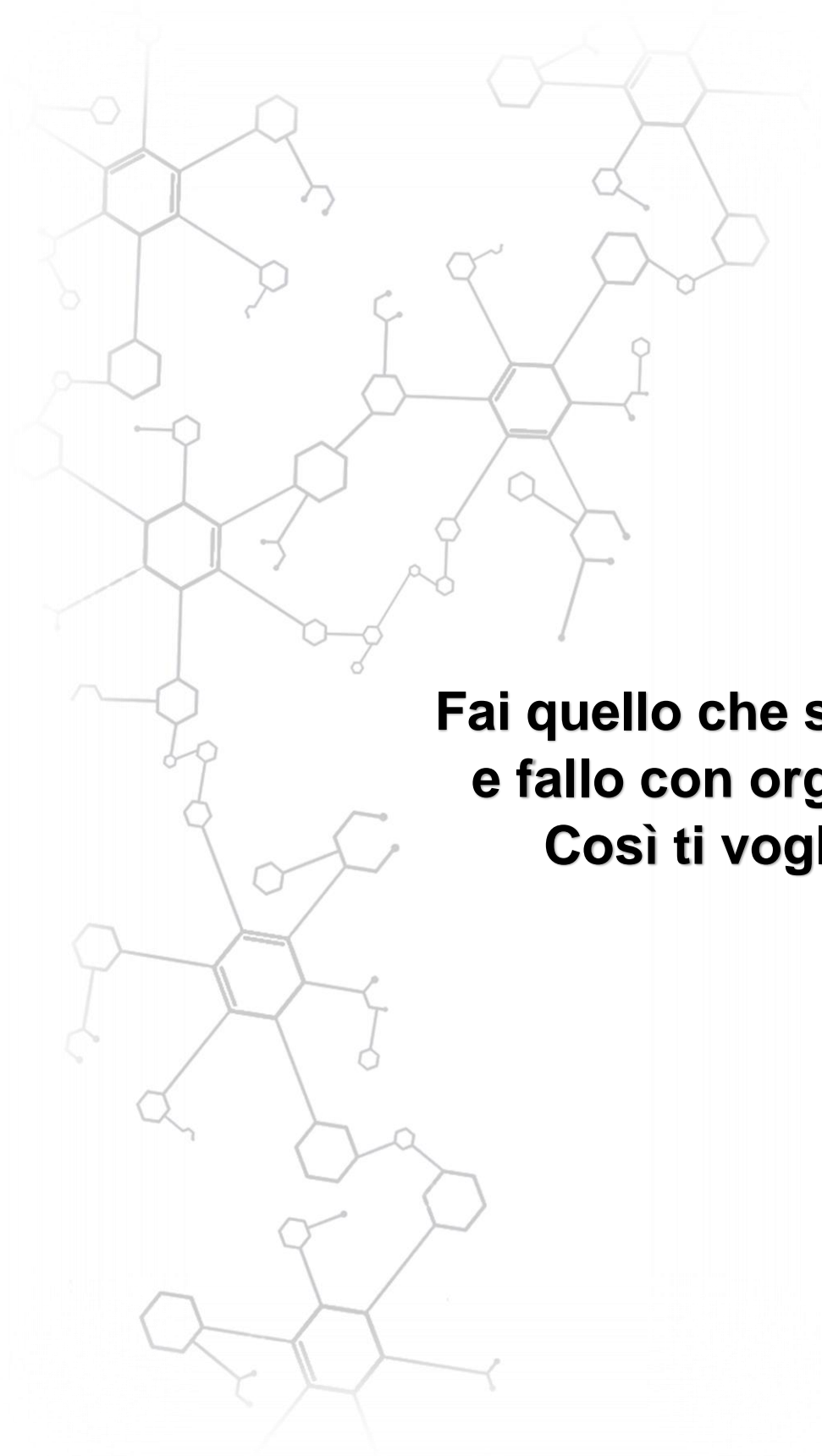
Al personal técnico de espectrometría de masas del Instituto de Química de la UNAM y del CCIQS UNAM-UAEM: **Dra. María del Carmen García González, M. en C. Lizbeth Triana Cruz y M. en C. Melina Tapia Tapia**.

Al personal técnico de cromatografía del Instituto de Química de la UNAM: **Quím. Eréndira García Ríos, M. en C. Lucero Mayra Ríos Ruiz y M. en C. Lucía del Carmen Márquez Alonso**.

A la **Quím. María del Rocío Patiño Maya** por su apoyo en IR y a la **Quím. María de la Paz Orta Pérez** por el apoyo en análisis elemental.

Al **M. en C. Simón Hernández Ortega** y **Dr. Diego Martínez Otero** por el refinamiento de las estructuras cristalinas obtenidas por rayos X.

A todas personas que me apoyaron (colegas, amigos y familia) de todas las formas posibles a lo largo de cuatro años.



**Fai quello che sei  
e fallo con orgoglio!  
Così ti voglio!**

# CONTENIDO

<b>ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>GRAPHICAL ABSTRACT</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	7
<b>CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO</b> .....	10
<b>Sección A. Reconocimiento Molecular</b> .....	11
1. Sistemas Anfitrión-Huésped .....	11
2. Respuesta al Reconocimiento Molecular .....	13
<b>Sección B. Luminiscencia y Quimiosensores Ópticos</b> .....	14
1. Quimiosensores Moleculares Ópticos .....	14
1.1 Quimiosensores Basados en su Diseño Molecular .....	15
1.2 Quimiosensores Basados en su Respuesta de Señalización .....	16
2. Mecanismos Fotoluminiscentes en Quimiosensores Ópticos .....	17
2.1 PET (Transferencia Electrónica Fotoinducida) .....	19
2.2 Formación de Excímeros .....	20
2.3 PCT (Transferencia de Carga Fotoinducida) .....	21
2.4 Transferencia de Protón Fotoinducida .....	22
<b>Sección C. Interacciones en Química Supramolecular</b> .....	23
1. Interacciones No Covalentes .....	23
2. Enlace de Coordinación .....	24
3. Enlaces Covalentes Dinámicos .....	25
3. Efecto Hidrofóbico .....	26
4. Solvatación .....	26
<b>CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES</b> .....	28
<b>Sección A. Receptores Artificiales para GTP</b> .....	29
1. Receptores Artificiales Basados en Moléculas Orgánicas .....	29
2. Receptores Artificiales Basados en Complejos de Coordinación .....	31
3. Receptores Artificiales Basados en Nanomateriales .....	32
4. Receptores Basados en Biomacromoléculas Modificadas .....	33
<b>Sección B. Receptores Artificiales para L-DOPA</b> .....	35
1. Receptores Artificiales con Ácidos Borónicos .....	36
<b>HIPÓTESIS</b> .....	39
<b>OBJETIVOS</b> .....	39
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	40

<b>CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	41
<b>Sección A. Condiciones Generales de Instrumentación</b> .....	42
1. Disolventes y Reactivos .....	42
2. Instrumentación.....	42
<b>Sección B. Síntesis y Caracterización de Complejos de Zn (II)</b> .....	43
1. Ruta Sintética del Complejo Dinuclear $[Zn_2L1][OTf]_4$ .....	43
1.1 Síntesis de 5,8-Dimetilquinolina (A) .....	44
1.2 Síntesis de 5,8-Bis(bromometil)quinolina (B) .....	45
1.3 Síntesis de 5,8-Bis{[bis(2-piridilmetil)amino]metil}quinolina (L1). .....	46
1.4 Síntesis del Complejo $[Zn_2L1][OTf]_4$ .....	47
2. Ruta Sintética de los Complejos Zn(II)-Boronato .....	48
2.1 Síntesis de 4'-(4-Isoquinolil)-2,2':6',2"-terpiridina (C).....	49
2.2 Síntesis del Ligante (L2).....	50
2.3 Síntesis del Ligante (L3).....	51
2.4 Síntesis del Ligante (L4).....	52
2.5 Síntesis del Ligante (L5).....	53
2.6 Síntesis del Complejo L2.Zn .....	54
2.7 Síntesis del Complejo L3.Zn .....	55
2.8 Síntesis del Complejo L4.Zn .....	56
2.9 Síntesis del Complejo L5.Zn .....	57
<b>Sección C. Metodología Empleada en el Reconocimiento Molecular</b> .....	58
1. Titulaciones Fluorimétricas.....	58
2. Titulaciones Espectrofotométricas UV-Visible .....	59
3. Titulaciones Espectroscópicas por RMN.....	59
4. Tiempo de Vida Media de la Fluorescencia .....	60
5. Difracción de Rayos X de Monocristal.....	60
6. Detalles Computacionales.....	61
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	62
<b>Sección A. Quimiosensor <math>[Zn_2L1][OTf]_4</math></b> .....	63
1. Diseño y Síntesis .....	63
2. Estudios de Detección y Asociación de Aniones.....	65
3. Estudios DFT .....	81
<b>Sección B. Quimiosensores Zn (II)-Borónato</b> .....	83
1. Diseño, Síntesis y Estudios Cristalográficos de Rayos X .....	83
2. Propiedades Ácido-Base.....	87
3. Estudios de Detección y Reconocimiento de Neurotransmisores .....	88
4. Ensamble con Eosina Y .....	98
5. Estudios DFT .....	100
6. Estudios de Detección con un Modelo de Hemoglobina Glicosilada HbA <sub>1c</sub> .....	102
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	103
<b>REFERENCIAS</b> .....	105
<b>ANEXOS</b> .....	111

# ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<b>A</b>	Absorbancia	<b>K</b>	Constante de asociación
<b>AAS</b>	Atomic absorption spectrometry	$\lambda_{em}$	Longitud de onda de emisión
<b>AcO</b>	Acetato	$\lambda_{ex}$	Longitud de onda de excitación
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo	<b>L</b>	Ligante
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico	<b>L-DOPA</b>	L-3,4-dihidroxifenilalanina
<b>ADP</b>	Difosfato de adenosina	<b>LOD</b>	Límite de detección
<b>AES</b>	Atomic emission spectroscopy	<b>LogK<sub>A</sub></b>	Logaritmo de la constante de asociación
<b>AMP</b>	Monofosfato de adenosina	<b>Logβ</b>	Logaritmo de la constante global
<b>APCI</b>	Atmospheric pressure chemical ionization	<b>LUMO</b>	Lowest unoccupied molecular orbital
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico	<b>M</b>	Molaridad/Molar
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina	<b>mM</b>	Milimolar
<b>ATR</b>	Attenuated Total Reflectance	<b>μM</b>	Micromolar
<b>BPO</b>	Peróxido de benzoilo	<b>m</b>	Señal múltiple
<b>°C</b>	Grados Celsius	<b>m/z</b>	Relación masa carga
<b>CAPS</b>	Ácido N-ciclohexil-3-amino propano sulfónico	<b>MeCN</b>	Acetonitrilo
<b>CHEF</b>	Chelation enhancement of fluorescence	<b>MeOD</b>	Metanol deuterado
<b>CHEQ</b>	Chelation enhancement of quenching	<b>MeOH</b>	Metanol
<b>CG</b>	Cromatografía de gases	<b>MES</b>	Ácido 2-(N-morfolín)etanosulfónico
<b>CTP</b>	Trifosfato de citidina	<b>MHz</b>	Megahertz
<b>δ</b>	Desplazamiento químico	<b>min</b>	Minuto
<b>d</b>	Señal doble	<b>MOPS</b>	Ácido 3-(N-morfolín)propanosulfónico
<b>DART</b>	Direct analysis in real time	<b>NBS</b>	N-Bromosuccinimida
<b>dd</b>	Señal doble de dobles	<b>NBO</b>	Natural bond orbital
<b>DEPT</b>	Distortionless enhancement by polarization transfer	<b>NIR</b>	Infrarrojo cercano
<b>DFT</b>	Density functional theory	$\bar{\nu}$	Número de onda
<b>DMSO-<sub>d6</sub></b>	Dimetilsulfóxido hexadeuterado	<b>nM</b>	Nanomolar
<b>DPA</b>	Dipicolilamina	<b>nm</b>	nanometros
<b>EET</b>	Electronic energy transfer	<b>NT</b>	Neurotransmisores
<b>EI</b>	Electron impact	<b>NTPs</b>	Nucleótidos trifosfato o nucleósidos trifosfato
<b>EM</b>	Espectrometría de masas	<b>OTf</b>	Triflato
<b>Equiv.</b>	Equivalente	<b>PCT</b>	Photoinduced charge transfer
<b>ESI</b>	Electrospray ionization	<b>PET</b>	Photoinduced electron transfer
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	Éter dietílico	<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>EtOH</b>	Etanol	<b>Pi</b>	Fosfato
<b>EY</b>	Eosina Y	<b>pK<sub>a</sub></b>	Logaritmo de la constante de acidez
<b>FAD</b>	Flavín adenín dinucleótido	<b>PPi</b>	Pirofosfato
<b>FRET</b>	Förster resonance energy transfer	<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>FT-IR</b>	Fourier-transform infrared spectroscopy	<b><sup>11</sup>B RMN</b>	Resonancia magnética nuclear de boro 11
<b>GDP</b>	Difosfato de guanosina	<b><sup>13</sup>C RMN</b>	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
<b>GMP</b>	Monofosfato de guanosina	<b><sup>19</sup>F RMN</b>	Resonancia magnética nuclear de flúor 19
<b>GTP</b>	Trifosfato de guanosina	<b><sup>1</sup>H RMN</b>	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
<b>h</b>	Hora	<b><sup>31</sup>P RMN</b>	Resonancia magnética nuclear de fósforo 31
<b>HbA<sub>1c</sub></b>	Hemoglobina glicosilada	<b>S<sub>0</sub></b>	Estado electrónico fundamental o basal
<b>HEPES</b>	Ácido N-2-hidroxietilpiperacín-N'-2-etanosulfónico	<b>S<sub>1</sub></b>	Estado electrónico singulete
<b>His</b>	Histidina	$\tau$	Tiempo de vida media
<b>HPLC</b>	High-performance liquid chromatography	<b>T<sub>1</sub></b>	Estado electrónico triplete
<b>HOMO</b>	Highest occupied molecular orbital	<b>T%</b>	Porcentaje de transmitancia
<b>HSQC</b>	Heteronuclear simple quantum coherence	<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>IDA</b>	Iminodiacetato	<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>I<sub>F</sub></b>	Intensidad de fluorescencia	<b>Trizma</b>	2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol
<b>I<sub>0</sub>/I</b>	Parámetro relativo de extinción de la fluorescencia	<b>UTP</b>	Trifosfato de Uridina
<b>IR</b>	Infrarrojo	<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-Visible
<b>J</b>	Constante de acoplamiento	<b>V</b>	Volt

# RESUMEN

El nuevo complejo dinuclear fluorescente  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ , (ligante asimétrico, L1= 5,8-Bis{[bis(2-piridilmetil)amino]metil}quinolina y OTf = anión triflato) se sintetizó y estudió en profundidad como un quimiosensor para nucleótidos y aniones inorgánicos en agua pura. Las adiciones a pH neutro de disoluciones de GTP, ATP, UTP, CTP, GDP, GMP y PPI atenúan la intensidad de emisión azul ( $\lambda_{em}= 410 \text{ nm}$ ) de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ . El complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  presenta una selectividad pronunciada hacia el GTP sobre otros aniones estructuralmente relacionados como el ATP. La atenuación eficiente de la fluorescencia mediante la adición de alícuotas de GTP a disoluciones acuosas neutras de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ , se observó en presencia de especies coexistentes en el plasma sanguíneo y/o en la orina (glucosa, urea, creatinina, etc.). Se determinó el límite de detección en  $9.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Con base en múltiples herramientas espectroscópicas ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  RMN, UV-Vis, fluorescencia) y cálculos de DFT, el modo de unión se propuso a través del reconocimiento de tres puntos de contacto que implican la coordinación simultánea del átomo  $\text{N}^7$  del fragmento de guanina y dos grupos fosfato hacia los dos átomos de Zn (II). Los estudios espectroscópicos, EM-ESI y DFT sugirieron que el GTP se asocia a  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  formando complejos supramoleculares con estequiometrias 1:1 y 2:2. Estos complejos supramoleculares presentan altas constantes globales de asociación que se estimaron en  $\text{Log}\beta_{1(1:1)}= 6.05 \pm 0.01$  y  $\text{Log}\beta_{2(2:2)}= 10.91 \pm 0.03$ , respectivamente. El cambio óptico y la selectividad se atribuyen a la unión eficiente del GTP a  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  mediante la combinación de una fuerte contribución electrostática y a efectos sinérgicos de los enlaces de coordinación. Tal selectividad en medio acuoso hacia GTP por parte de un receptor asimétrico a base de complejos de coordinación es aún poco común.

Por otra parte, una nueva clase de complejos fluorescentes de Zn (II)-terpiridina se describen y estudian como quimiosensores para neurotransmisores basados en catecolaminas en agua. Los nuevos quimiosensores de Zn (II)-terpiridina contienen un núcleo catiónico de *N*-isoquinolinio como indicador óptico unido covalentemente a tres isómeros diferentes de ácidos fenilborónicos fuertemente acidificados como sitio de unión para catecoles. Las adiciones a pH fisiológico de L-DOPA, dopamina, L-tirosina, epinefrina y nucleósidos a los quimiosensores de ácido borónico-Zn (II) atenúan su emisión azul con una selectividad pronunciada y una alta afinidad sin precedentes hacia L-DOPA ( $\log K= 6.01$ ).

Esta respuesta eficiente de atenuación de la fluorescencia por parte de la L-DOPA también se observó en presencia de especies coexistentes en el plasma sanguíneo y en la orina con un límite de detección de  $3.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Se propone un mecanismo de atenuación de la fluorescencia tipo PET con complejación simultánea del quimiosensor hacia la L-DOPA tanto en el estado excitado como en el fundamental. A partir de observaciones experimentales de fluorescencia, se muestra que el aducto de eosina-Y:**L2.Zn** se puede utilizar como un ensamble selectivo para detectar L-DOPA a simple vista a través de una respuesta rápida de encendido fluorescente y un cambio de color de azul a verde bajo luz ultravioleta en un intervalo de concentración micromolar. Con base en múltiples herramientas espectroscópicas ( $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$  RMN, UV-vis y fluorescencia), experimentos EM-ESI, estructuras cristalinas y cálculos DFT, el modo de unión entre los quimiosensores de Zn (II) y L-DOPA se propone en un modelo 1:1, a través del reconocimiento cooperativo de dos puntos de contacto que implica la esterificación reversible del resto de ácido borónico con el fragmento de diol aromático de L-DOPA junto con la coordinación del anión carboxilato con el átomo de Zn (II) con una fuerte contribución electrostática.



---

# ABSTRACT

The new fluorescent dinuclear complex  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  (asymmetric ligand, L= 5,8-Bis{[bis(2-pyridylmethyl)amino]methyl}quinoline and OTf= triflate anion) was synthesized and studied in-depth as a chemosensor for nucleoside polyphosphates and inorganic anions in pure water. Additions at neutral pH of nucleoside triphosphates, guanosine diphosphate, guanosine monophosphate and pyrophosphate (PPi) to  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  quench its blue emission ( $\lambda_{\text{em}}=410$  nm) with a pronounced selectivity toward GTP over other anions, including adenosine triphosphate (ATP), uridine triphosphate (UTP) and cytidine triphosphate (CTP). The efficient quenching response by addition of GTP was observed in the presence of coexisting species in blood plasma and urine with a detection limit of  $9.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ . GTP also shows much tighter binding to the receptor  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  in *sub*-micromolar level. On the basis of multiple spectroscopic tools ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  RMN, UV-Vis, and fluorescence) and DFT calculations, the binding mode is proposed through three-points recognition involving the simultaneous coordination of the  $\text{N}^7$  atom of guanosine motif and two phosphate groups to the two Zn(II) atoms. Spectroscopic studies, EM-ESI, and DFT suggested that GTP bound to  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  in 1:1 and 2:2 models with high overall binding constants of  $\text{Log}\beta_{1(1:1)}= 6.05 \pm 0.01$  and  $\text{Log}\beta_{2(2:2)}= 10.91 \pm 0.03$ , respectively. The optical change and selectivity are attributed to the efficient binding of GTP to  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  by the combination of a strong electrostatic contribution and synergic effects of coordination bonds. Such GTP-selectivity of an asymmetric metal-based receptor in water is still rare.

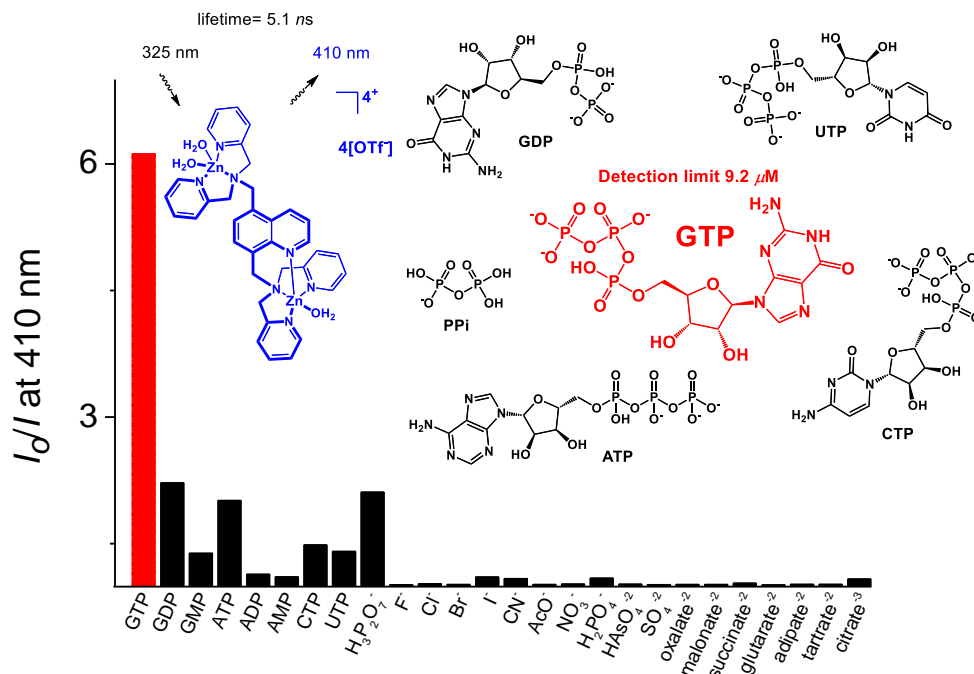
On the other hand, a new range of fluorescent Zn(II)-terpyridine complexes are described and studied in-depth as chemosensors for catecholamines-based neurotransmitters in pure water. The new Zn-terpyridine-based chemosensors contain a cationic *N*-isoquinolinium nucleus as optical indicator covalently linked to three different isomers of strongly acidified phenylboronic acids as catechol binding site. Additions at physiological pH of L-DOPA, dopamine, epinephrine, L-tyrosine and nucleosides to Zn(II)-boronic acid chemosensors quench their blue emission with a pronounced selectivity and an unprecedented high affinity towards L-DOPA ( $\text{log } K= 6.01$ ). This efficient response by L-DOPA was also observed in the presence of coexisting species in blood plasma and urine (urea, glucose, creatinine, etc.) with a detection limit of  $3.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

---

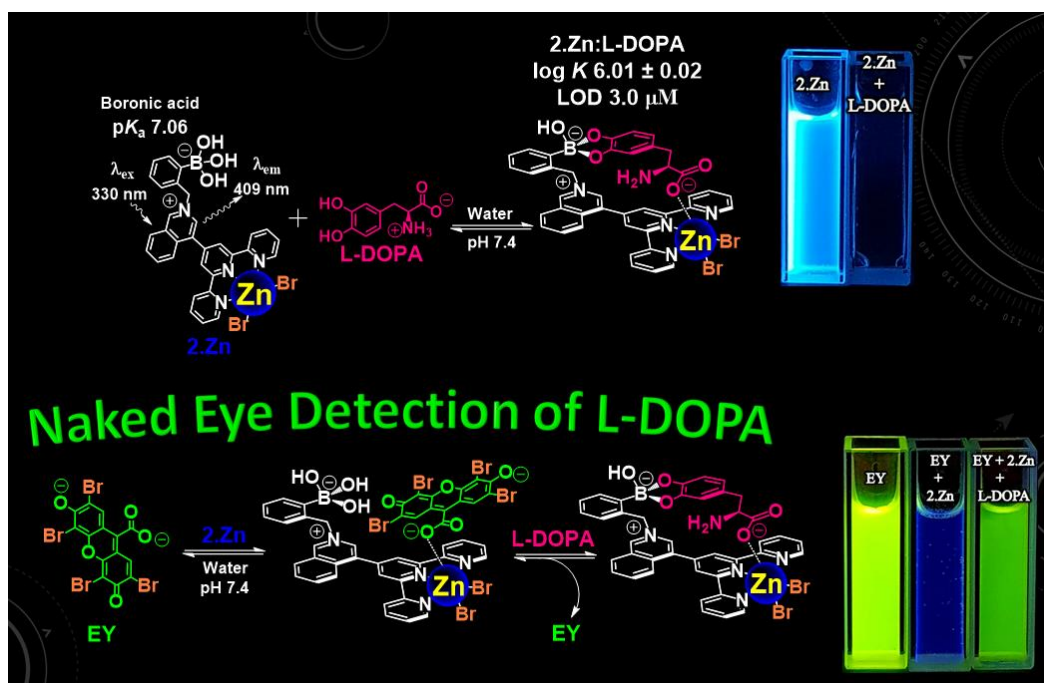
A photoinduced electron transfer quenching mechanism with simultaneous chemosensor-L-DOPA complexation both in the excited and the ground state is proposed. From fluorescence experimental observations display that the **L2.Zn**-eosin-Y adduct can be used as a selective naked-eye chemosensing ensemble for L-DOPA with a fast turn-on fluorescent response and color change from blue to green under UV light in the micromolar level. On the basis of multiple spectroscopic tools ( $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$  RMN, UV-vis, and fluorescence), EM-ESI experiments, crystal structures, and DFT calculations, the binding mode between Zn(II)-chemosensors and L-DOPA is proposed in an 1:1 model, through cooperative two-point recognition involving reversible esterification of boronic acid moiety with the aromatic diol fragment of L-DOPA together the coordination of carboxylate anion to Zn(II) atom with strong electrostatic contribution.

# GRAPHICAL ABSTRACT

## Chemosensing of Guanosine Triphosphate Based on a Fluorescent Dinuclear Zn(II)-Dipicolylamine Complex in Water



## Chemosensing of Neurotransmitters with Selectivity and Naked Eye Detection of L-DOPA Based on Fluorescent Zn(II)-Terpyridine Bearing Boronic Acid Complexes



---

# INTRODUCCIÓN

La química supramolecular, término introducido en 1978 por el Premio Nobel J. M. Lehn, es el área de la química que estudia los ensamblajes intermoleculares que son el resultado de la asociación de dos o más moléculas mediante enlaces intermoleculares no covalentes.<sup>1</sup>

Los ensamblajes intermoleculares generalmente están constituidos por una molécula anfitriona (host) y una molécula huésped (guest). El proceso por el cual una molécula anfitriona se ensambla con un huésped a través de interacciones no covalentes (enlace de hidrógeno, apilamiento  $\pi$ - $\pi$ , par iónico, fuerzas de van der Waals, etc.), se denomina reconocimiento molecular.<sup>2</sup> El anfitrión que logra un reconocimiento eficiente y selectivo es aquel que presenta sitios de asociación útiles para albergar a un huésped que regularmente denominamos sustrato o analito.<sup>3</sup> El producto generado del reconocimiento molecular se denomina complejo anfitrión-huésped o complejo receptor-sustrato.<sup>4</sup>

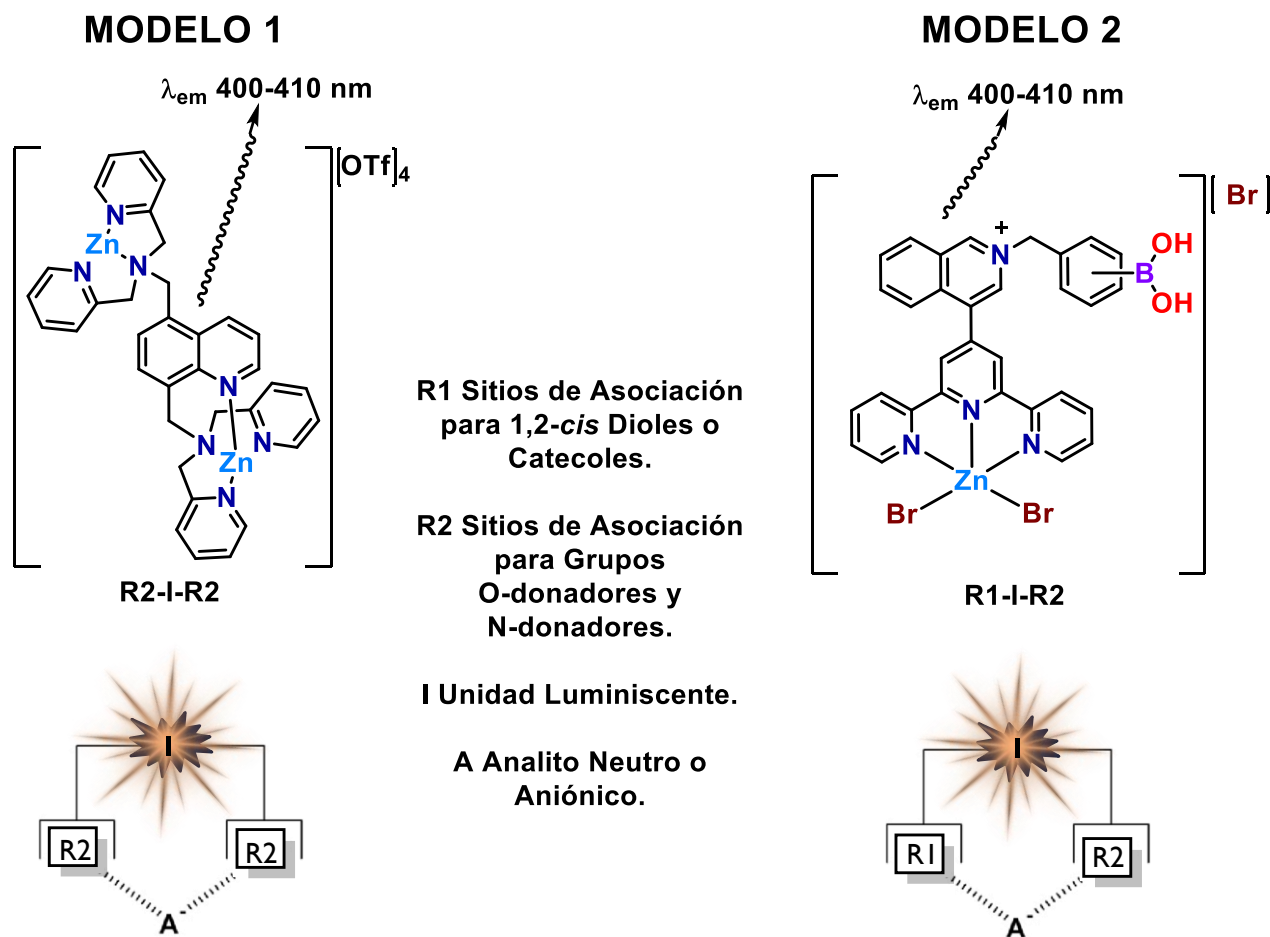
Las interacciones intermoleculares que participan en la formación del complejo anfitrión-huésped constituyen la base de los procesos altamente específicos que se dan en la bioquímica, como la unión de un sustrato a una proteína, las reacciones enzimáticas, el ensamblaje de complejos multiproteínicos, la asociación antígeno-anticuerpo, la lectura, transcripción y traducción del código genético, la regulación de la expresión de los genes a través de las proteínas que se unen a ADN, la entrada de virus a las células, la señal de inducción nerviosa que generan los neurotransmisores, el transporte de moléculas o iones a través de membranas, el reconocimiento de aniones como fosfatos, nucleótidos, etc.<sup>5</sup>

La síntesis de receptores artificiales y sus estudios de asociación con moléculas huésped han permitido tener un mejor entendimiento de los principios fundamentales del reconocimiento molecular, debido a que estos pueden funcionar como una aproximación biomimética, misma que ha llevado al desarrollo de métodos efectivos que permiten la detección selectiva y en tiempo real de analitos implicados en procesos biológicos, clínicos y ambientales.<sup>6</sup> Por consiguiente, no es de extrañar que, a lo largo de las últimas décadas, uno de los campos de investigación más activos de la química supramolecular esté dirigido al desarrollo de receptores artificiales capaces de funcionar como quimiosensores de este tipo de especies.

Los quimiosensores están definidos como dispositivos moleculares que transforman información química en una señal analítica útil.<sup>7</sup> Si comparamos los métodos analíticos instrumentales clásicos (CG-EM, HPLC, AES, AAS), que requieren separación, preconcentración o pretratamiento de la muestra objeto de análisis, los quimiosensores bien diseñados evitan estas restricciones ya que son herramientas analíticas de fácil uso, bajo costo y monitorización del analito en tiempo real. La evidente importancia que todos estos aspectos tienen desde un punto de vista económico y social, son la justificación de la creciente demanda de este tipo de dispositivos moleculares.

El diseño de receptores artificiales con aplicaciones como quimiosensores es un área de investigación interdisciplinario, por lo que es común que la química orgánica e inorgánica aporten mucho al diseño y síntesis de nuevos quimiosensores con unidades de reconocimiento basadas en complejos de coordinación o en la naturaleza creativa de la síntesis orgánica que permite acceder a un número ilimitado de nuevas moléculas con estructura y topología adecuada para el reconocimiento selectivo de analitos concretos o para que desempeñen funciones específicas. Así, mientras que la química orgánica e inorgánica juega un rol esencial en el diseño y síntesis de estos receptores moleculares, el estudio siguiente de los procesos involucrados en el reconocimiento molecular y la conversión del fenómeno del reconocimiento en una señal analítica, requiere la aplicación de herramientas y conocimientos propios de otras disciplinas como la química analítica o la fisicoquímica.<sup>8</sup> En este tenor, el presente trabajo explora la síntesis, caracterización espectroscópica y estudios de reconocimiento molecular de una serie de nuevos receptores artificiales cooperativos y funcionales en medio acuoso para bioanalitos que contienen en su estructura química grupos catecol o 1,2-*cis* diol y grupos coordinantes *N*-donador u *O*-donador. Entre estos bioanalitos se encuentran los nucleótidos, algunos neurotransmisores del tipo catecolamina y modelos de hemoglobina glicosilada (HbA<sub>1c</sub>), este último es el indicador químico más importante para el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.

El diseño molecular de los receptores artificiales sintetizados en este trabajo presenta una estructura **R1-I-R2** y **R2-I-R2**, donde **I** es un indicador fluorescente capaz de transducir el fenómeno de asociación en un cambio de sus propiedades fotofísicas (esquema 1). De esta forma, al contener un indicador fluorescente, los receptores artificiales integran la habilidad de usarse como quimiosensores fluorescentes.



**Esquema 1.** Estructura química de los receptores artificiales (**R2-I-R2** y **R1-I-R2**).

Los receptores artificiales del esquema 1 se diseñaron combinando dos sitios de reconocimiento unidos covalentemente a una unidad luminiscente (**I**). El primer sitio de reconocimiento es un ácido de Lewis (**R1**) con alta afinidad a un monosacárido o un catecol como por ejemplo un derivado de ácido fenil borónico. El segundo sitio de reconocimiento es un centro metálico (**R2**) con afinidad a grupos O-donadores o N-donadores como por ejemplo complejos de Zn (II) con terpiridinas y derivados de dipicolinamina DPA con sitios de coordinación lábiles o disponibles para unirse al huésped.

En la presente tesis, la información se ha dividido en diferentes capítulos entre los que se encuentran antecedentes, marco teórico, desarrollo experimental, resultados, discusión, conclusión y anexos; con el propósito de cubrir los lineamientos que el método científico amerita.

---

# CAPÍTULO 1

## MARCO TEÓRICO

Los sistemas anfitrión-huésped o receptor-sustrato se engloban en un proceso llamado reconocimiento molecular, un anfitrión (receptor) contiene unidades de reconocimiento que son sitios donde el huésped (sustrato o analito) se asocia de forma reversible a través de interacciones supramoleculares, cuando un receptor artificial contiene adicionalmente en su estructura química una unidad de señalización (sitio que transduce una señal química a una señal analítica), se habla de un quimiosensor. Si la unidad de señalización es luminiscente, se habla de un quimiosensor óptico. Para tener un contexto claro y general de lo que involucra el diseño de receptores con unidades luminiscentes, este marco teórico presenta tres secciones.

La sección A resume los tópicos más relevantes dentro del campo de la química supramolecular, donde se engloban aspectos del reconocimiento molecular y el uso de receptores artificiales que funcionan como quimiosensores para detectar y cuantificar analitos. La sección B representa los principios clásicos de los fenómenos luminiscentes. Adicionalmente dentro de la sección B existe un apartado dedicado a los diferentes mecanismos fotofísicos que pueden observarse en el diseño de quimiosensores luminiscentes para iones y moléculas neutras. Una justificación de este apartado radica en el amplio arsenal de receptores artificiales para detectar iones o moléculas neutras a través de alguno de los mecanismos fotofísicos clásicos, uno de estos mecanismos de respuesta, el más popular, reside en la interacción directa entre el “analito (huésped)” y el “receptor (anfitrión)”, este último, generalmente posee grupos fluorogénicos capaces de transducir una señal óptica que es monitoreada por métodos convencionales de análisis. La sección C describe las principales interacciones dinámicas covalentes y no covalentes que intervienen en los sistemas anfitrión-huésped, como los enlaces de hidrógeno, el apilamiento  $\pi$ , la formación de pares iónicos, las fuerzas de van der Waals, etc. Cabe resaltar que el entendimiento de la naturaleza de los enlaces de hidrógeno y el enlace de coordinación han permitido diseñar receptores para una amplia gama de moléculas de importancia biológica, por lo cual, el enlace de hidrógeno y el enlace de coordinación, se consideran como algunas de las interacciones más importantes en química supramolecular.

## SECCIÓN A. RECONOCIMIENTO MOLECULAR.

El reconocimiento molecular es un fenómeno dinámico por el cual una molécula anfitriona llamada “receptor”, se asocia a través de interacciones supramoleculares a un huésped llamado “sustrato” para formar un sistema más complejo denominado “anfitrión-huésped”. Construir estructuras anfitrión-huésped mediante interacciones dinámicas, principalmente no covalentes, es el objetivo primordial de esta área de la química supramolecular.

### 1. Sistemas Anfitrión-Huésped.

El reconocimiento molecular está determinado por la energía y la información involucrada en la selección y anclaje del sustrato por una molécula receptora dada.<sup>9</sup> Se han designado varios términos en referencia al proceso de asociación entre dos moléculas. El primero corresponde a Cram que introdujo el término “anfitrión-huésped”, y el segundo corresponde a Ehrlich con “sustrato-receptor”, más enfocado a sistemas biológicos. En ambas acepciones, hay una analogía entre anfitrión-huésped y sustrato-receptor. El receptor es una estructura molecular capaz de unir selectivamente sustratos mediante diferentes interacciones no covalentes, aunque en algunos casos lo hace a través de enlaces covalentes dinámicos, proporcionando un ensamblaje efectivo de dos o más especies moleculares, el reconocimiento de un anfitrión hacia un huésped está dirigida por la sinergia de interacciones dinámicas (covalentes y no covalentes) que participan simultáneamente en ese proceso.<sup>10</sup>

El reconocimiento molecular es la base del procesamiento de la información a nivel supramolecular. Este puede dar lugar a cambios en las propiedades electrónicas, iónicas, ópticas o conformacionales de una especie supramolecular, generando con esto una señal.<sup>11</sup> Para conseguir un alto nivel de reconocimiento (afinidad y selectividad) de un receptor hacia un sustrato determinado, se necesitan tomar en cuenta los siguientes aspectos:<sup>12</sup>

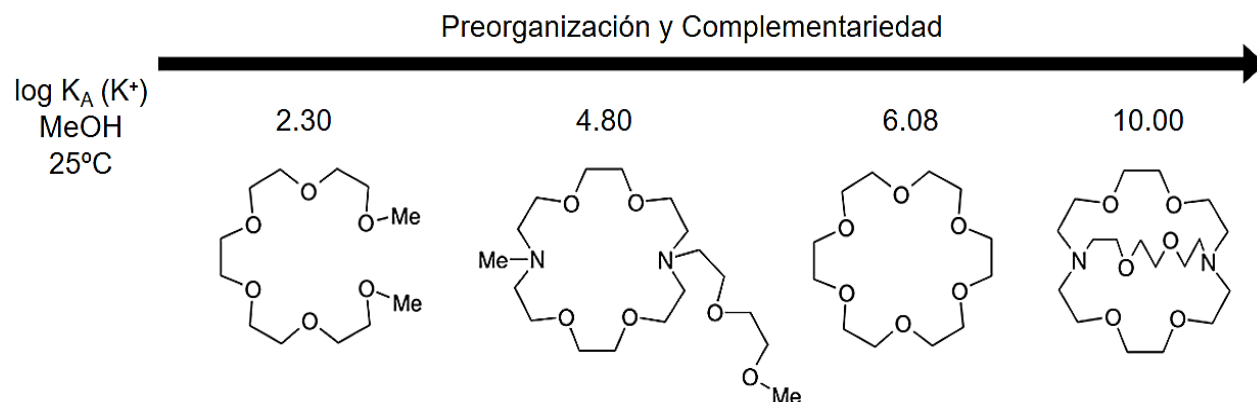
#### a. Complementariedad:

Para reconocer una molécula, el anfitrión debe tener el mayor número posible de sitios de enlace con carácter electrónico complementario a aquellos que posee el huésped. Por ejemplo: catión-anión, dipolo negativo-dipolo positivo, ácido de Lewis-base de Lewis, catión-dipolo negativo, anión-dipolo positivo, etc. También es preferible que exista una complementariedad geométrica. (Ver esquema 1.1)



b. Preorganización:

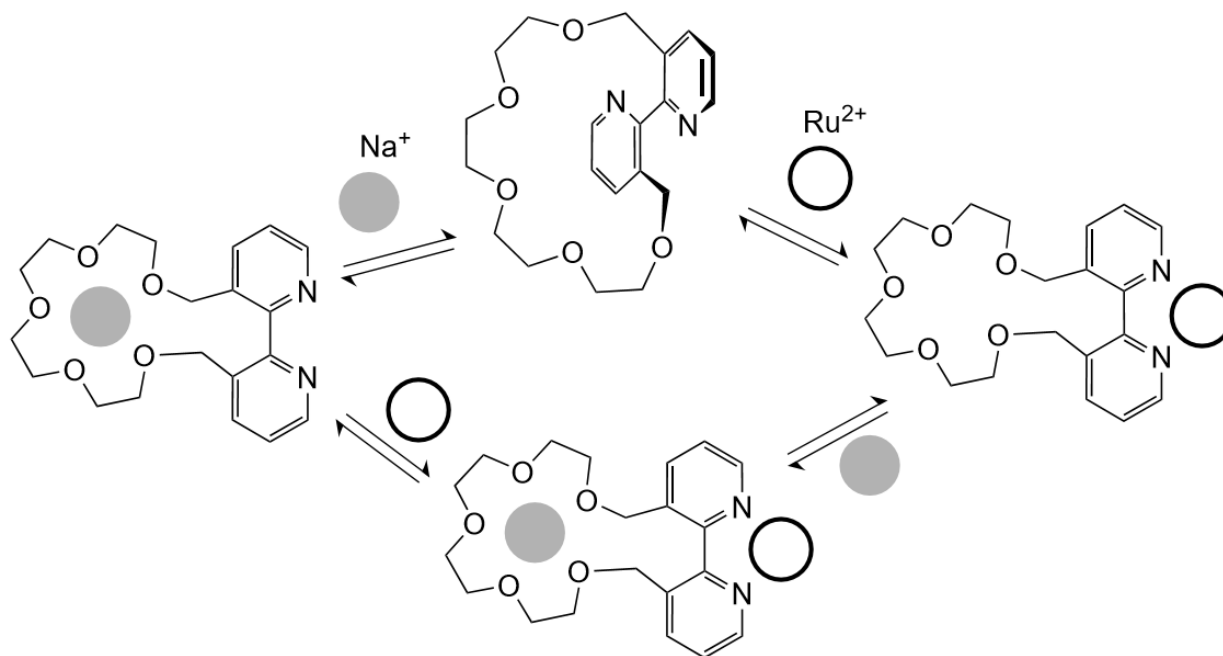
Un anfitrión con una elevada preorganización experimenta un cambio conformacional mínimo tras enlazarse con el huésped. En general cuando más organizados para la unión están el receptor y el sustrato, más estable será su complejo.



**Esquema 1.1** Efecto de preorganización y complementariedad sobre log  $K_A$  de anfitriones poliéter para  $K^+$ .<sup>12</sup>

c. Cooperatividad:

Fenómeno producido por receptores que presentan diversos sitios de unión. Cuando un sustrato se une a una subunidad del receptor, el resto de las subunidades son estimuladas y se activan para favorecer la interacción de otro sustrato. (Ver esquema 1.2).



**Esquema 1.2** Efecto de cooperatividad para facilitar la interacción de  $Na^+$  tras la preorganización de un poliéter con  $Ru^{2+}$  y viceversa.<sup>12</sup>

- d. Efectos del Disolvente: Los disolventes pueden tener un efecto en la solubilidad, estabilidad y velocidad de reacción, así que la elección del disolvente apropiado permite el control cinético y termodinámico en el proceso de reconocimiento molecular.

## 2. Respuesta al Reconocimiento Molecular: Receptores como Quimiosensores.

Los dispositivos basados en procesos de reconocimiento molecular, son moléculas anfitrionas mediante las cuales se transduce una señal, dicha señal es inducida por la asociación de un huésped, por lo tanto, para que un anfitrión funcione como quimiosensor, este debe ser capaz de transformar información química en una señal analítica, esto como consecuencia de la interacción con un sustrato (analito).<sup>13</sup> En este proceso de reconocimiento, la información a nivel molecular, como la presencia o ausencia de determinadas especies en disolución se amplifica a nivel macroscópico, permitiendo por tanto su determinación cualitativa o cuantitativa. Típicamente los receptores que funcionan como quimiosensores son moléculas de origen abiótico que son capaces de enlazar selectiva y reversiblemente a un analito de interés con un cambio concomitante en alguna de las propiedades del sistema, tales como potencial redox, espectros de absorción o fluorescencia, entre otras.<sup>14</sup>

Un quimiosensor constará de al menos un centro de reconocimiento molecular y un centro de generación de señal.<sup>11</sup> El centro de reconocimiento molecular (unidad receptora) debe poseer todas las características citadas anteriormente, estas deben ser apropiadas para el tipo de analito que se desea reconocer. El centro de generación de la señal (unidad de señalización) es el encargado de poner en contacto el ambiente molecular con el mundo macroscópico, comunicando de alguna forma que se ha llevado a cabo la interacción quimiosensor-analito. Esta comunicación tiene lugar a través de la variación de una propiedad bien definida que puede ser medible fácilmente a través de un instrumento. De esta manera, podemos utilizar como indicador una variación en la intensidad de una banda tanto de absorción como de emisión en la región del UV-Vis, el desplazamiento de una señal en RMN o el de una onda voltamperométrica.<sup>14</sup> La emisión de fluorescencia es una propiedad muy apropiada para este fin, por varias razones, entre las que podemos destacar la simplicidad de la instrumentación para su detección, la alta sensibilidad que permite la detección del sustrato a nivel de trazas y lo más interesante, que se puede percibir visualmente incluso a muy bajas concentraciones.<sup>15</sup>

## SECCIÓN B. LUMINISCENCIA Y QUIMIOSENSORES ÓPTICOS

La IUPAC define a la luminiscencia como la emisión espontánea de radiación de una especie electrónicamente excitada que no se encuentra en equilibrio térmico con su entorno,<sup>16</sup> dicho en otras palabras, la luminiscencia es la emisión de luz desde un estado electrónicamente excitado y dicha emisión de luz no está relacionada con la incandescencia de una sustancia. Si la excitación es provocada mediante la absorción de luz el fenómeno se conoce como fotoluminiscencia.<sup>17</sup>

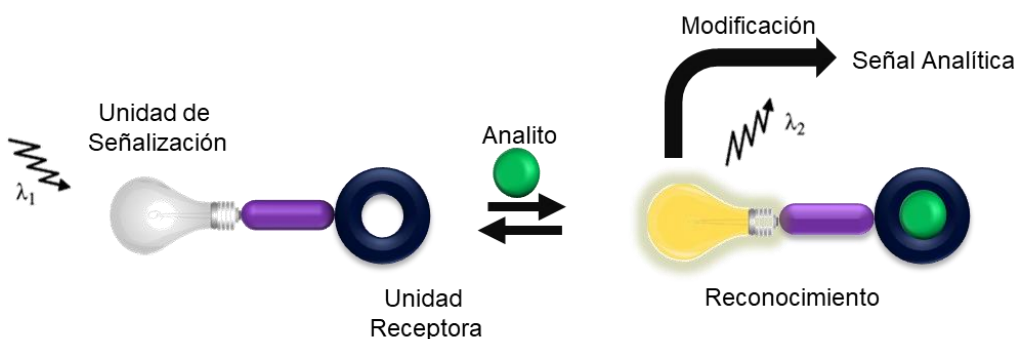
Aquellos quimiosensores basados en fenómenos fotofísicos se denominan quimiosensores ópticos y la fotoluminiscencia es el fenómeno fotofísico más utilizado para el diseño de quimiosensores.

### 1. Quimiosensores Moleculares Ópticos.

La selección de moléculas receptoras con capacidad de indicar su interacción con el sustrato mediante la transmisión de algún tipo de señal ha conducido a la obtención de los denominados sensores o quimiosensores moleculares.

Hay dos procesos básicos que ocurren en la detección del analito: el reconocimiento molecular y la transducción de la señal. Por sus propiedades, los quimiosensores ofrecen interesantes y atractivas posibilidades de aplicación en el campo de las ciencias químicas analíticas; de hecho, nos permiten llevar a cabo mediciones en tiempo y espacio real cuando se utilizan inmovilizados en superficies o incluso libres en disolución.<sup>13</sup>

Los quimiosensores se pueden clasificar de manera general tomando en cuenta su diseño o respuesta de señalización.<sup>18</sup> (Ver esquema 1.3).

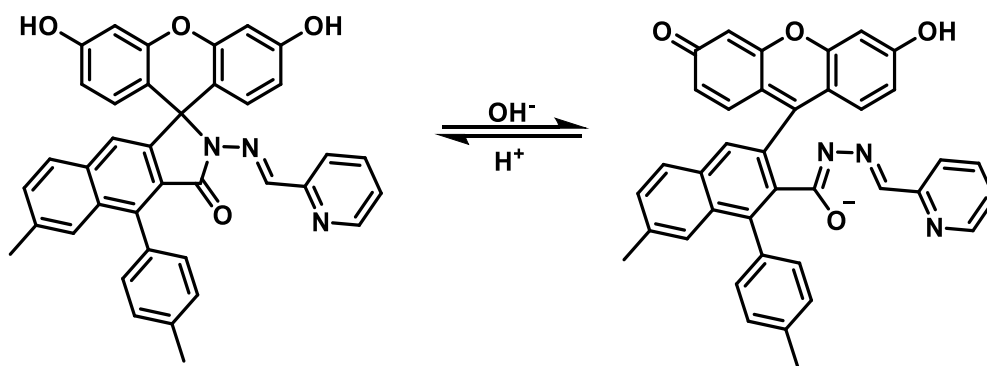


**Esquema 1.3** Respuesta al reconocimiento molecular; Funcionamiento de quimiosensores.

### 1.1 Quimiosensores Basados en su Diseño Molecular.

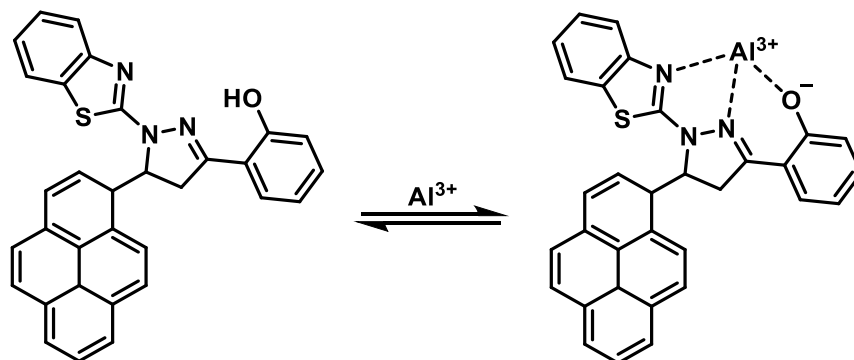
Dentro de los quimiosensores basados en su diseño molecular podemos encontrar diferentes situaciones estructurales:

- a. Quimiosensores Intrínsecos: La unidad receptora es la unidad de señalización. Muchas veces, el analito es un  $H^+$  y a estos sensores se les denomina “indicadores de pH”. Si el analito es un ion, se utiliza frecuentemente el término “agente quelante”.<sup>19</sup> (Ver ejemplo; esquema 1.4)



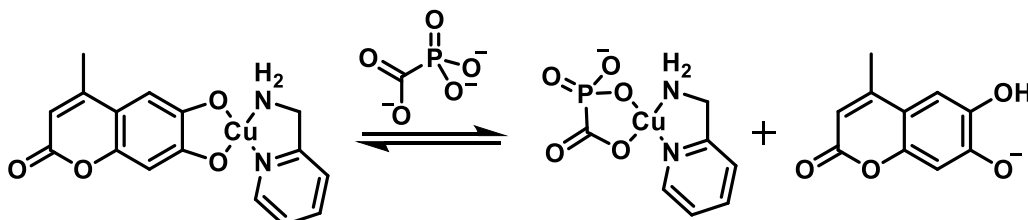
**Esquema 1.4** Quimiosensor colorimétrico y fluorescente para el monitoreo de pH. El xanteno funciona como una unidad receptora y como unidad de señalización.<sup>20</sup> El xanteno en su forma aniónica cambia de color e incrementa su fluorescencia.

- b. Quimiosensores Conjugados: La unidad de señalización está directamente integrada a la unidad receptora o bien, está espaciada a través de enlaces covalentes a la unidad receptora. (Ver ejemplo; esquema 1.5) El analito se asocia a la unidad receptora de forma reversible, provocando un cambio en las propiedades de la unidad de señalización, indicativo de que la interacción receptor-analito se ha producido.<sup>21</sup>



**Esquema 1.5** Quimiosensor fluorescente para Al (III). La unidad receptora derivada de pirazolina se encuentra unida covalentemente al fluoróforo de pireno que funciona como una unidad de señalización. La interacción del Al (III) con el quimiosensor se visualiza en un incremento en la emisión de fluorescencia.<sup>22</sup>

- c. Quimiosensores Ensamblados: El centro de reconocimiento y la unidad de señalización se encuentran unidos a través de interacciones supramoleculares. (Ver ejemplo; esquema 1.6) Cuando se añade un determinado analito a la disolución de este ensamble, se produce una reacción de desplazamiento por lo que la unidad receptora pasa a formar un complejo con el analito, desplazando a la unidad de señalización hacia la disolución. La unidad de señalización recupera su comportamiento espectroscópico no coordinado.<sup>23</sup>

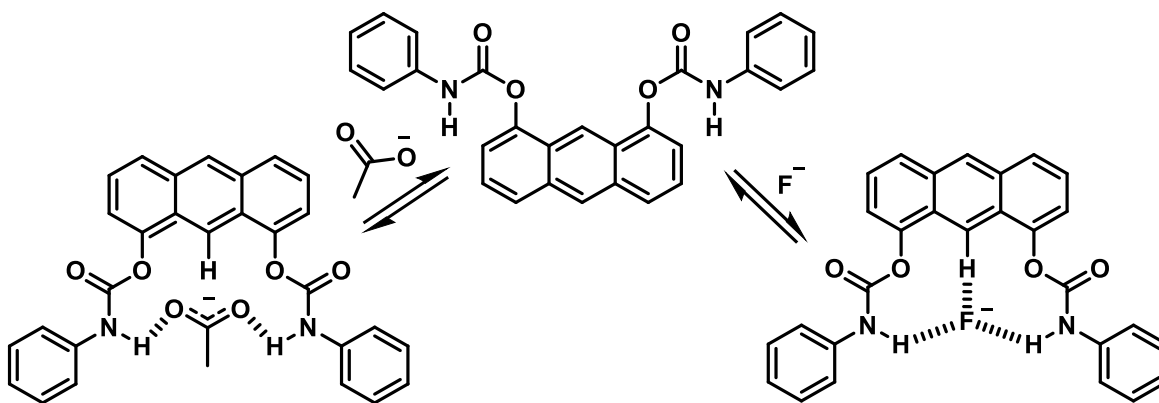


**Esquema 1.6** Quimiosensor para foscarnet, un antiviral de amplio espectro para tratar herpes y VIH. La unidad receptora corresponde a un complejo de Cu (II):2-picolilamina y la unidad de señalización corresponde a un fluoróforo derivado de cumarina.<sup>24</sup>

## 1.2 Quimiosensores Basados en su Respuesta de Señalización.

Basándonos en la respuesta de señalización los quimiosensores ópticos se pueden clasificar en cromogénicos y/o fluorescentes, ambos pueden ser intrínsecos, conjugados o ensamblados. (Ver ejemplo: esquema 1.7)

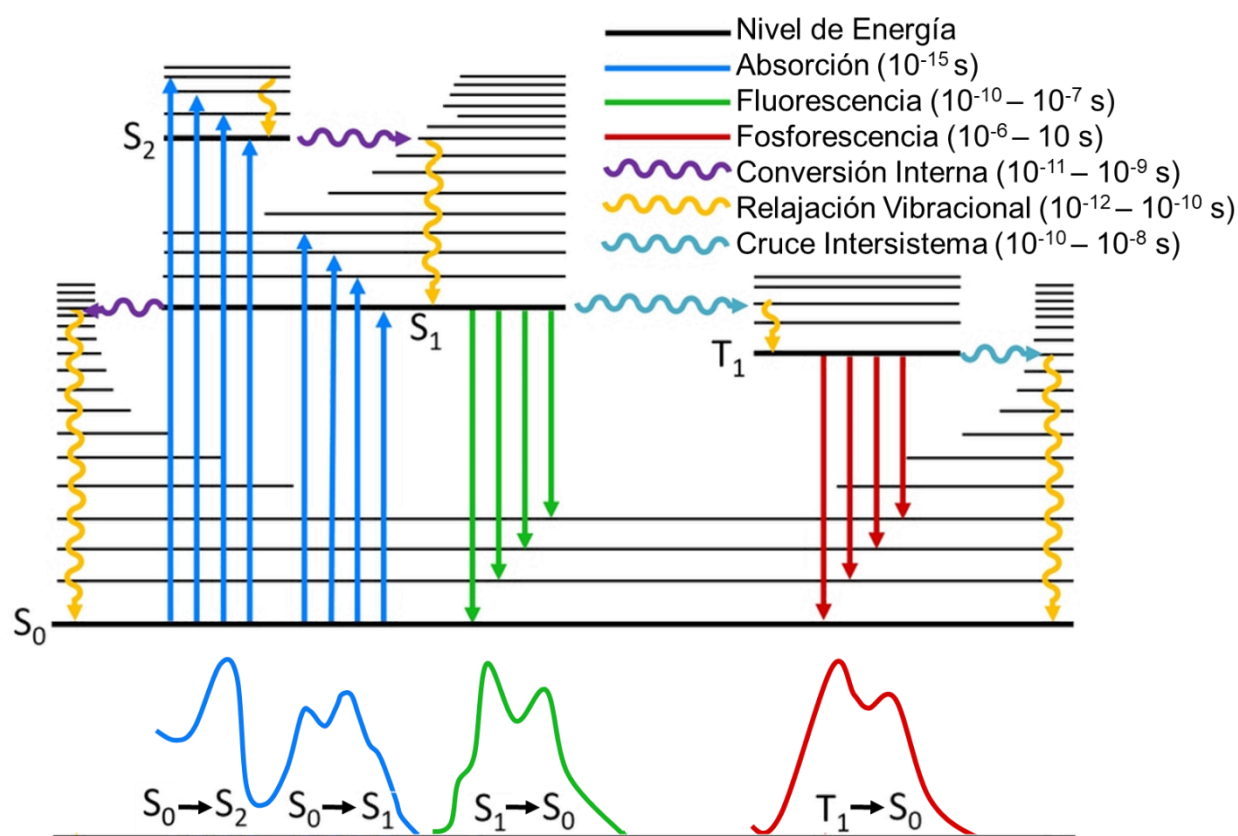
- a. Quimiosensores Fluorescentes: Dispositivos que tienen la capacidad de interactuar selectiva y reversiblemente al sustrato con un cambio simultáneo en la fluorescencia.
- b. Quimiosensores Cromogénicos: Dispositivos que tienen la capacidad de interactuar selectiva y reversiblemente al sustrato con un cambio de color.



**Esquema 1.7** Quimiosensor cromogénico y fluorescente para aniones como acetato y fluoruro. La unidad receptora corresponde a grupos amida y la unidad de señalización corresponde a un fluoróforo de antraceno.<sup>25</sup>

## 2. Mecanismos Fotoluminiscentes en Quimiosensores Ópticos.

Los mecanismos fotoluminiscentes de una molécula comienzan con la absorción de fotones de una fuente externa para promover un electrón de su estado fundamental a un estado excitado. Posteriormente el electrón puede decaer a su estado fundamental mediante relajación vibracional entre niveles electrónicos diferentes o dentro del mismo nivel electrónico. En ocasiones el electrón situado en un estado excitado puede decaer emitiendo un fotón desde niveles con la misma multiplicidad de espín (fluorescencia) o a través de niveles electrónicos con diferente multiplicidad de espín (fosforescencia).



**Esquema 1.8** Diagrama de Jablonski. Representa los niveles de energía de un sistema luminescente. Las flechas continuas indican transiciones radiativas de un fotón. Las flechas ondulatorias representan transiciones no radiativas.

Dichos procesos se pueden observar en el esquema 1.8, donde  $S_0$  es el estado electrónico ocupado de mayor energía (HOMO), es decir el estado basal o fundamental,  $S_n$  ( $n=1,2,3\dots$ ) son los estados electrónicos singulete excitados y  $T_n$  ( $n=1,2,3\dots$ ) son los estados electrónicos triplete excitados. Cada uno de estos procesos sucede en intervalos de tiempo diferentes, lo que repercute en la eficiencia en la cual una molécula absorbe y emite fotones.

Del diagrama de Jablonski y los tiempos de vida media de los mecanismos fotoluminiscentes podemos deducir lo siguiente:<sup>26</sup>

- a. La absorción se lleva a cabo sin un cambio en las coordenadas nucleares debido a que el movimiento de los electrones es mucho más rápido que el de los núcleos (Principio de Frank-Condon). De acuerdo con este principio, todas las transiciones son verticales, es decir, ocurren sin cambio en la posición del núcleo y mientras más sobreposición haya entre el nivel vibracional máximo alcanzado y  $S_1$ , más rápido regresará a  $S_1$ .
- b. La emisión siempre se llevará a cabo desde el estado excitado de menor energía ( $S_1$  o  $T_1$ ) debido a que la relajación vibracional es más rápida que cualquiera de los procesos de decaimiento radiante (Regla de Kasha). Dicho en otras palabras, la emisión de fluorescencia o fosforescencia sucede desde el estado excitado de menor energía.
- c. El rendimiento cuántico de la fluorescencia y fosforescencia son independientes de la frecuencia de la excitación (Regla de Vavilov). Para un mismo sistema se observa usualmente el mismo espectro de emisión, independiente de cuál haya sido la longitud de onda de excitación.
- d. La longitud de onda de emisión debe ser igual o menor a la longitud de onda de absorción debido a que se pierde energía mediante mecanismos no radiativos (Regla de Stokes). Cuando el fotón emitido tiene menos energía que el fotón absorbido, esta diferencia de energía se refleja como el desplazamiento de Stokes. Existen casos particulares en los que la radiación absorbida es emitida sin cambio en la longitud de onda, a este fenómeno se le conoce como resonancia fluorescente.

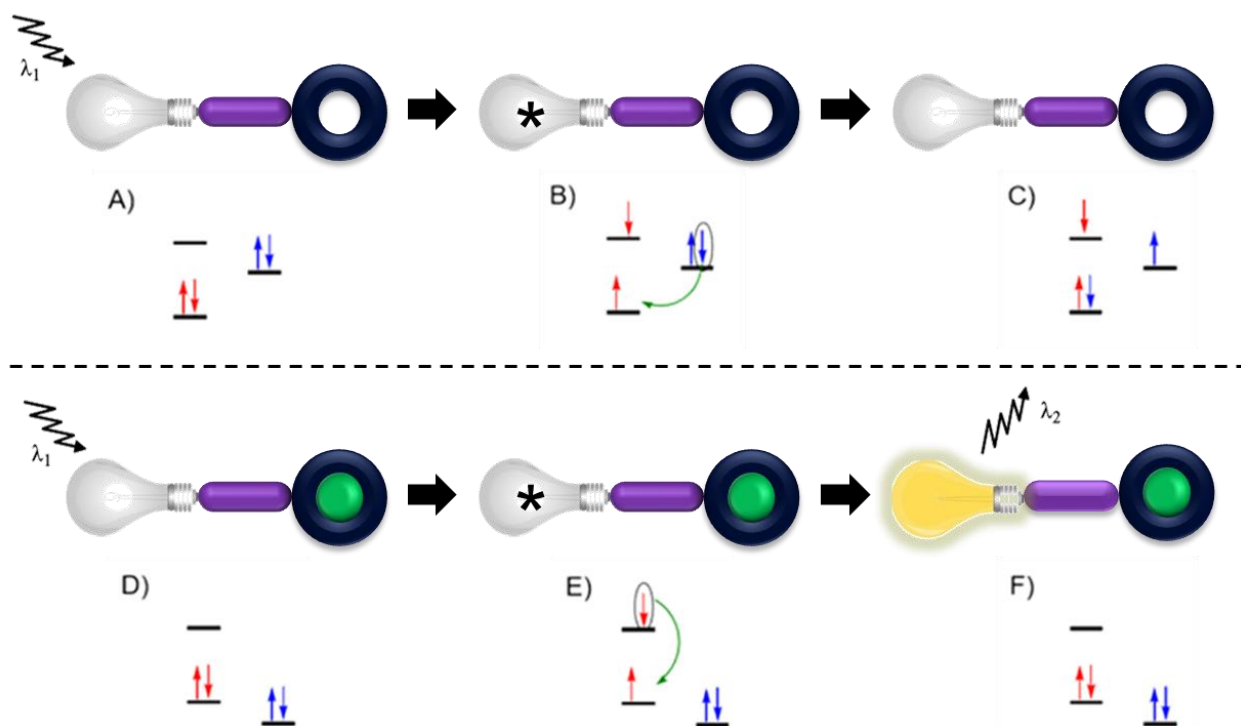
Una vez que una molécula es excitada por absorción de un fotón, puede volver al estado fundamental con emisión de luz, pero también son posibles otros muchos caminos de desactivación. Las interacciones en el estado excitado con otras moléculas también pueden competir con la desactivación. Estos caminos de desactivación que compiten con la emisión de fluorescencia o fosforescencia tienen lugar en una escala de tiempo comparable con el tiempo de vida media durante el cual las moléculas están en el estado excitado. La asociación del huésped (analito) puede contribuir tanto a incrementar como a reducir la intensidad de fluorescencia y en otros casos, lo que se obtiene son desplazamientos en los máximos de emisión, mismos que también conducen a una variación en la intensidad de fluorescencia.

Dada la complejidad de los estados excitados no siempre resulta fácil interpretar cuál es el papel del huésped en el cambio de la emisión del quimiosensor al formarse el complejo, razón por la cual a continuación se describe brevemente los mecanismos más conocidos que conducen al cambio de emisión de los quimiosensores.

## 2.1 PET (Transferencia Electrónica Fotoinducida).

El efecto electrónico más ampliamente utilizado en el desarrollo de quimiosensores fluorescentes para propósitos de detección de cationes, aniones y moléculas neutras, es la transferencia electrónica fotoinducida, más conocida como PET (Photoinduced Electron Transfer).<sup>11,19,27</sup> El PET es un proceso de transferencia electrónica que ocurre a distancia entre una molécula en estado excitado (fluoróforo) y alguna otra especie que puede actuar como dador o aceptor (amortiguador). El proceso está controlado por las energías relativas de los orbitales HOMO-LUMO del fluoróforo y de un orbital molecular externo. En general, se pueden presentar dos casos:<sup>11,18,19,21,23,27,29.</sup> (Ver esquemas 1.9-1.10).

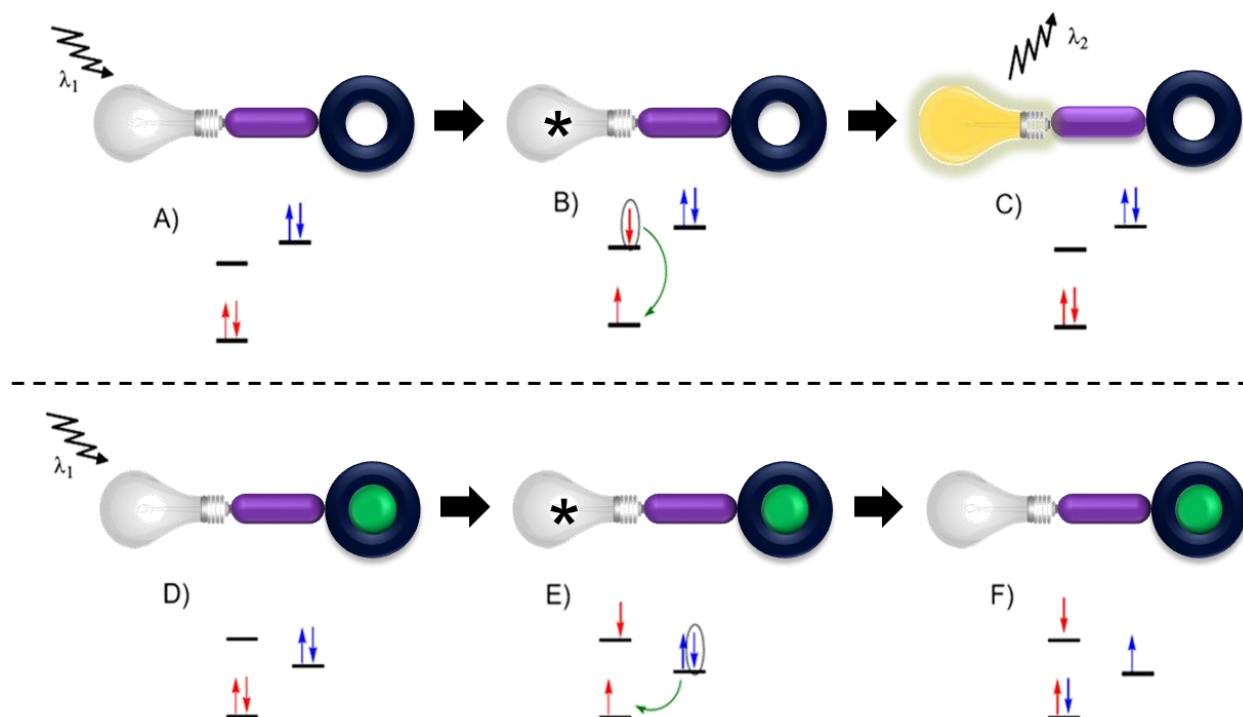
- a. Quimiosensores tipo Off/On, donde la fluorescencia natural del fluoróforo que estaba considerablemente reducida en el receptor, se restaura tras el proceso de asociación con el analito.



Esquema 1.9 Mecanismo PET en sensores Off/On.



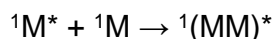
- b. Quimiosensores tipo On/Off: donde la asociación del analito mitiga considerablemente la fluorescencia del receptor.



Esquema 1.10 Mecanismo PET en sensores On/Off.

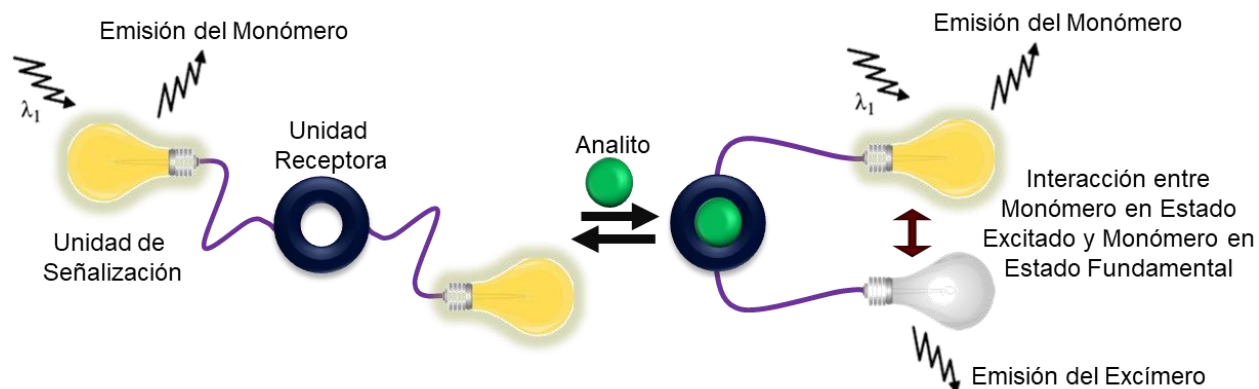
## 2.2 Formación de Excímeros.

Un excímero es un dímero de fluoróforos idénticos que se forma en el estado excitado (del inglés excited dimer). Se forma por colisión entre un fluoróforo excitado y un fluoróforo idéntico no excitado:

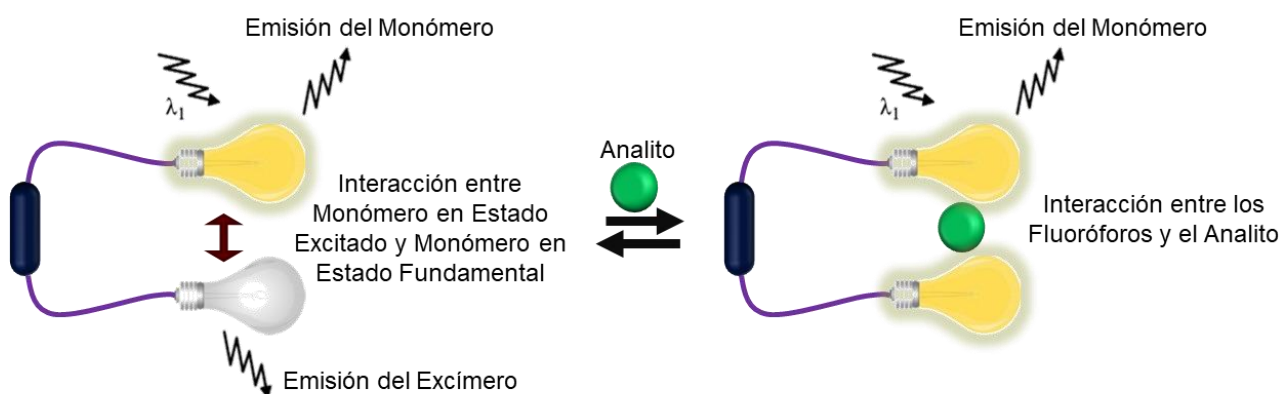


La representación simbólica  $(MM)^*$  intenta describir que la energía de excitación está deslocalizada sobre los dos monómeros. Una vez que se relaja la molécula, el excímero se disocia. La banda correspondiente a un excímero se localiza a  $\lambda$  mayores que la correspondiente al monómero y además nunca exhibe bandas vibrónicas.

Los sensores basados en la formación de excímeros se caracterizan por la presencia de dos fluoróforos idénticos que forman parte de la misma molécula, estos interactúan entre sí por apilamiento  $\pi$ . Podemos describir dos aproximaciones para el diseño de sensores basados en la formación Intramolecular de excímeros.<sup>18,19,21,23,27-32</sup> (Ver esquemas 1.11-1.12).



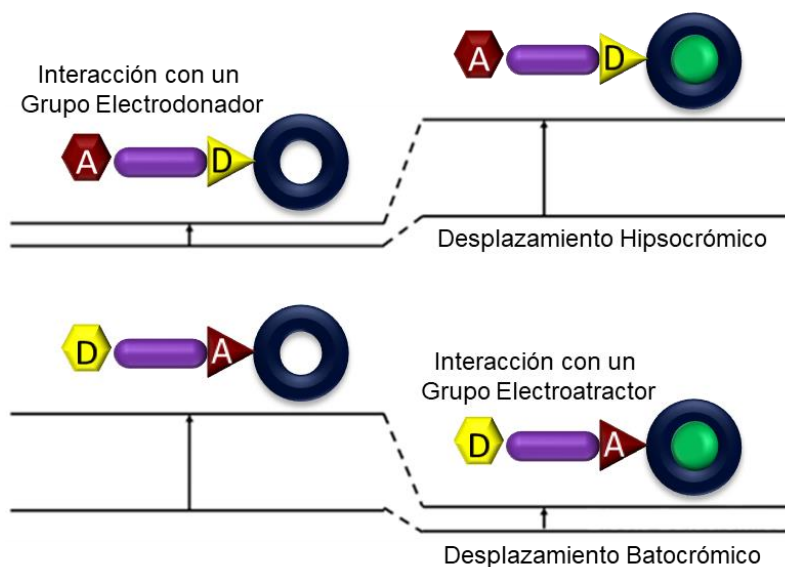
**Esquema 1.11** La interacción del analito induce la aproximación espacial entre los fluoróforos con la consiguiente aparición de la banda del excímero.



**Esquema 1.12** La interacción del analito impide la aproximación espacial entre los fluoróforos con la consiguiente desaparición de la banda del excímero.

### 2.3 PCT (Transferencia de Carga Fotoinducida).

Los quimiosensores basados en transferencia de carga fotoinducida (PCT) contienen un grupo electroattractor conjugado a un grupo electrodonador, cuando el quimiosensor absorbe luz, tiene lugar una transferencia de carga intramolecular desde el donador hacia el aceptor, con un cambio instantáneo en el momento dipolar del quimiosensor. Cuando un grupo donador de electrones interactúa con un analito de interés, el carácter electrodonador del grupo disminuye, por lo que el espectro de absorción manifiesta un efecto hipsocrómico y una reducción en la conjugación. Por el contrario, cuando el sustrato interactúa con un grupo aceptor de electrones, incrementa el carácter electroattractor del mismo, por lo que el espectro de absorción manifiesta un efecto batocrómico. El espectro de fluorescencia de quimiosensores PCT, en principio, seguirá la misma tendencia que el espectro de absorción. Además de estos efectos, se pueden observar cambios en el rendimiento cuántico y en los tiempos de vida media.<sup>30</sup> (Ver esquema 1.13)



**Esquema 1.13** Mecanismo de transducción del evento de reconocimiento molecular de un analito mediante un quimiosensor PCT.

## 2.4 Transferencia de Protón Fotoinducida.

Las propiedades ácidas o básicas de una molécula que absorbe luz no son las mismas en el estado fundamental o en el estado excitado. Una posible causa para este hecho experimental puede deberse a la redistribución de la densidad electrónica dentro de la molécula al promoverse un electrón del HOMO al LUMO. Los casos más interesantes son cuando los ácidos y las bases son más fuertes en el estado excitado que en el fundamental, porque en estos casos, la excitación puede producir una transferencia de protón fotoinducida. (Ver tabla 1.1) De este modo, el carácter ácido de un grupo donador de protones puede verse aumentado durante la excitación de manera que la constante de acidez en el estado excitado ( $pK^*$ ) es mucho más grande que el  $pK$  en el estado fundamental.<sup>31</sup>

**Tabla 1.1** Diferencia entre el  $pK$  en estado basal y el  $pK$  en estado excitado ( $pK^*$ ) para diversas moléculas.<sup>31</sup>

Compuesto	$pK$	$pK^*$
Fenol	10.00	3.60
2-naftol-6-sulfonato	9.10	1.60
2-naftol	9.46	2.81
2-naftilamina	7.1	12.2
Antraceno-9-carboxilato	3.00	6.50
Quinolina	4.94	5.80
Isoquinolina	5.40	6.10
2-aminopiridina	6.86	8.95
Acridina	5.45	10.30

## SECCIÓN C. INTERACCIONES EN QUÍMICA SUPRAMOLECULAR.

Las especies supramoleculares se mantienen unidas mediante una gran variedad de interacciones no covalentes, lo que las hace cinéticamente más lábiles y dinámicamente más flexibles que las moléculas. En términos generales estas son de menor fuerza comparándolas con un enlace covalente alcanzando valores de enlace entre 2-300kJ mol<sup>-1</sup>, mientras los enlaces covalentes se encuentran entre 150-450kJ mol<sup>-1</sup>. Este grupo de interacciones no covalentes o también mencionadas en algunas ocasiones como interacciones supramoleculares fueron reconocidas por primera vez por van der Waals en el siglo XIX.

## 1. Interacciones No Covalentes.

Las interacciones no covalentes constituyen la base de los procesos de autoensamblaje supramolecular, tanto en sistemas biológicos como sintéticos. Para poder diseñar sistemas artificiales con elevada eficiencia y selectividad, es importante conocer los distintos tipos de interacciones no covalentes. Dichas interacciones son generadas por fuerzas electrostáticas de diferente magnitud y pueden o no incluir cierto carácter covalente. Los criterios para clasificar las diferentes clases de interacciones no covalentes atienden a su energía, direccionalidad, distancia o ángulo de enlace.<sup>33</sup> (Ver tabla 1.2)

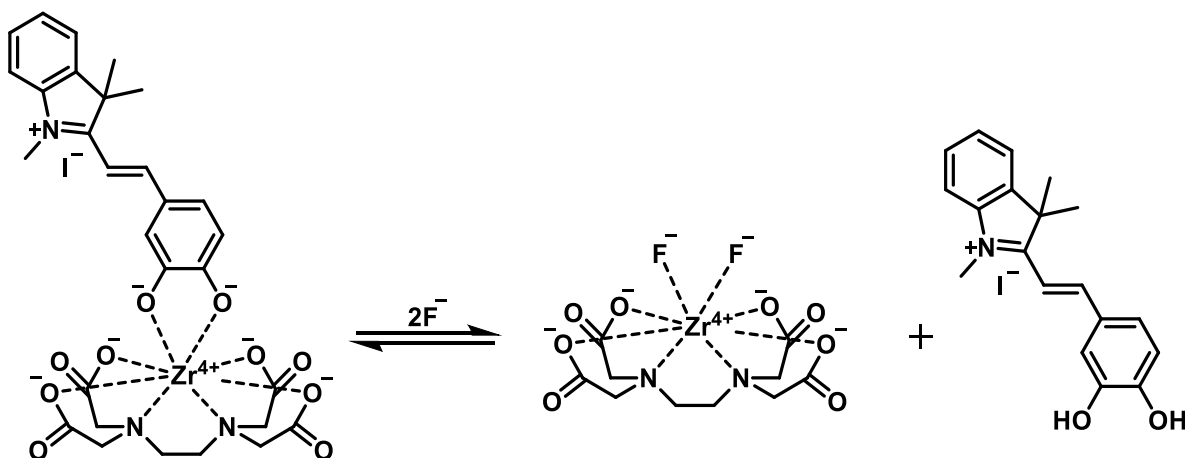
Tabla 1.2 Sumario de interacciones supramoleculares.<sup>33</sup>

Interacción	Energía kJmol <sup>-1</sup>	Direccionalidad	Ejemplo
Ión-Ión	200-300	No direccional	Cloruro de tetrabutilamonio
Ión-Dipolo	50-200	Moderadamente direccional	Na <sup>+</sup> - [15]corona-5
Dipolo-Dipolo	5-50	Moderadamente direccional	Acetona
Enlace de Hidrógeno	4-120	Direccional	Agua, ácido acético
Enlace de Halógeno	10-50	Direccional	CF <sub>3</sub> I-Py, S <sub>8</sub> -CHI <sub>3</sub>
Catión-π	5-80	Direccional	K <sup>+</sup> en benceno
Anión-π	2-40	Direccional	I <sup>-</sup> -Hexafluorobenceno
π-π	0-50	Moderadamente direccional	Grafito, ADN, benceno, pireno
Van der Waals	< 5	No direccional	Alcanos
Enlace de Coordinación	100-300	Direccional	Py-Metal

## 2. Enlace de Coordinación.

El enlace de coordinación es una interacción que se puede considerar de frontera, entre el modelo covalente y el modelo electrostático, la interacción ocurre cuando una base de Lewis dona un par de electrones a un ácido de Lewis. Es de fuerza intermedia, es reversible e implica un traslape entre los orbitales del metal y del ligante, por lo que suele tener energías de enlace cercanas a las de un enlace covalente (150-450 kJ/Mol), dicha energía depende del estado de oxidación del metal, de la capacidad donadora del ligante y de la polarizabilidad de ambos. Los enlaces de coordinación aportan funcionalidad a las estructuras supramoleculares provocando variaciones en las propiedades ópticas y magnéticas, a través de la coordinación de iones metálicos en ligantes, un ejemplo de ello son las metaloenzimas (Zn, Fe, Ni) que fijan y activan sustratos en un sinfín de rutas metabólicas.<sup>34</sup>

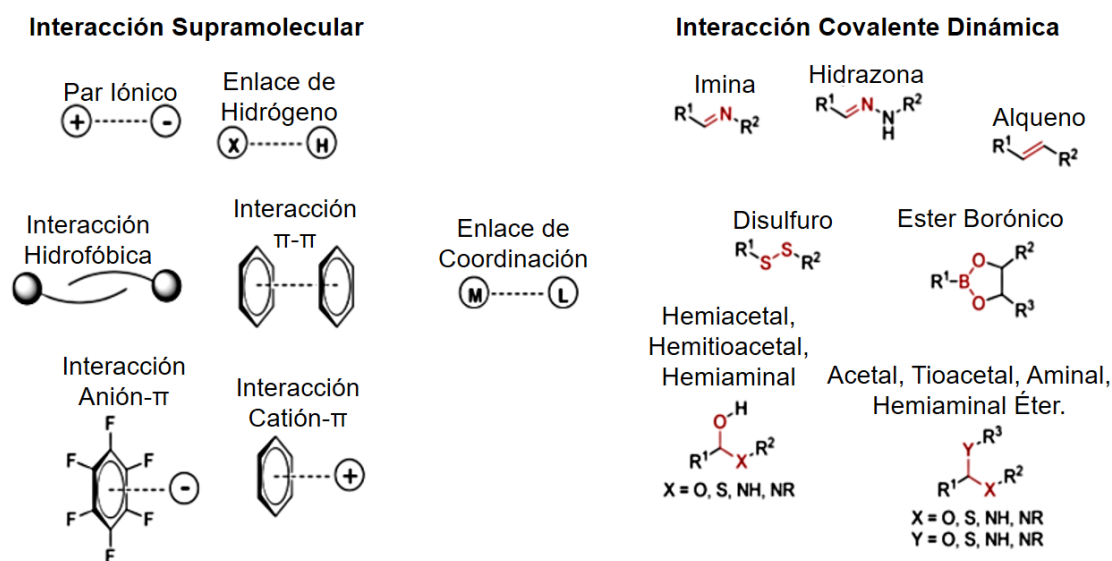
Un complejo de coordinación puede funcionar como quimiosensor (ver esquema 1.14) si este presenta sitios disponibles para coordinar algún huésped o bien, presenta labilidad en sus enlaces que propician el intercambio de un ligante por un huésped. Una ventaja del uso de quimiosensores ópticos a base de complejos de coordinación respecto a los quimiosensores ópticos orgánicos, es la inherente solubilidad en medios polares, la estabilidad termodinámica que se genera por la coordinación de bases de Lewis al centro metálico y las propiedades fotofísicas intrínsecas del propio metal.<sup>35</sup> Aquellos quimiosensores que reconocen un analito de interés a través de enlaces de coordinación con un centro metálico pueden tener la suficiente energía de enlace para estabilizar al complejo quimiosensor-analito a concentraciones micromolares en medio acuoso.<sup>36</sup>



**Esquema 1.14** Quimiosensor ensamblado para detectar fluoruro. El complejo de  $Zr^{4+}$ -EDTA coordina una hemicianina que posteriormente es desplazada cuando se adiciona fluoruro.<sup>37</sup>

### 3. Enlaces Covalentes Dinámicos

La química supramolecular ha evolucionado hacia la denominada química dinámica combinatoria. La dinámica combinatoria se produce introduciendo en las entidades supramoleculares enlaces reversibles (covalentes y no covalentes) que puedan formarse y romperse, con lo cual se permite un cambio continuo en su estructura supramolecular debido al intercambio y/o reorganización de sus constituyentes. En los últimos años, los nuevos receptores químicos sintéticos de naturaleza orgánica o inorgánica aplican estos principios derivados de la dinámica combinatoria, cuyo funcionamiento está constituido por el intercambio dinámico covalente (reversibilidad de enlaces disulfuro, formación de iminas o ésteres borónicos, etc.) y no covalente (enlaces de hidrógeno, apilamiento  $\pi$ , pares iónicos, etc.) que crean los ensamblajes anfitrión-huésped que dan lugar a modulaciones de señales (ópticas, electroquímicas, magnéticas, etc.) tras la adición de analitos.<sup>38</sup> (Ver esquema 1.15).

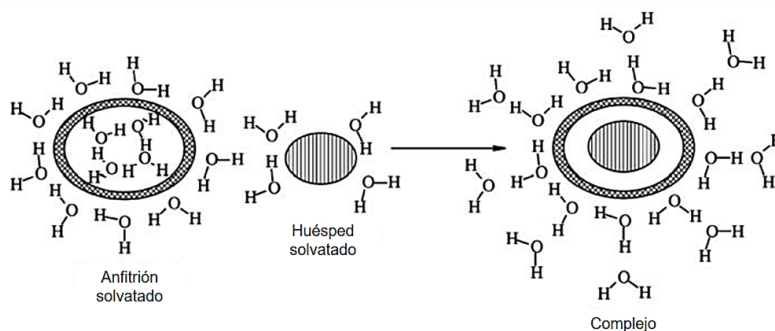


**Esquema 1.15** Ejemplos representativos de interacciones supramoleculares e interacciones covalentes dinámicas.<sup>38</sup>

Entre los enlaces covalentes dinámicos más representativos se encuentra la formación de enlaces disulfuro que suelen definir las estructuras terciarias en algunas proteínas como la insulina. Otro ejemplo es la formación de iminas en sistemas biológicos, a partir de la reacción entre una amina con un aldehído se inicia la síntesis de productos de glicación avanzada. Sin embargo, en las últimas décadas se han estudiado las reacciones entre ácidos borónicos y dioles, que dan origen a los respectivos ésteres borónicos.<sup>39</sup>

#### 4. Efecto Hidrofóbico.

El efecto hidrofóbico se puede definir como el conjunto de factores termodinámicos que son responsables del agrupamiento de especies o dominios no polares en un medio acuoso. El efecto hidrofóbico se divide en dos componentes energéticos, el entálpico y el entrópico. El componente entálpico ocurre cuando un huésped desplaza de la cavidad de un anfitrión moléculas de disolvente, comúnmente moléculas polares como  $H_2O$ . Normalmente la cavidad del anfitrión es hidrofóbica y las moléculas del disolvente polar ubicadas dentro de la cavidad no interactúan fuertemente con los grupos situados en su superficie. Al desplazarse a la matriz del disolvente se estabilizan por interacciones con otras moléculas de disolvente, disminuyendo su energía y, por lo tanto, su entalpía. El componente entrópico relaciona los grados de libertad del sistema. El agua que se encuentra previamente interaccionando dentro de la cavidad presenta menores grados de libertad, cuando estas son desplazadas de la cavidad, por la formación del complejo anfitrión-huésped, aumentan los grados de libertad del sistema y, por lo tanto, la entropía. El proceso se puede ver en el esquema 1.16.<sup>40</sup>

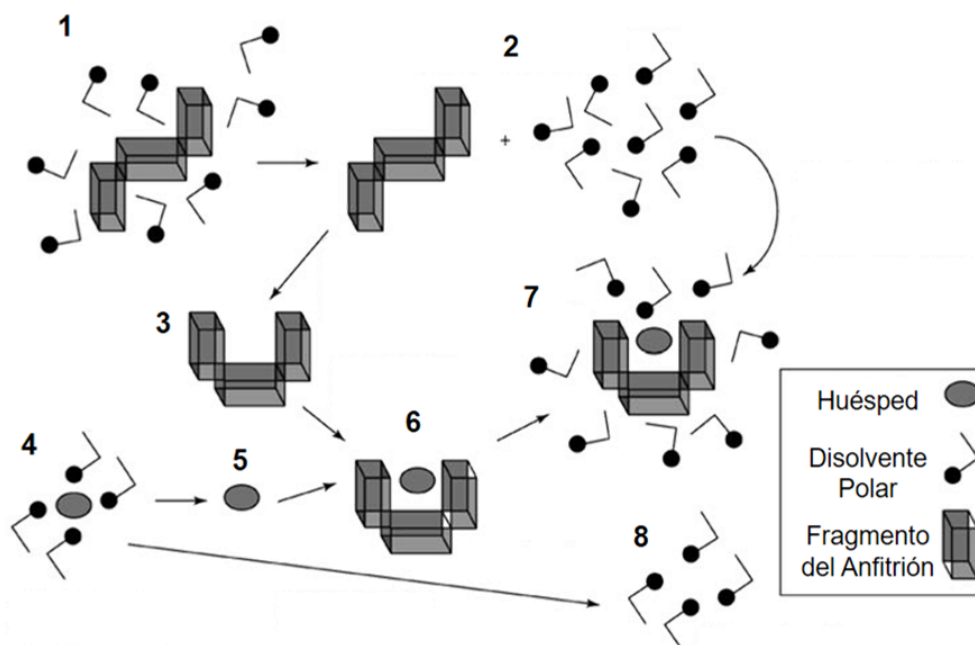


**Esquema 1.16** Interacción hidrofóbica entre un huésped orgánico y un anfitrión con cavidad hidrofóbica.<sup>40</sup>

#### 5. Solvatación.

En disolución todos los fenómenos de complejación se encuentran en competencia con la solvatación, esto se debe a que el disolvente se encuentra en exceso. Los disolventes polares, en particular el agua, compiten de manera muy eficaz por los sitios de unión de un anfitrión, en particular por enlaces de coordinación y enlaces de hidrógeno. Por lo tanto, la solvatación del huésped y/o del anfitrión puede tener un efecto muy marcado sobre la dinámica y energética de la asociación. Con el fin de que el fenómeno de asociación ocurra, deben romperse muchas interacciones entre el disolvente y los solutos (huésped y anfitrión) lo que tiene consecuencias tanto entálpicas y entrópicas. Este proceso de eliminación de disolvente se muestra de una manera simplificada en el esquema 1.17.

Entálpicamente, el proceso estará favorecido si la energía gastada para romper las interacciones del disolvente con los solutos (anfitrión y huésped) es mucho menor que la energía liberada por las interacciones que se forman por la asociación anfitrión-huésped. La eliminación de moléculas de disolvente desde el anfitrión y el huésped conduce a las moléculas de disolvente a un mayor número de grados de libertad en la disolución, lo que aumenta la entropía y también conduce a la formación de interacciones disolvente-disolvente. La elección del disolvente puede tener consecuencias significativas en la unión de un huésped.<sup>41</sup>



**Esquema 1.17** Proceso de solvatación durante la formación de complejos anfitrión-huésped.<sup>41</sup>

En el esquema 1.17 podemos observar los diferentes fenómenos termodinámicos que participan en el proceso de solvatación y formación de complejos anfitrión-huésped:

1. Anfitrión solvatado (interacciones hidrófobas y van der Waals).
2. Anfitrión desolvatado (entálpicamente desfavorable, entrópicamente favorable).
3. Arreglo conformacional del anfitrión (entálpicamente y entrópicamente desfavorable). Inecesario para anfitriones preorganizados.
4. Huésped solvatado (interacciones hidrófilicas).
5. Huésped desolvatado (entálpicamente desfavorable, entrópicamente favorable).
6. Formación del complejo anfitrión-huésped (entálpicamente favorable).
7. Solvatación del complejo anfitrión-huésped (entálpicamente y entrópicamente favorable).
8. Disolvente libre (entrópicamente favorable).



---

## CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES

El reconocimiento molecular de aniones es un área de gran interés dentro de la química supramolecular, debido a que las especies aniónicas (carboxilatos, nucleótidos, cofactores y sustratos de enzimas) juegan un papel importante en los procesos bioquímicos y ambientales. Si bien hay que tener algunas consideraciones muy importantes a la hora de diseñar un receptor selectivo para aniones, como lo es el tamaño, ya que, en comparación con los cationes, son más grandes y presentan una gran diversidad de geometrías. Otro parámetro importante, es el rango de pH para reconocer aniones, ya que este es muy acotado, es decir, no será igual reconocer al anión  $\text{PO}_4^{3-}$  que al  $\text{HPO}_4^{2-}$ , puesto que ni las cargas, ni la disposición de las mismas serán idénticas, sin embargo y pese a esto, a la fecha se han sintetizado muchos sistemas que han mostrado ser capaces de unir selectivamente y con gran afinidad a este tipo de huéspedes. Cabe mencionar que el conocimiento generado de estas investigaciones es la base del desarrollo de sensores y/o transportadores de aniones con aplicaciones en análisis y separación. Un área que ha recibido gran atención es el reconocimiento dirigido hacia nucleótidos, moléculas glicadas y neurotransmisores. Existe un gran número de sistemas capaces de unir mediante interacciones dinámicas este tipo de huéspedes, es por ello que este capítulo recopila únicamente los receptores más sobresalientes en el reconocimiento de nucleótidos como el GTP y neurotransmisores del tipo catecolamina como la L-DOPA. Aunque existe abundante investigación científica dirigida al reconocimiento de este tipo de huéspedes, es limitado el número de ejemplos que funcionan en medios polares próticos y aún más reducida la cifra en medio únicamente acuoso (de esta manera logramos centrarnos en un determinado tipo de sensores que pueden detectar nucleótidos o catecolaminas en disolución acuosa a pH fisiológico cercano al de la sangre). El capítulo está dividido en dos apartados, cada uno describe determinado tipo de receptores en función a los grupos funcionales o fragmentos que tienen el rol de ser unidades de señalización o unidades receptoras. Los apartados comprenden a receptores artificiales únicamente funcionales en agua que reconocen GTP y receptores ditópicos que contienen ácidos fenil borónicos que reconocen catecolaminas o moléculas glicadas en medio acuoso. Cada apartado recopila ejemplos de los últimos años.

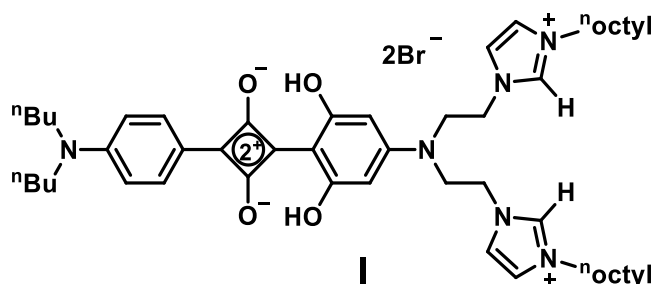
## SECCIÓN A: RECEPTORES ARTIFICIALES PARA GTP.

El reconocimiento selectivo y la detección de nucleótidos a través quimiosensores artificiales sigue siendo un área activa e importante en la química supramolecular y las ciencias analíticas.<sup>42-48</sup> Esto se debe a que los nucleótidos regulan una gran variedad de procesos celulares. Por ejemplo, el GTP sirve como fuente de energía para la síntesis de proteínas, la síntesis de ARN, el ciclo del ácido cítrico y la activación de las proteínas G. Los niveles normales de GTP en fluidos extracelulares como el plasma sanguíneo oscilan desde 0.4 a 24  $\mu\text{M}$ , concentraciones superiores a los niveles normales de GTP son un indicador químico de una variedad de enfermedades humanas, principalmente el cáncer.<sup>65-68</sup> El reconocimiento de GTP ha estado dominado por el uso de receptores artificiales que contienen matrices donadoras de enlaces de hidrógeno como sitios de asociación<sup>49-55</sup> y recientemente por nanomateriales ópticos.<sup>56,57</sup> Sin embargo, muchos de estos receptores requieren un codisolvente orgánico para funcionar, lo que limita seriamente las aplicaciones previstas para hacerlos funcionales en matrices biológicas.<sup>49</sup> Además, muchos de estos sensores no son particularmente selectivos y la interferencia de otros nucleótidos u otros fosfatos como el pirofosfato (PPi) o el flavín adenín dinucleótido (FAD) puede ser un problema.<sup>47,49,58-61</sup> La detección óptica de GTP en agua pura se puede lograr con colorantes fluorescentes orgánicos,<sup>50,51</sup> péptidos marcados con fluoróforos,<sup>62</sup> proteínas fluorescentes,<sup>63</sup> nanoclusters metálicos<sup>56</sup> y complejos luminiscentes de Tb (III) y Zn (II)<sup>57,64</sup> que experimentan una extinción inducida por complejación o una intensificación de la fluorescencia debido a la presencia de GTP. A continuación, se describen brevemente los receptores abióticos más sobresalientes en el reconocimiento de GTP.

### 1. Receptores Artificiales Basados en Moléculas Orgánicas.

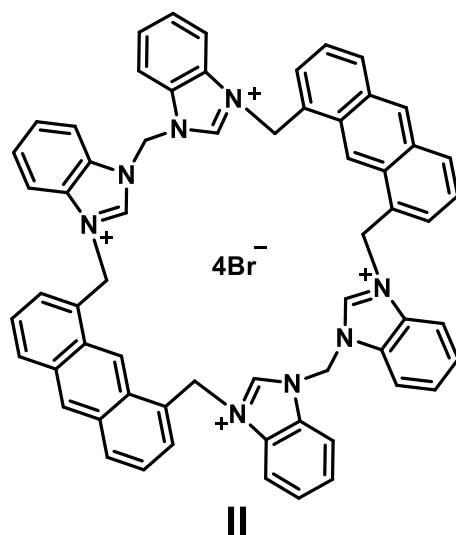
La escuaraína funcionalizada con grupos imidazolio **I** (ver esquema 2.1) es un quimiosensor colorimétrico y fluorimétrico que muestra selectividad por GTP en agua (pH 7.2; HEPES 10 mM) con un límite de detección de 5.4 ppb ( $1.04 \times 10^{-8}$  M). Cuando se adicionan cantidades crecientes de GTP a una disolución del quimiosensor, la forma monomérica de **I** comienza a formar agregados con el GTP a través de interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno entre los grupos imidazolio y los grupos fosfatos, por lo que la banda de absorción del monómero disminuye y comienza a aparecer la banda de los agregados que se intensifica gradualmente.

Por otra parte, el espectro de emisión de la forma monomérica de **I** emite fluorescencia roja en 675 nm a una  $\lambda_{ex}= 613$  nm, al adicionar cantidades crecientes de GTP a la disolución del monómero, se desencadena la extinción de la fluorescencia debida a la formación de agregados.



**Esquema 2.1** Quimiosensor colorimétrico y fluorescente basado en una escuaraina para la detección de GTP en disolución acuosa.<sup>50</sup>

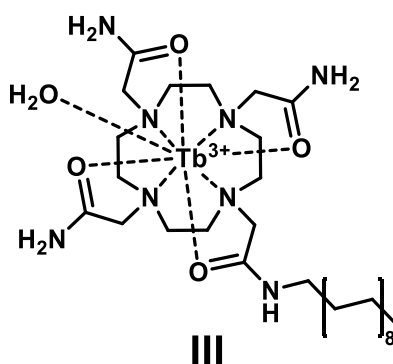
El quimiosensor **II** (ver esquema 2.2) es un ciclofano funcional en medio acuoso a pH 7.4 que reconoce selectivamente GTP con una constante de asociación de  $1.67 \times 10^4$  M<sup>-1</sup> y un límite de detección de  $4.22 \times 10^{-5}$  M. Contiene dos unidades fluorescentes de antraceno y cuatro unidades receptoras de bencilimidazolio. Adiciones crecientes de GTP a una disolución de **II**, disminuyen gradualmente la emisión de fluorescencia azul en 427 nm a una  $\lambda_{ex}= 367$  nm. La selectividad de **II** para GTP sobre otros nucleótidos puede atribuirse a una combinación de interacciones electrostáticas entre los heterociclos de imidazolio (C-H)<sup>+</sup> con los grupos fosfato del GTP e interacciones  $\pi$  entre los antracenos y la nucleobase del GTP.



**Esquema 2.2** Quimiosensor fluorescente basado en un ciclofano de antracenos y bencilimidazolios para la detección de GTP en disolución acuosa.<sup>51</sup>

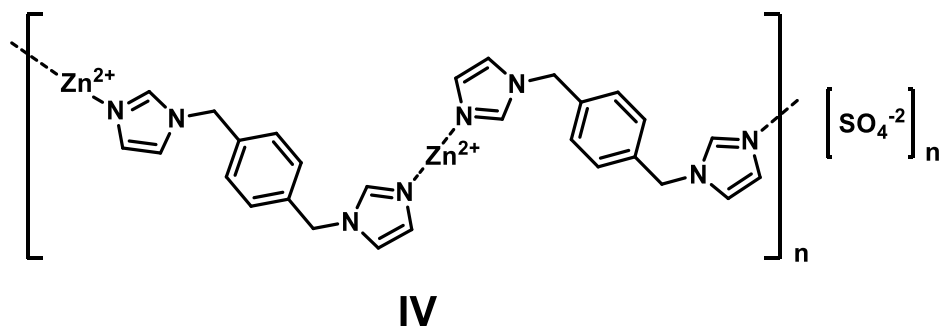
## 2. Receptores Artificiales Basados en Complejos de Coordinación.

El compuesto **III** es un quimiosensor anfifílico que consta de un complejo catiónico de Tb (III) y una cadena alifática hidrófoba (ver esquema 2.3). El quimiosensor se autoensambla espontáneamente en agua y forma vesículas estables a pH neutro. El compuesto **III** no tiene grupos aromáticos, por lo que se minimiza su luminiscencia intrínseca. Estas características conducen a que las unidades receptoras autoensambladas de Tb (III) exhiban una mayor intensidad de luminiscencia tras la coordinación de nucleótidos. La adición de GTP promueve un aumento de la luminiscencia del Tb (III) en 127 veces, ya que la energía luminosa absorbida por el grupo guanina del GTP se transfiere eficientemente al centro de Tb (III). La constante aparente de asociación de **III**/GTP es de  $4.18 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ .



**Esquema 2.3** Quimiosensor fluorescente basado en un complejo de Tb(III) para la detección de GTP en disolución acuosa.<sup>57</sup>

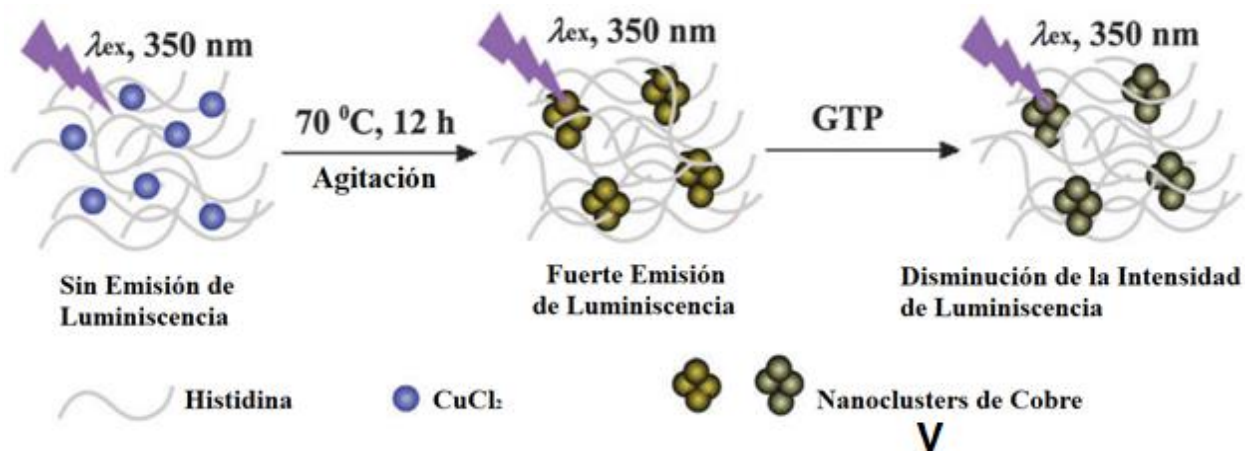
El polímero de coordinación de Zn (II) con 1,4-bis(imidazol-1-ilmetil) benceno (ver esquema 2.4) se usó como quimiosensor fluorescente para el reconocimiento radiométrico de GTP en disolución acuosa a pH 7.4. La fluorescencia de **IV** en 289 nm ( $\lambda_{\text{ex}} = 230 \text{ nm}$ ) decrece en presencia de GTP con la aparición de una nueva banda de emisión en 341 nm que se intensifica al incrementar la concentración de GTP. Un factor importante para el reconocimiento de GTP con **IV** es el efecto electrostático entre el Zn (II) y los grupos fosfato del GTP. Adicionalmente el N2 exocíclico (-NH<sub>2</sub>) de la base nitrogenada de guanina juega otro rol esencial en el reconocimiento, formando enlaces de coordinación con los centros de Zn (II). La recuperación de la fluorescencia del GTP de acuerdo con los autores podría atribuirse a la potenciación de la fluorescencia inducida por quelación (CHEF) por parte del Zn (II), cuya producción depende del proceso de transferencia electrónica fotoinducida (PET) intramolecular de la guanina.



**Esquema 2.4** Quimiosensor fluorescente basado en un polímero de coordinación de Zn (II) para la detección de GTP en disolución acuosa.<sup>64</sup>

### 3. Receptores Artificiales Basados en Nanomateriales.

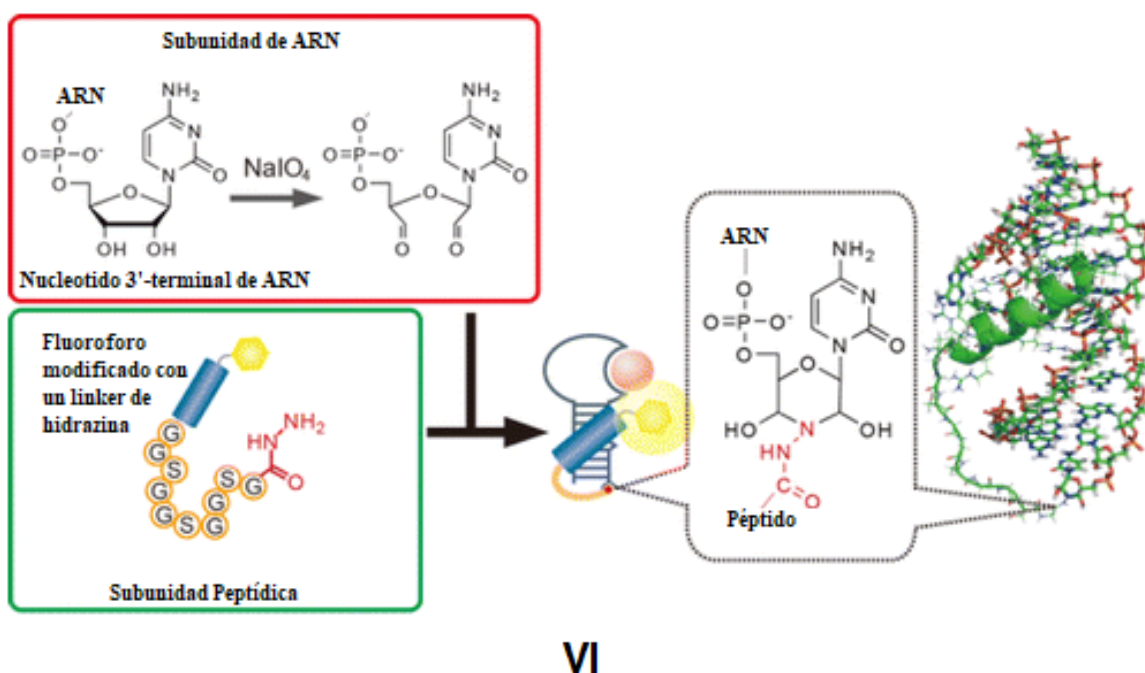
Los nanoclusters de  $\text{Cu}_n\text{His}_m$  ( $n= 3-6$ ,  $m= 2-3$ ) fueron sintetizados para detectar GTP en disolución acuosa a pH 7.8 usando un buffer de Tris-HCl (ver esquema 2.5). Tal aplicación para detectar aniones, especialmente el nucleósido trifosfato con nanoclusters, no se ha informado antes. Adiciones crecientes de GTP a una suspensión de **V** mitiga gradualmente la luminiscencia de los nanoclusters ( $\lambda_{\text{ex}}=350$  nm,  $\lambda_{\text{em}}=455$  nm). La buena selectividad de **V** por GTP sobre otros nucleósidos trifosfatos estructuralmente similares, incluidos ATP, CTP y UTP, puede atribuirse a la capacidad más reductora de la guanina entre las otras nucleobases y la extensión de la luminiscencia probablemente se deba a la transferencia de electrones entre la guanina y los nanoclusters. Los grupos fosfatos al parecer no juegan un rol importante en el proceso de reconocimiento, ya que el anión fosfato por sí solo no puede mitigar la luminiscencia de los nanoclusters.



**Esquema 2.5** Representación esquemática de la síntesis de **V** y su aplicación como quimiosensor para detectar GTP en disolución acuosa.<sup>56</sup>

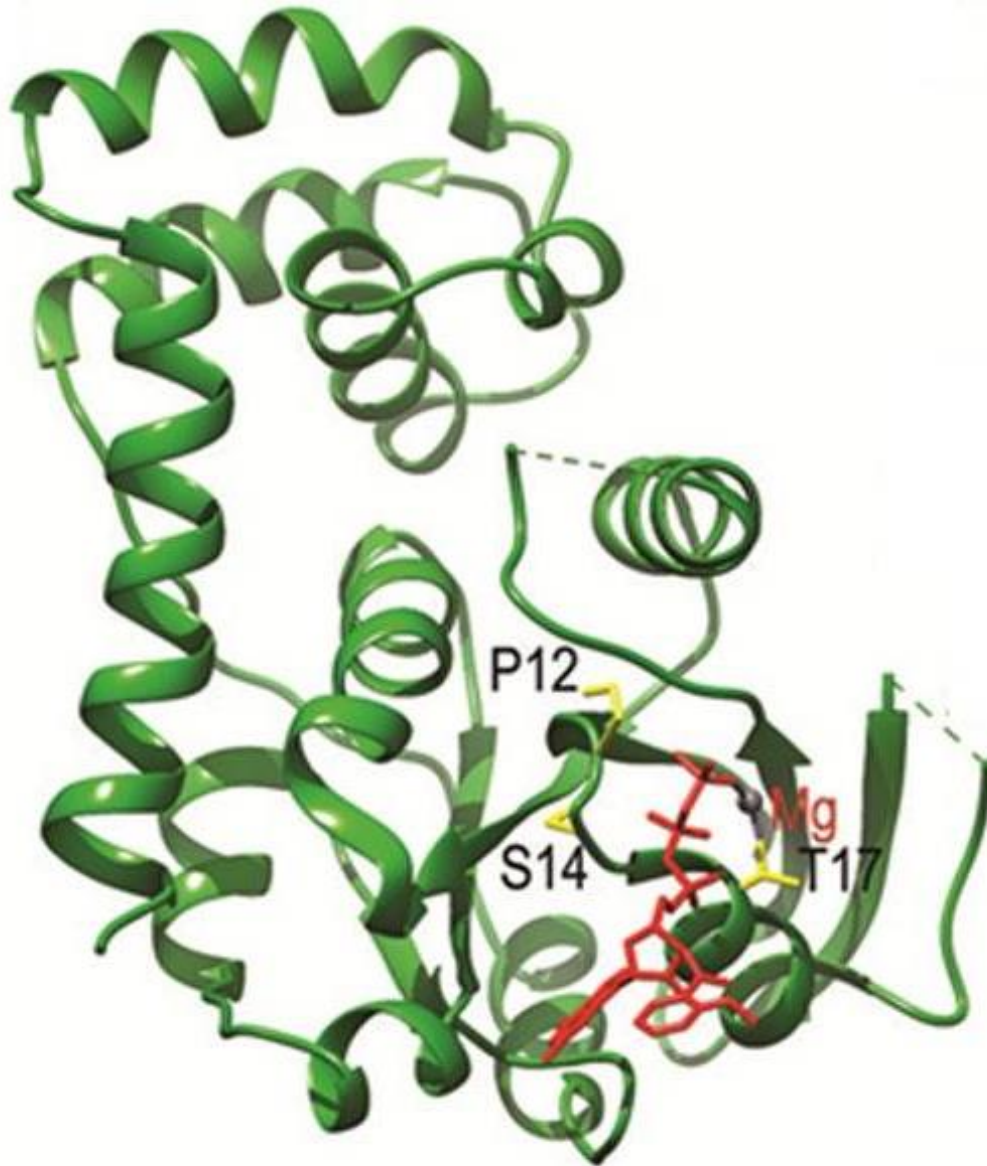
#### 4. Receptores Basados en Biomacromoléculas Modificadas.

El quimiosensor **VI** reconoce selectivamente GTP en disolución acuosa a pH 7.6 (25 °C). Es un ribonucleopéptido funcionalizado que consiste en dos subunidades covalentemente enlazadas a través de la formación de una hidrazona (ver esquema 2.6). La unidad de señalización es una sulfonamida que contiene un grupo pireno y la unidad de reconocimiento es una cavidad formada por el ARN que apila la unidad de pireno en ausencia de GTP. La presencia de GTP potencializa la emisión del fluoróforo ( $\lambda_{em} = 390 \text{ nm}$ ) debido a que el GTP se apila en la cavidad del ARN y desplaza la unidad de pireno.



**Esquema 2.6** Representación esquemática de la síntesis de **VI** y su aplicación para detectar GTP.<sup>52</sup>

El quimiosensor **VII** es una proteína G codificada genéticamente insertando una proteína fluorescente amarilla permutada circularmente (cpYFP) en una región de la proteína G bacteriana FeoB que sufre un cambio conformacional impulsado por GTP. El esquema 2.7 presenta la estructura cristalina de **VII**, donde las cadenas laterales de aminoácidos mutadas para alterar la afinidad de GTP (P12, S14, T17) se muestran en representación de barras y de color amarillo. La región del interruptor 1 en la proteína no es visible en la estructura cristalina porque se desordena al unirse a GTP. La unión de GTP a este quimiosensor da como resultado un cambio radiométrico en su fluorescencia, lo que proporciona una respuesta internamente normalizada a los cambios en los niveles de GTP.

**VII**

**Esquema 2.7** Dominio de la proteína G con un análogo de GTP unido en rojo con Mg<sup>2+</sup> en gris (pdb3HYT).<sup>53</sup>

## SECCIÓN B: RECEPTORES ARTIFICIALES PARA L-DOPA.

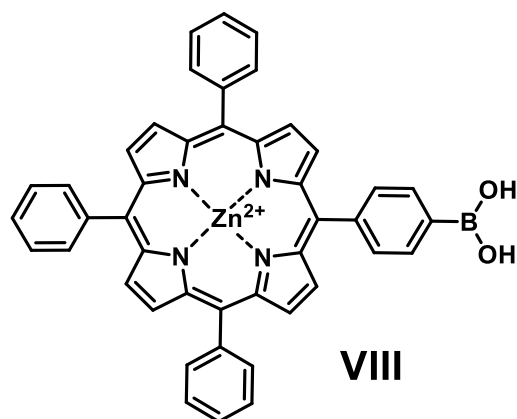
El reconocimiento selectivo y la detección en tiempo real de neurotransmisores (NT) basados en catecolaminas, como dopamina, epinefrina, norepinefrina y L-DOPA por quimiosensores artificiales, sigue siendo un área activa en la química analítica supramolecular.<sup>69-74</sup> La dopamina, la norepinefrina, la L-DOPA y la epinefrina están presentes en el cerebro y en las neuronas periféricas que desempeñan funciones fisiológicas críticas como las motoras, las neuroendocrinas, el biorritmo, la alimentación, las emociones, el aprendizaje y la memoria.<sup>75,76</sup> La concentración fisiológica de dopamina en el líquido cefalorraquídeo está en el rango de 26 a 40 nM <sup>77,78</sup> y los niveles más altos están relacionados con la cardiotoxicidad y la presión arterial alta.<sup>79</sup> Por el contrario, la falta de dopamina puede conducir a trastornos neurológicos como la esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson.<sup>80</sup> La L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina) es un neuromodulador y el precursor bioquímico de la dopamina, este compuesto posee la capacidad de atravesar la barrera protectora hematoencefálica, mientras que la dopamina en sí no puede.<sup>81</sup> Por esta razón, la L-DOPA es el fármaco más utilizado para aumentar la concentración de dopamina en el cerebro, en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y la distonía sensible a la dopamina.<sup>82-84</sup> Por tanto, los niveles de dopamina y L-DOPA en muestras fisiológicas como sangre u orina son indicadores esenciales en el diagnóstico médico de las enfermedades.<sup>85-87</sup> El reconocimiento óptico de neurotransmisores ha estado dominado por fluoróforos que llevan grupos aldehído capaces de reaccionar de forma reversible con la amina primaria a través de la formación de iminas, lo que resulta en un cambio significativo en sus emisiones fluorescentes <sup>73,88-92</sup> y recientemente, por nanomateriales ópticos de CdSe/ZnS y COF's.<sup>89,93,94</sup> Sin embargo, muchos de estos receptores y sensores no son particularmente selectivos e interfieren con otras aminas primarias como los aminoácidos o la serotonina y pueden ser un problema,<sup>89</sup> además, la formación de iminas resulta ser una transformación química lenta que requiere de un tiempo considerable (minutos) para detectar al neurotransmisor del tipo catecolamina.<sup>73</sup> Los quimiosensores más eficientes para L-DOPA contienen receptores basados en fluoróforos borilados tales como; complejos de metaloporfirinas,<sup>95</sup> el colorante amarillo de lucifer,<sup>96</sup> derivados neutros de quinolina<sup>97</sup> y receptores basados en perilenbisimidias<sup>98</sup> que experimentan una respuesta analítica de extinción de la fluorescencia inducida por la complejación como resultado de un mecanismo de transferencia electrónica fotoinducida (PET), en presencia de L-DOPA.



Los informes en el contexto del reconocimiento de neurotransmisores han demostrado que la combinación de un ácido fenilborónico con un segundo sitio de reconocimiento para el fragmento de 2-aminocarboxilato de L-DOPA permite reconocer preferentemente este neurotransmisor a través de la formación reversible del correspondiente éster borónico de catecol con el aporte en afinidad de un segundo punto de reconocimiento.<sup>96</sup> A continuación, se describen brevemente los receptores abióticos más sobresalientes en el reconocimiento de L-DOPA usando ácidos fenilborónicos.

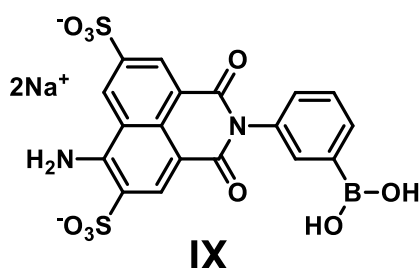
### 1. Receptores Artificiales con Ácidos Borónicos

Imada y colaboradores sintetizaron el receptor bifuncional heteroditópico **VIII** basada en una porfirina de Zn (II) con un ácido fenilborónico (ver esquema 2.8), el cual es selectivo a glucosa-6-fosfato en DMSO y a L-DOPA en su forma esterificada a pH 9.0 en MeOH/H<sub>2</sub>O 3:1. El centro metálico de Zn (II) funciona como unidad de reconocimiento para grupos *N*-donadores u *O*-donadores como las aminas o los fosfatos presentes en la L-DOPA y la glucosa-6-fosfato respectivamente. El ácido fenilborónico es otra unidad de reconocimiento dirigida a formar ésteres borónicos cíclicos con el catecol de la L-DOPA y con los 1,2-cis dioles de la glucosa-6-fosfato. El reconocimiento de ambos analitos se lleva a cabo de forma cooperativa entre ambas unidades de reconocimiento, esto se debe a que la distancia que existe entre ambas unidades de reconocimiento es la apropiada para unir de forma sinérgica los dos puntos de contacto que posee cada analito. Los logaritmos de las constantes de asociación obtenidas por espectroscopía de absorción UV-Vis son 3.17 para glucosa-6-fosfato y 5.46 para L-DOPA en su forma esterificada.



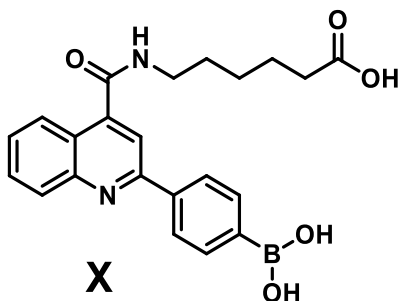
**Esquema 2.8** Metaloporfirina funcionalizada con un ácido fenilborónico para el reconocimiento de L-DOPA y Glucosa-6-fosfato.<sup>95</sup>

El ácido fenilborónico derivado de colorante conocido como amarillo de lucifer **IX** (ver esquema 2.9), reconoce L-DOPA a pH 7.2 en disolución acuosa a través de la combinación de tres puntos de reconocimiento (formación de un éster borónico reversible, apilamientos  $\pi$ - $\pi$  y complementariedad electrostática). El fenómeno de reconocimiento selectivo está señalado por una disminución en la intensidad de emisión del quimiosensor fluorescente, esta disminución se explica debido al PET que ocurre desde el éster boronato formado con el catecol de la L-DOPA hacia el fluoróforo de naftalendicarboximida. La constante de disociación estimada por espectroscopía de fluorescencia para L-DOPA es de  $6.1 \times 10^{-4}$  M (0.1 M MOPS;  $\lambda_{\text{ex}}=430$ ; nm  $\lambda_{\text{em}}=535$  nm).



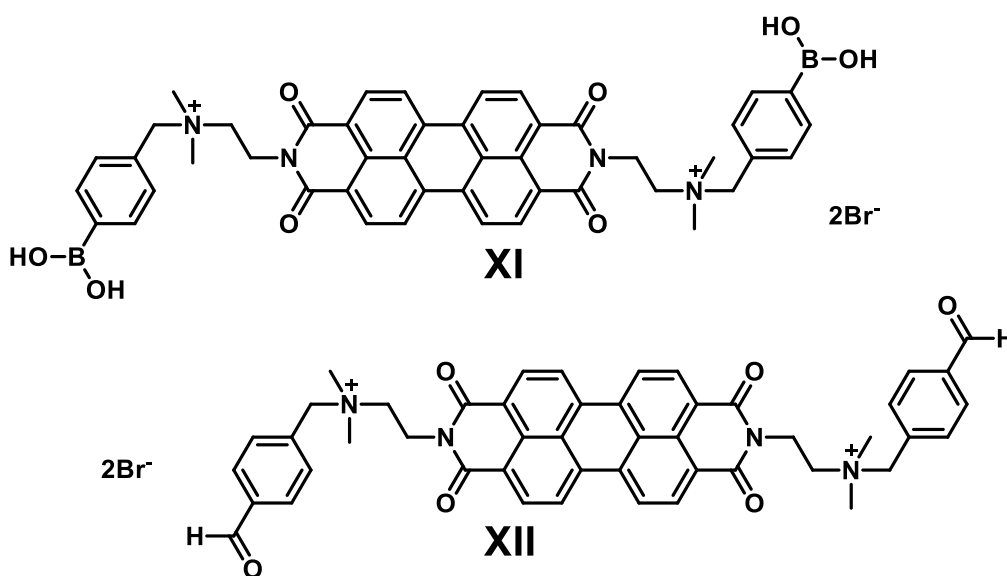
**Esquema 2.9** Quimiosensor heterotritópico basado en un colorante funcionalizado con ácido borónico soluble en agua para la detección de L-DOPA a pH 7.2.<sup>96</sup>

La quinolina **X** es un quimiosensor heteroditópico fluorescente y soluble en agua a pH 7.4 que presenta una unidad de reconocimiento de ácido borónico para formar un éster borónico reversible con el catecol de la L-DOPA (ver esquema 2.10), adicionalmente presenta otra unidad de reconocimiento de carboxilato capaz de formar enlaces de hidrógeno con el grupo amino protonado de la L-DOPA. El logaritmo de la constante de asociación estimada para L-DOPA es de 1405. Adiciones crecientes de L-DOPA a una disolución de **X** disminuye la intensidad de emisión debido a que se desencadena el fenómeno de transferencia carga fotoinducida (PET) del éster boronato al fluoróforo de quinolina.



**Esquema 2.10** Quimiosensor heteroditópico basado en una quinolina funcionalizada con un ácido borónico y un ácido n-hexanoico soluble en agua para la detección de L-DOPA a pH 7.4.<sup>97</sup>

El quimiosensores **XI** y **XII** presentan unidades de señalización fluorescentes de perilenbisimidias (ver esquema 2.11), las unidades de reconocimiento de **XI** corresponden a ácidos fenilborónicos con la finalidad de formar ésteres borónicos con el catecol de la L-DOPA, mientras que las unidades de reconocimiento de **XII** consisten en benzaldehídos capaces de formar enlaces imina con el grupo amino de la L-DOPA. Una mezcla de los quimiosensores **XI** y **XII** se ensamblan de forma bifuncional a la L-DOPA de manera sinérgica y estrecha mediante la formación de un éster de boronato ortogonal y la formación de enlaces imina en disolución acuosa neutra, formando agregados fibrosos ópticamente activos de tres componentes, dichos agregados deben su estabilidad al apilamiento  $\pi$ - $\pi$  entre **XI** y **XII** inducido por el ensamble de la L-DOPA. La constante de asociación aparente determinada por espectrofotometría de UV-Vis para el sistema ensamblado de tres componentes fue determinada en  $3.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ .



**Esquema 2.11** Quimiosensores basados en perilenbisimidias funcionalizadas con ácidos fenilborónicos y benzaldehídos para detección cooperativa de L-DOPA a pH 7.5.<sup>98</sup>

---

# HIPÓTESIS

Receptores artificiales que contienen en su estructura química dos ácidos de Lewis, como el complejo dinuclear Zn(II)-Zn(II) o el complejo Zn(II)-boronato unidos covalentemente a un fluoróforo, son funcionales para la quimiodetección óptica y selectiva de nucleótidos, neurotransmisores y modelos de hemoglobina glicosilada en agua.

---

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

Diseñar una serie de receptores artificiales fluorescentes con alta afinidad y selectividad a especies con interés biológico funcionales en agua. Con esto se busca contribuir al entendimiento del fenómeno de reconocimiento molecular, entre receptores artificiales y especies biológicas, así como explorar sus aplicaciones analíticas para detectar y cuantificar en tiempo real especies con interés biológico en medios acuosos, usando técnicas espectroscópicas.

## OBJETIVOS PARTICULARES

1. Sintetizar y caracterizar nuevos compuestos moleculares luminiscentes que incluyan en su estructura química la combinación de dos ácidos de Lewis.
2. Estudiar sus propiedades fotofísicas (absorbancia, emisión, rendimiento cuántico, tiempo de vida media) y estabilidad en condiciones fisiológicas.
3. Realizar estudios de reconocimiento molecular de los nuevos receptores luminiscentes derivados de complejos de Zn(II)-isoquinolinio-boronato y Zn(II)-quinolina-Zn(II) con una serie de bioanalitos (nucleótidos, neurotransmisores y modelos de HbA<sub>1c</sub>).
4. Determinar la selectividad y las constantes de asociación con técnicas espectroscópicas, así como elucidar los modos de unión de los receptores sintetizados con las biomoléculas por <sup>1</sup>H RMN, <sup>31</sup>P RMN, <sup>19</sup>F RMN, <sup>11</sup>B RMN.

---

# JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto explora uno de los retos modernos de la química supramolecular analítica, que es el desarrollo y estudio de nuevos sistemas anfitrión-huésped, con selectividad y afinidad a bioanalitos que mimetizan los fenómenos de asociación en sistemas biológicos.

El proyecto ataca el diseño de nuevos receptores fluorescentes de zinc (II), su síntesis química y estudio de asociación con moléculas que tienen relevancia biológica en enfermedades, procesos bioquímicos y química medicinal. Un punto relevante de esta investigación recae en la estructura de los receptores sintetizados y al modo en cómo estos reconocen bioanalitos, ya que son asimétricos y contienen dos sitios potenciales de unión para enlazar nucleótidos, neurotransmisores y modelos de hemoglobina HbA<sub>1c</sub> (la hemoglobina glicosilada HbA<sub>1c</sub>, es el indicador químico más importante para el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2) lo cual está prácticamente inexplorado.

Los receptores sintéticos basados en complejos de zinc (II) son populares en el reconocimiento molecular, además suelen ocuparse como quimiosensores ópticos, debido a que el zinc (II) es biológicamente compatible, no es una especie redox activa en condiciones fisiológicas, tiene una química de coordinación muy bien conocida y su unión con un fluoróforo usualmente mejora las propiedades fotofísicas. Se ha reportado, un gran número de quimiosensores para una gran variedad de analitos, sin embargo, pocos realizan el estudio de reconocimiento en medio acuoso, debido a que el agua compite por los sitios de asociación, que comúnmente son enlaces de hidrógeno o enlaces de coordinación, en este contexto, la presente investigación realiza un estudio completo de reconocimiento molecular, de dos nuevas clases de receptores asimétricos ditópicos y bifuncionales que presentan dos ácidos de Lewis que funcionan como unidades de reconocimiento para grupos *N*-donadores (aminas, imidazoles) u *O*-donadores (fosfatos, carboxilatos) y para catecoles biológicos (neurotransmisores como: dopamina, epinefrina, norepinefrina, L-DOPA) o 1,2-*cis* dioles (el producto de Amadori es un modelo de hemoglobina glicosilada que presenta un monosacárido de fructosa), la primera clase comprende a un complejo dinuclear de zinc (II) y la segunda clase comprende a un complejo de Zn(II) con un ácido fenilborónico.

---

# CAPÍTULO 3

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

El trabajo experimental de esta tesis se desarrolló en el laboratorio 1 de Química Inorgánica del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UNAM-UAEMex y en el laboratorio 3 de Química Inorgánica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El capítulo detalla todo el proceso metodológico llevado a cabo a lo largo de esta investigación. Se hace alusión a temperaturas, concentraciones, métodos y técnicas que se emplearon a lo largo del trabajo en el laboratorio. De igual manera, se incluyen aspectos sobre la caracterización de cada ligante sintetizado.

El capítulo se encuentra dividido en tres secciones:

1. Sección A. Condiciones Generales de Instrumentación.

Sección destinada a describir cada una de las condiciones del equipo instrumental, procedimiento técnico de análisis, uso de materiales, disolventes y reactivos.

2. Sección B. Síntesis y Caracterización de Complejos de Zn (II).

Sección dedicada al procedimiento de síntesis, purificación y caracterización de cada uno de los compuestos empleados en este estudio.

3. Sección C. Estudios de Reconocimiento Molecular.

Sección encargada de detallar la metodología de cada uno de los experimentos de titulación, iniciando con la preparación de disoluciones stock y procesos de dilución, hasta terminar con los procedimientos de determinación de constantes de asociación y método de variación continua.

Adicionalmente en el apartado de anexos se puede observar cada uno de los espectros de resonancia magnética nuclear en una y dos dimensiones, espectros de infrarrojo y espectros de masas.

## SECCIÓN A. CONDICIONES GENERALES DE INSTRUMENTACIÓN.

### 1. Disolventes y Reactivos.

Los reactivos y disolventes utilizados fueron adquiridos de fuentes comerciales (Sigma-Aldrich, 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.

### 2. Instrumentación.

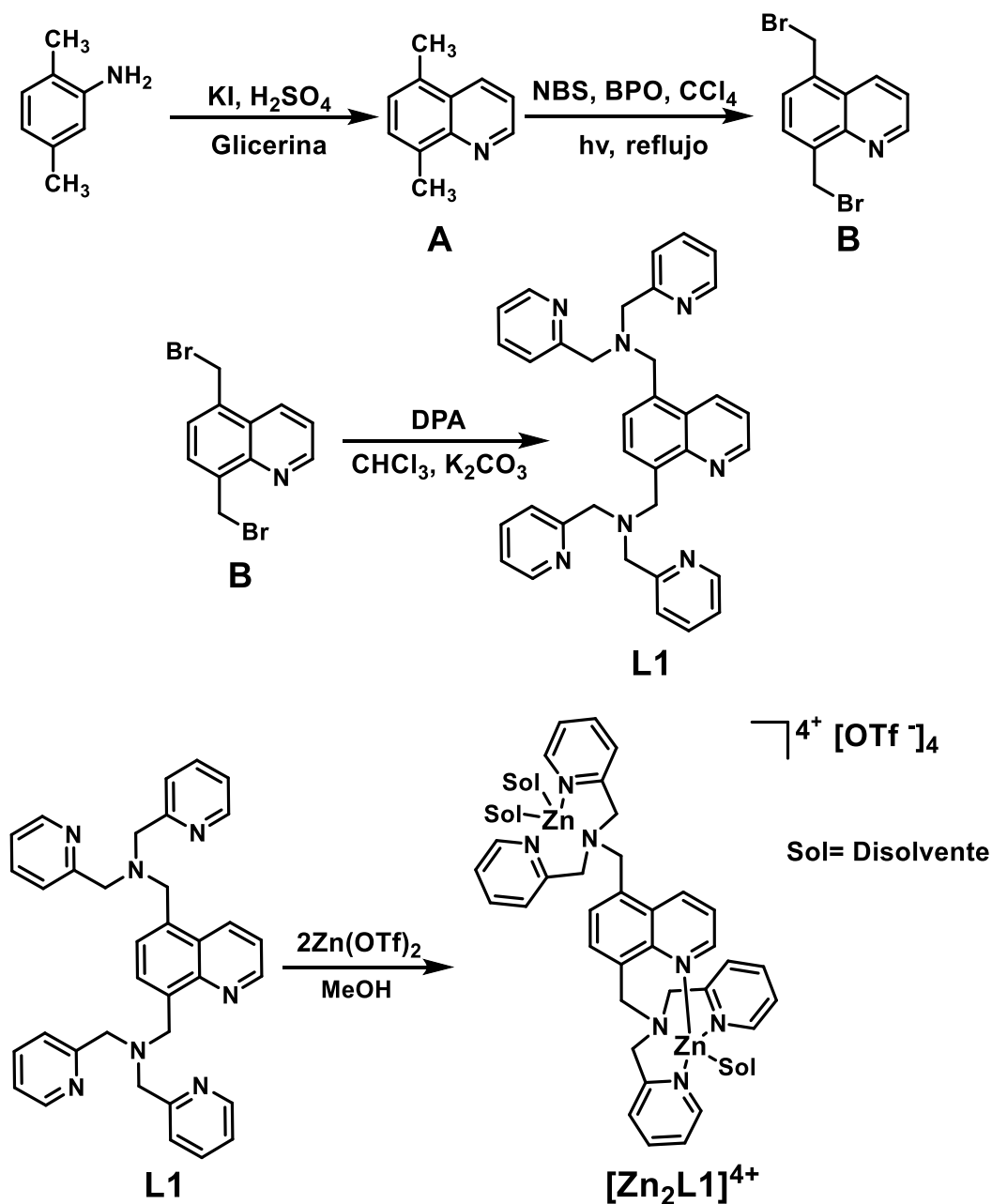
Los estudios de asociación, identificación y caracterización de los productos se realizaron a través de métodos espectroscópicos y espectrométricos. Los espectros de IR, se realizaron usando los equipos Perkin-Elmer Attenuated Total Reflectance FT-Spectrometer (ATR) y FT-IR NICOLET IS-50, Thermo Fisher Scientific; en todos los espectros obtenidos se muestra el número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) contra el porcentaje de transmitancia (T%). El análisis elemental por combustión se realizó en un equipo Thermo Scientific/Flash 2000. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se realizaron utilizando TMS como referencia y para los núcleos de  $^{19}\text{F}$ ,  $^{11}\text{B}$   $^{31}\text{P}$ , se utilizó como referencia  $\text{CFCl}_3$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  respectivamente. Equipo Bruker Advanced 300 MHz, equipo Bruker Advanced III 400 MHz y Bruker Fourier 300 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) 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<sup>+</sup> 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 Agilent Cary 100 UV-Vis, con resolución de 2nm con una precisión de longitud de onda  $\pm 0.5\text{nm}$  y una precisión fotométrica  $\pm 0.005\text{A}$  a 1.2, acoplados a un controlador de temperatura a  $25^\circ\text{C}$ . Se utilizaron celdas de cuarzo (Paso óptico [1cm], Volumen [3mL]). Los experimentos por espectroscopía de fluorescencia se realizaron con un fluorímetro Agilent Cary Eclipse, 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]). Las mediciones de tiempo de vida media de la fluorescencia se realizaron usando un sistema de recuento de fotones individuales correlacionados en el tiempo (TCSPC) acoplado a un microscopio confocal construido a medida para adquirir la vida útil de la fluorescencia.

## SECCIÓN B. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Zn (II).

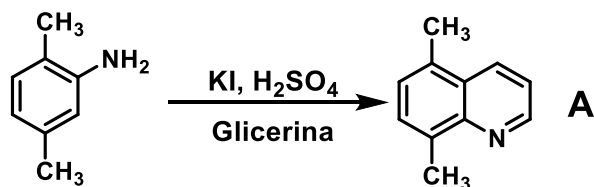
1. Ruta Sintética del Complejo Dinuclear  $[Zn_2L1][OTf]_4$ .

El esquema 3.1 muestra la ruta sintética del ligante L1 y su respectivo complejo dinuclear  $[Zn_2L1]^{4+}$ . La caracterización del ligante y el complejo se realizó por espectrometría de masas (DART<sup>+</sup>/ESI<sup>+</sup>), por IR y varios experimentos de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F DEPT, HSQC). Los espectros se encuentran en la sección de Anexos.

Esquema 3.1 Ruta sintética de L1 y  $[Zn_2L1]^{4+}$ .



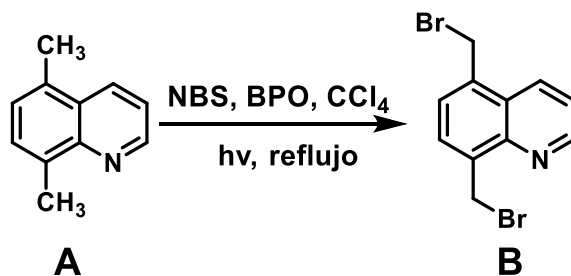
### 1.1 Síntesis de 5,8-Dimetilquinolina (A).



En un matraz de fondo redondo se preparó una disolución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 80 % (40 mL), posteriormente se añadió KI (0.2 g, 1.2 mmol) y se agitó hasta disolver completamente. Subsiguientemente se adicionó gota a gota 2,5-dimetilanilina (12.5 mL, 0.1 mol) manteniendo una temperatura inferior a 80 °C y una agitación vigorosa. Después de la adición, la mezcla se calentó a 140 °C y se goteó lentamente glicerol anhidro (12 mL, 0.16 mol) durante 1.5 h, transcurrido ese tiempo, la mezcla de reacción se colocó a reflujo por 4 h, conservando una temperatura de 140-145 °C. El reflujo se equipó con una trampa Dean-Stark. Después del reflujo, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se neutralizó con una disolución de NaOH al 40% hasta pH 7.0. Posteriormente la mezcla se destiló para separar el agua. El crudo de la destilación contiene la quinolina, esta se extrajo utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, la fase orgánica se secó con MgSO<sub>4</sub> anhidro y consecuentemente se filtró. La fase orgánica se concentró en un rotavapor obteniendo un líquido color negro correspondiente a 5,8-dimetilquinolina. El rendimiento de la reacción se determinó en 76.8 % (10.5 mL).

<sup>1</sup>H-RMN (300MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 8.93 (m, 1H), 8.40 (m, 1H), 7.57-7.47 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.61 (s, 3H).

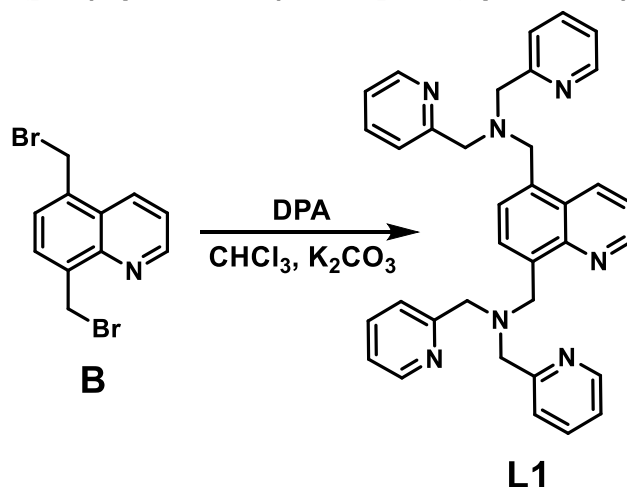
### 1.2 Síntesis de 5,8-Bis(bromometil)quinolina (B).



En un matraz de fondo redondo se agregaron los siguientes reactivos: 5,8-dimetilquinolina (3.10 mL, 19.74 mmol), NBS (7.48 g, 42 mmol) y BPO (0.70 g, 2.9 mmol), estos se disolvieron en CCl<sub>4</sub> (100 mL), la mezcla de reacción se irradió con una lampara de tungsteno de 1000W y se colocó a reflujo por 48 h. Después del tiempo transcurrido, la mezcla se dejó enfriar hasta 50 °C, a esa temperatura se filtró a vacío. El filtrado se lavó con una disolución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (25 mL), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (25 mL) y H<sub>2</sub>O destilada (25 mL) respectivamente. Posteriormente se separó la fase orgánica con un embudo de separación y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y subsiguientemente se concentró en un rotavapor, obteniendo un sólido color marrón que se cristalizó por evaporación lenta en THF (25 mL). El rendimiento de la reacción se determinó en 82.3 % (5.18 g). Punto de fusión: 153-154 °C

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 9.05 (m, 1H), 8.49 (m, 1H), 7.78-7.75 (m, 1H), 7.59-7.54 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 4.89 (s, 2H).

## 1.3 Síntesis de 5,8-Bis{[bis(2-piridilmetil)amino]metil}quinolina (L1).



En un matraz de fondo redondo se mezcló 5,8-Bis(bromometil)quinolina (0.4 g, 1.27 mmol), dipicolilamina (0.46 mL, 2.5 mmol) y  $K_2CO_3$  (0.554 g, 4.0 mmol) en  $CHCl_3$  (20 mL). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 24 h. Después del tiempo transcurrido, la mezcla se filtró a gravedad y consecuentemente el disolvente se evaporó en un rotavapor. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente una mezcla 2:2:6 AcOEt: MeOH: hexano y una fase estacionaria de alúmina neutra. La fracción que contiene el compuesto de interés se secó con  $MgSO_4$  anhidro y subsecuentemente se filtró, el filtrado se concentró en un rotavapor, obteniendo un aceite café rojizo. Rendimiento de la reacción 76.2 % (0.45 mL).

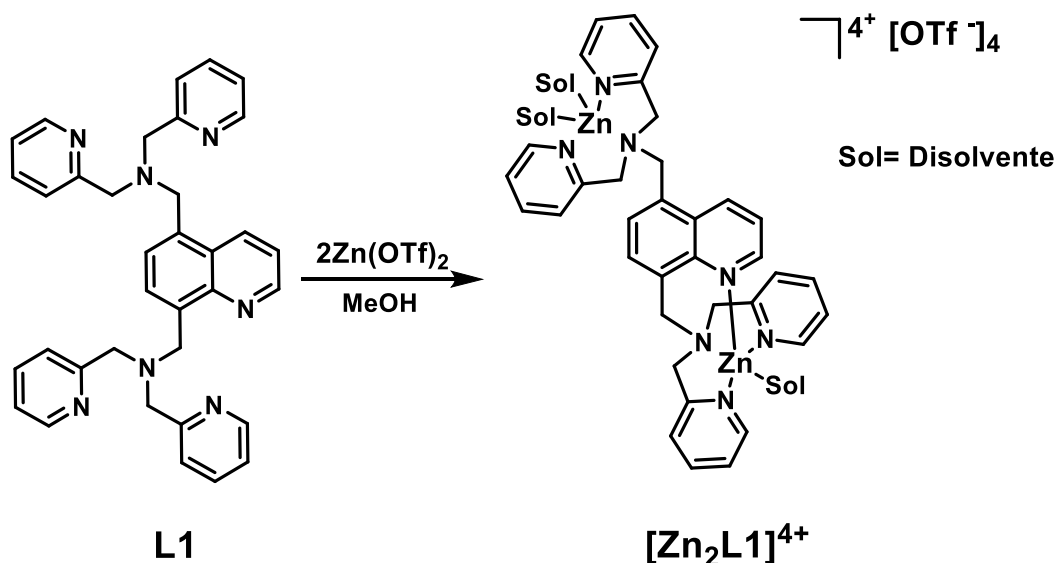
**$^1H$ -RMN** (300 MHz,  $CD_3OD$ , 25°C)  $\delta$ = 8.86 (m, 1H), 8.62-8.59 (m, 1H), 8.40-8.35 (m, 4H), 7.85-7.82 (m, 1H), 7.75-7.61 (m, 6H), 7.56-7.53 (m, 1H), 7.51-7.47 (m, 1H), 7.43-7.40 (m, 2H), 7.22-7.14 (m, 4H), 4.42 (s, 2H), 4.09 (s, 2H), 3.98 (s, 4H), 3.83 (s, 4H).

**$^{13}C$ -RMN** (300 MHz,  $CD_3OD$ , 25°C)  $\delta$ = 158.74 (4C), 157.93, 148.75, 148.04 (2C), 147.90 (2C), 146.39, 137.25 (2C), 136.94 (2C), 134.62, 134.10, 129.01, 128.01, 127.45, 123.74 (2C), 123.25 (2C), 122.50 (2C), 122.29 (2C), 120.49, 60.33 (2C), 59.74 (2C), 57.15, 54.13.

**EM** (DART<sup>+</sup>)  $m/z$  = 552.28775 [**L1** +  $H^+$ ]<sup>+</sup>, calculado para  $C_{35}H_{34}N_7^+$ , donde **L1**=  $C_{35}H_{33}N_7$ .

**Análisis Elemental** [**L1**=  $C_{35}H_{33}N_7$ ] Calculado: C, 76.20; H, 6.03; N, 17.77. Encontrado: C, 76.48; H, 6.26; N, 17.57.

**IR** (ATR) 3007(w), 2824(w), 1588(m), 1432(m), 755(s)  $cm^{-1}$ .

1.4 Síntesis del Complejo  $[Zn_2L1][OTf]_4$ .

En un matraz de fondo redondo se solubilizo una mezcla de **L1** (100 mg, 0,25 mmol) y triflato de zinc (70 mg, 0,27 mmol) en  $CH_3OH$  a temperatura ambiente durante toda una noche. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtró a través de celita y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar un polvo cristalino blanco con un rendimiento del 97%.

**$^1H$ -RMN** (300 MHz,  $CD_3OD$ ,  $25^\circ C$ )  $\delta$ = 9.42 (s, 1H), 8.80-8.79 (m, 2H) 8.40-8.39 (m, 2H) 8.33-8.27 (m, 2H), 8.12-8.06 (m, 2H), 7.94-7.89 (m, 2H), 7.85-81 (m, 3H), 7.73-7.71 (m, 2H), 7.51-7.38 (m, 5H), 4.62 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.93 (s, 2H).

**$^{13}C$ -RMN** (75 MHz,  $CD_3OD$ ,  $25^\circ C$ )  $\delta$ = 154.53 (2C), 154.14 (2C), 152.24, 148.32 (2C), 146.96 (2C), 145.42, 141.95 (2C), 140.49 (2C), 135.89, 134.29, 132.25, 130.96, 130.10, 128.83, 125.64 (4C), 124.51 (2C), 124.36 (2C), 122.58, 59.07 (2C), 58.72 (2C), 55.68, 48.33.

**$^{19}F$ -RMN** (282 MHz,  $CD_3OD$ ,  $25^\circ C$ )  $\delta$ = -80.04 ppm.

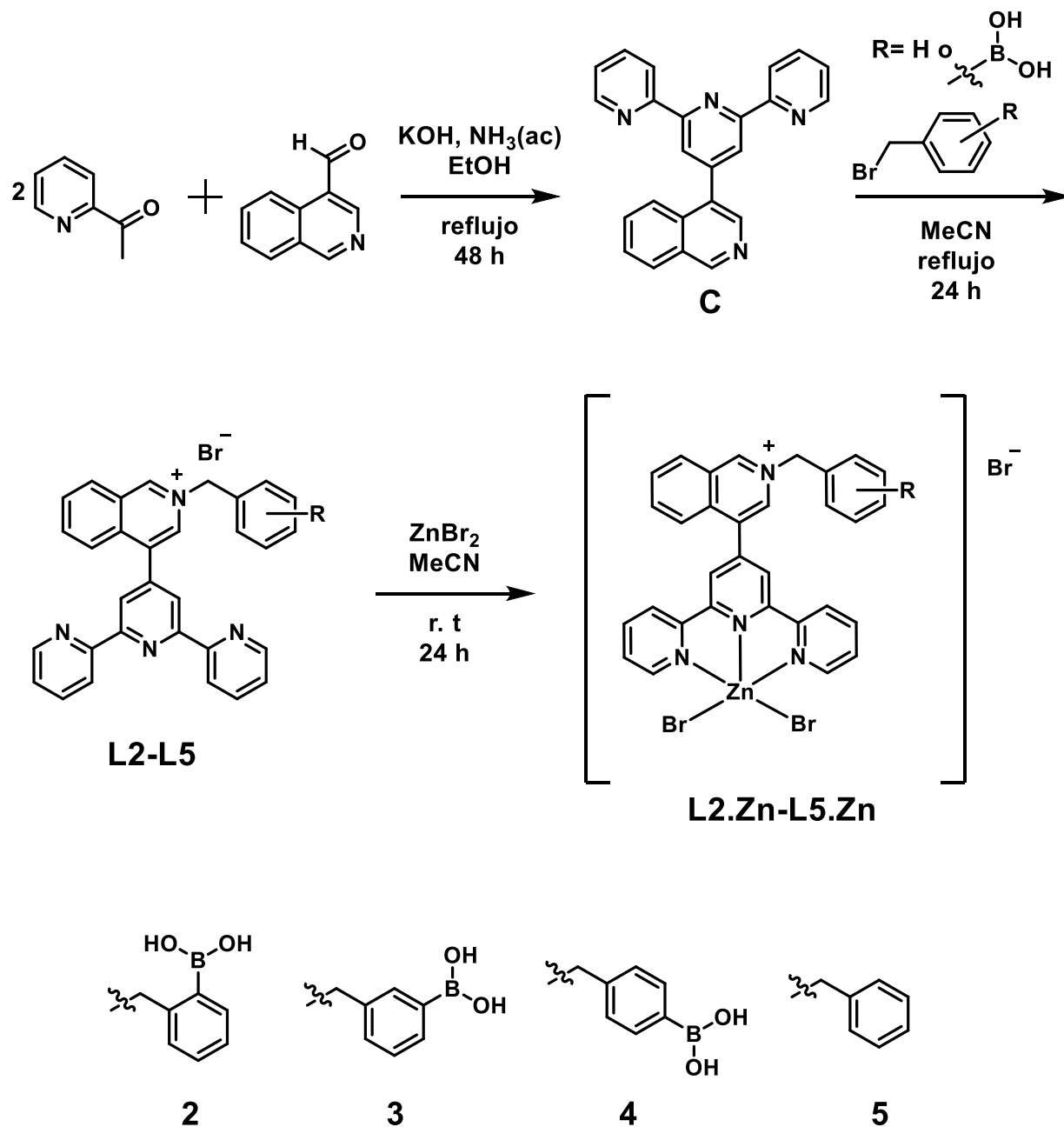
**EM** (ESI<sup>+</sup>) m/z= 1127.9  $[L1 + 2Zn^{2+} + 3OTf]^{+}$  y 489.6 para el dicatión  $[L1 + 2Zn^{2+} + 2OTf]^{2+}$ .

**Análisis Elemental**  $[L1 + 2Zn(CF_3SO_3)_2 + 3CH_3OH] = C_{42}H_{45}F_{12}N_7O_{15}S_4Zn_2$  donde **L1**=  $C_{35}H_{33}N_7$ . Calculado: C, 36.69; H, 3.30; N, 7.13. Encontrado: C, 36.89; H, 3.38; N, 7.07.

**IR** (ATR)= 3441(w), 3283(w), 2930(w), 1610(w), 1446(w), 1286(m), 1217(s), 1168(s), 1022(s), 629(s)  $cm^{-1}$ .

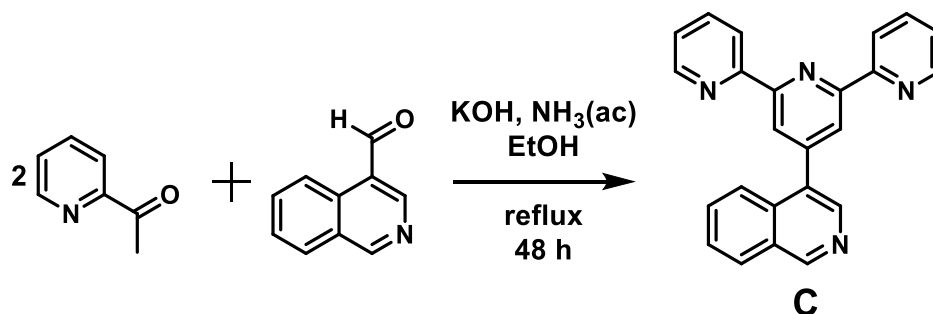
## 2. Ruta Sintética de los Complejos Zn(II)-Boronato.

El esquema 3.2 muestra la ruta sintética de los ligantes **L1-L2** y sus respectivos complejos de Zn (II). La caracterización de los ligantes y complejos se realizó por espectrometría de masas (DART<sup>+</sup>/ESI<sup>+</sup>/APCI<sup>+</sup>), por IR y resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>11</sup>B). Los espectros se encuentran en la sección de Anexos.



Esquema 3.2 Ruta sintética de los ligantes **L2-L5** y de los complejos **L2.Zn-L5.Zn**.

## 2.1 Síntesis de 4'-(4-Isoquinolinil)-2,2':6',2''-terpiridina (C).



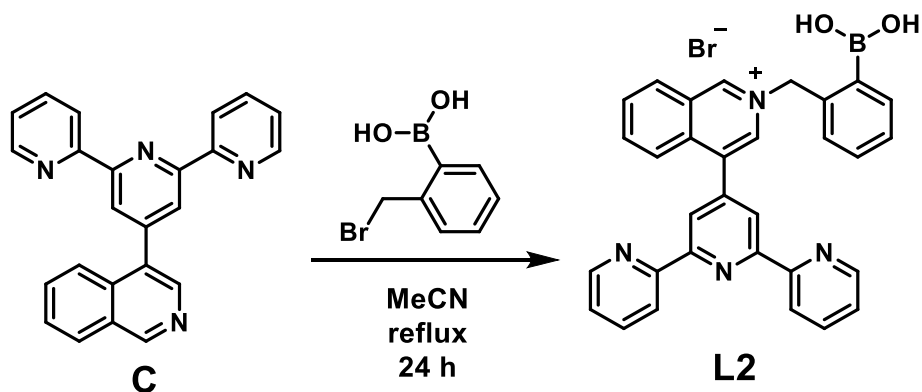
En un matraz de fondo redondo se disolvieron 467.39 mg de KOH (8.33 mmol) en 100 mL EtOH, posteriormente se añadió 2-acetilpiridina (701.40 mg, 0.65 mL, 5.8 mmol), la mezcla se agitó durante 15 min para obtener el enolato correspondiente. Transcurrido ese tiempo se adicionó 4-isoquinolincarboxaldehído (455.79 mg, 2.9 mmol) y después de 30 min de agitación se vertieron 10.40 mL de NH<sub>3</sub> (aq.) al 30 % (12.50 mmol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo por 30 h y finalizando ese tiempo se redujo el volumen de EtOH al 5 mL en un rotavapor, la mezcla de reacción se saturó con 50 mL de agua para precipitar la terpiridina correspondiente y eliminar el exceso de NH<sub>3</sub> (aq.). El precipitado se filtró a vacío y este se redisolvió en 5 mL de acetona. Una vez redisuelto se adicionaron 10 mL de n-hexano y el compuesto puro se separó por decantación. El sólido obtenido de color amarillo pálido se secó a vacío y este correspondió a 4'-(4-Isoquinolinil)-2,2':6',2''-terpiridina (C). El rendimiento de la reacción se determinó en 71.3 % (742.64 mg).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 9.33 (s, 1H), 8.73 (d, 2H), 8.69 (d, 2H), 8.66 (s, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.91 (td, 2H), 7.74-7.68 (m, 2H), 7.37 (dd, 2H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 155.97, 155.86, 153.06, 149.25, 147.23, 142.77, 136.93, 133.64, 131.30, 131.13, 128.31, 128.05, 127.47, 124.41, 123.99, 122.24, 121.42.

EM (EI) m/z= 559.0 [C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub> + 1e<sup>-</sup> → C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup> + H<sup>·</sup> + 2e<sup>-</sup>] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup>.

## 2.2 Bromuro de 4'-[N-(2-boronobencil)-4-isoquinolinio]-2,2':6',2''-terpiridina (L2).



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 80 mg de 4'-(4-isoquinolinil)-2,2':6',2''-terpiridina (0.22 mmol) en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 51.56 mg de ácido 2-(bromometil)fenilborónico (0.24 mmol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 48 h a agitación vigorosa. Transcurrido ese tiempo la mezcla se dejó enfriar a hasta temperatura ambiente para posteriormente eliminar el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con 10 mL de EtOAc durante 30 min y subsiguientemente se filtró la mezcla de lavado. El sólido filtrado se lavó con 10 mL de hexano y luego se filtró a vacío nuevamente. Se obtuvo un sólido blanco (109.03 mg) que se recrystalizó en acetona para obtener monocristales adecuados para difracción de rayos X. El rendimiento de la reacción se determinó en 86.15 %.

**<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 10.12 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.78-8.71 (m, 5H), 8.67 (s, 2H), 8.47 (s, 2H), 8.33-8.28 (t, 1H), 8.19-8.16 (m, 2H), 8.13-8.07 (t, 2H), 7.83-7.80 (d, 1H), 7.59-7.55 (dd, 2H), 7.48-7.44 (t, 2H), 7.37-7.34 (d, 1H), 6.26 (s, 2H).

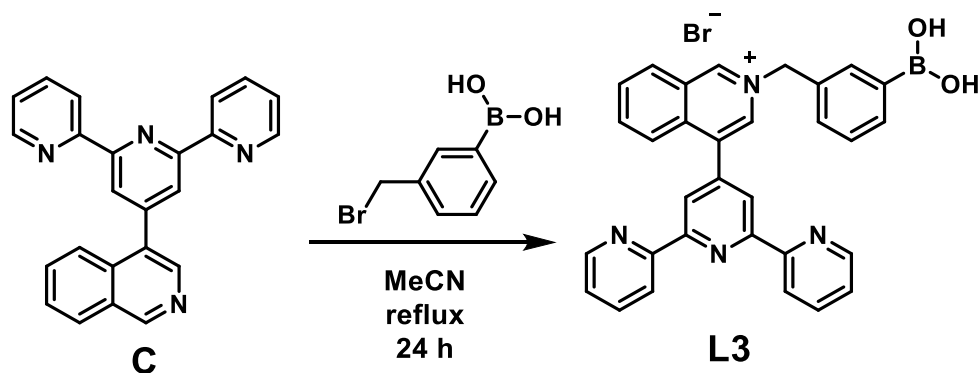
**<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 156.18, 154.81, 150.72, 149.92, 143.83, 138.52, 138.21, 136.20, 135.66, 135.56, 135.25, 132.10, 131.82, 130.97, 130.85, 129.57, 128.70, 128.07, 127.25, 125.44, 125.19, 122.00, 121.64, 64.31.

**<sup>11</sup>B RMN** (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 23.28.

**EM** (ESI<sup>+</sup>) *m/z*= [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> + 3MeOH + 7H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> calculado para C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>12</sub><sup>+</sup>, 717.35; encontrado, 717.34.

**IR** (ATR)= 3300(m), 2926(m), 1584(m), 1449(m), 1352(m), 1096-1030(m), cm<sup>-1</sup>.

## 2.3 Bromuro de 4'-[N-(3-boronobencil)-4-isoquinolinio]-2,2':6',2''-terpiridina (L3).



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 80 mg de 4'-[N-(3-boronobencil)-4-isoquinolinio]-2,2':6',2''-terpiridina (0.22 mmol) en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 51.57 mg de ácido 3-(bromometil)fenilborónico (0.24 mmol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 48 h a agitación vigorosa. Transcurrido ese tiempo la mezcla se dejó enfriar a hasta temperatura ambiente para posteriormente eliminar el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con 10 mL de EtOAc durante 30 min y subsiguientemente se filtró la mezcla de lavado. El sólido filtrado se lavó con 10 mL de hexano y luego se filtró a vacío nuevamente. Se obtuvo un sólido blanco (104.05 mg) que se recrystalizó en acetona. El rendimiento de la reacción se determinó en 82.21 %.

**<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 10.41 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.77-8.71 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.30 (t, 1H), 8.19-8.18 (m, 4H), 8.12-8.06 (td, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.59-7.55 (dd, 2H), 7.46-7.41 (t, 1H), 6.09 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 156.18, 154.82, 150.62, 149.91, 143.73, 141.65, 138.56, 138.19, 136.66, 135.62, 135.35, 134.99, 134.79, 133.75, 132.02, 131.91, 130.96, 128.71, 128.30, 125.42, 125.23, 122.06, 121.62, 64.17.

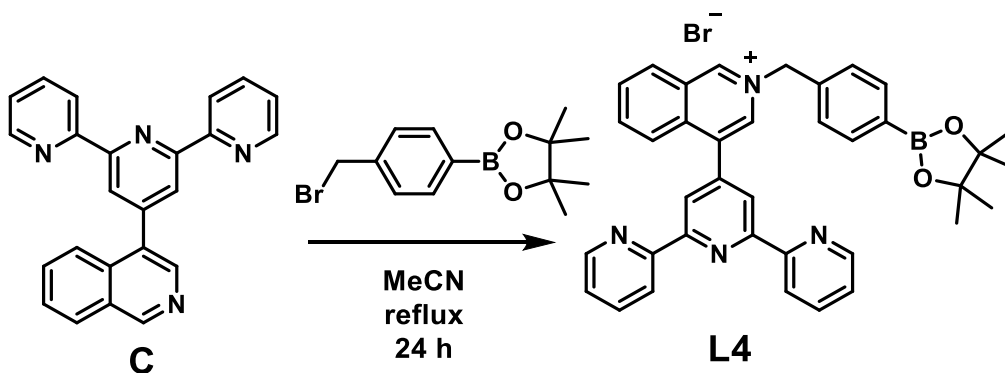
**<sup>11</sup>B RMN** (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 22.23.

**EM** (ESI<sup>+</sup>) *m/z*= [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> + MeOH + 8H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> calculado para C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>11</sub><sup>+</sup>, 671.31; encontrado, 671.29.

**IR** (ATR)= 3337(m), 3035(m), 1584(m), 1436(m), 1377(m), 1034-998(m), cm<sup>-1</sup>.



## 2.4 Bromuro de 4'-[N-(4-boronobencil)-4-isoquinolinio]-2,2':6',2''-terpiridina (L4).



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 80 mg de 4'-(4-isoquinolinil)-2,2':6',2''-terpiridina (0.22 mmol) en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 74.25 mg de éster de pinacol del ácido 4-(bromometil)fenilborónico (0.25 mmol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 48 h a agitación vigorosa. Transcurrido ese tiempo la mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente para posteriormente eliminar el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con 10 mL de EtOAc durante 30 min y subsiguientemente se filtró la mezcla de lavado. Se obtuvo un sólido beige (130.02 mg) que se recristalizó en acetona. El rendimiento de la reacción se determinó en 89.89 %.

**<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 10.34 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.78-8.74 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.32-8.29 (t, 1H), 8.20-8.08 (m, 4H), 7.76-7.74 (d, 2H), 7.66-7.63 (d, 2H), 7.57-7.55 (t, 2H), 6.09 (s, 2H), 1.28 (s, 12H).

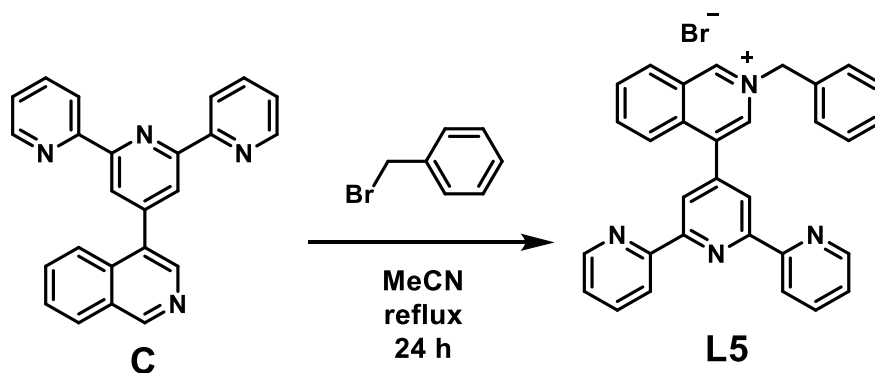
**<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 155.90, 154.45, 150.50, 149.67, 143.66, 138.56, 137.47, 136.72, 136.14, 135.59, 135.55, 135.29, 134.60, 131.99, 128.81, 128.29, 128.19, 125.55, 125.10, 122.11, 121.83, 84.41, 64.06, 25.26.

**<sup>11</sup>B RMN** (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ= 24.30.

**EM** (ESI<sup>+</sup>) *m/z* = [C<sub>37</sub>H<sub>34</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>]<sup>+</sup> calculado para C<sub>37</sub>H<sub>34</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 577.28; encontrado, 577.27

**IR** (ATR)= 3384(m), 2980(m), 1584(m), 1399(m), 1359(m), 1110-1086(m), cm<sup>-1</sup>.

## 2.5 Bromuro de 4'-[N-(bencil)-4-isoquinolinio]-2,2':6',2''-terpiridina (L5).



En un matraz de fondo redondo se disolvieron 80 mg de 4'-(4-isoquinolinil)-2,2':6',2''-terpiridina (0.22 mmol) en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 44.46 mg (31  $\mu$ L) de bromuro de bencilo (0.26 mmol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 48 h a agitación vigorosa. Transcurrido ese tiempo la mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente para posteriormente eliminar el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con 20 mL de Et<sub>2</sub>O durante 30 min y subsiguientemente se filtró la mezcla de lavado. Se obtuvo un sólido blanco (102.71 mg) que se recristalizó en acetona. El rendimiento de la reacción se determinó en 87.84 %.

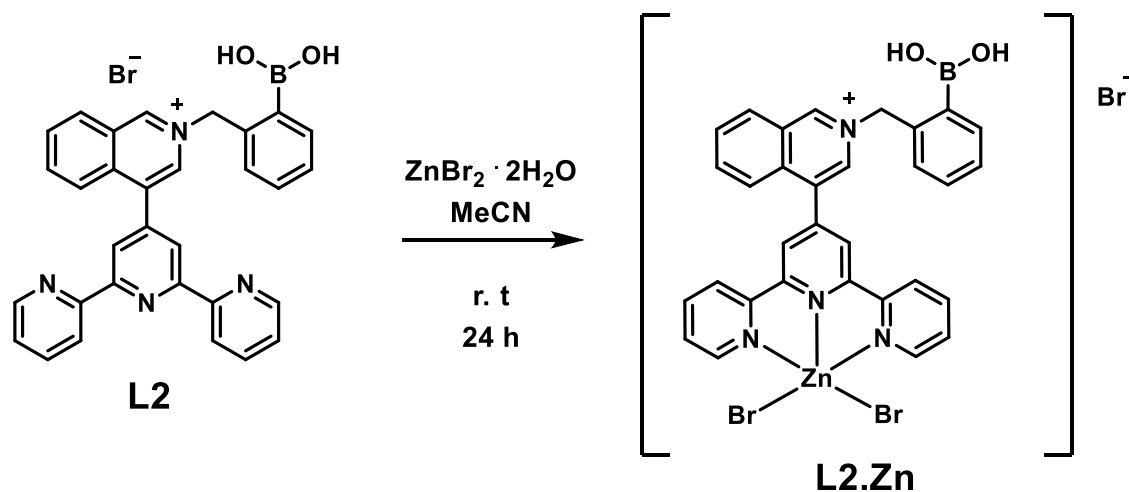
**<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ = 10.40 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.78-8.72 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.33-8.29 (t, 1H), 8.19-8.16 (d, 2H), 8.13-8.07 (td, 2H), 7.68-7.65 (dd, 2H), 7.57-7.55 (dd, 2H), 7.47-7.44 (m, 3H), 6.07 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ = 155.61, 154.27, 150.19, 149.38, 143.31, 138.12, 137.88, 136.23, 135.18, 134.45, 134.30, 131.57, 131.47, 129.35, 129.20, 128.96, 127.84, 125.03, 124.76, 121.70, 121.26, 63.43.

**EM** (APCI<sup>+</sup>)  $m/z$  = [C<sub>31</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup> + Br<sup>-</sup> + 2H<sub>2</sub>O + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup> calculado para C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 567.14; encontrado, 568.60.

**IR** (ATR)= 3035(m), 1584(m), 1399(m), cm<sup>-1</sup>.

## 2.6 Síntesis del Complejo L2.Zn.



En un vaso de precipitados se disolvieron 86 mg (0.15 mmol) de **L2** en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 40 mg de  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.15 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Transcurrido ese tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener un polvo blanco en forma de cristalina (108.07 mg). El rendimiento de la reacción se estimó en 90.01 %.

**$^1\text{H}$  RMN** (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 10.17 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 9.10 (s, 2H), 8.96-8.94 (d, 2H), 8.76-8.72 (m, 3H), 8.54 (s, 2H), 8.40-8.35 (m, 4H), 8.23-8.18 (t, 1H), 7.98-7.94 (t, 2H), 7.87-7.83 (d, 1H), 7.49-7.47 (m, 3H), 6.28 (s, 2H).

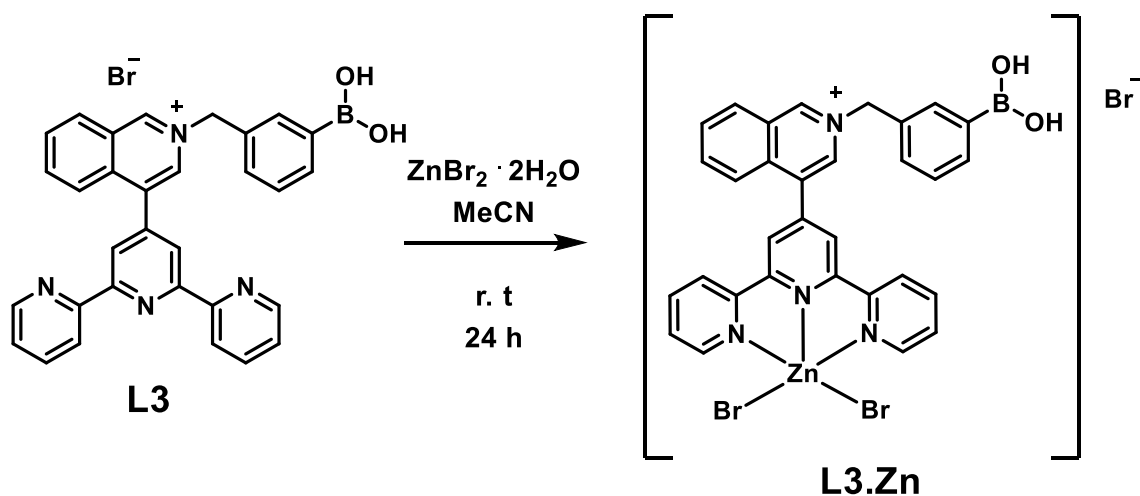
**$^{13}\text{C}$  RMN** (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 151.42, 149.41, 148.53, 146.80, 141.33, 138.84, 138.23, 138.03, 135.99, 135.91, 135.69, 135.27, 134.51, 132.14, 131.00, 130.38, 129.02, 128.20, 127.80, 125.91, 124.89, 123.22, 121.81, 64.52.

**$^{11}\text{B}$  RMN** (160 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 23.13.

**EM** (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ =  $[\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{Zn} + \text{Br}^- + 2\text{MeCN} + 2\text{Na}^+]^+$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{BBR}_3\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_3\text{Zn}^+$ , 940.92; encontrado, 940.71.

**Análisis Elemental**  $[\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{BBR}_3\text{N}_4\text{O}_2 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}] = \text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{BBR}_3\text{N}_6\text{O}_2\text{Zn}$ . Calculado: C, 47.63; H, 3.43; N, 9.52. Encontrado: C, 47.61; H, 3.54; N, 9.52.

## 2.7 Síntesis del Complejo L3.Zn.



En un vaso de precipitados se disolvieron 86 mg (0.15 mmol) de **L3** en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 40 mg de  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.15 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Transcurrido ese tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener un polvo blanco en forma de cristalina (100.15 mg). El rendimiento de la reacción se estimó en 83.41 %.

**$^1\text{H}$  RMN** (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ = 10.47 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.96-8.94 (d, 2H), 8.75-8.70 (m, 3H), 8.37-8.34 (m, 4H), 8.23-8.20 (m, 3H), 8.03-7.94 (m, 3H), 7.86-7.84 (d, 1H), 7.73-7.70 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 6.08 (s, 2H).

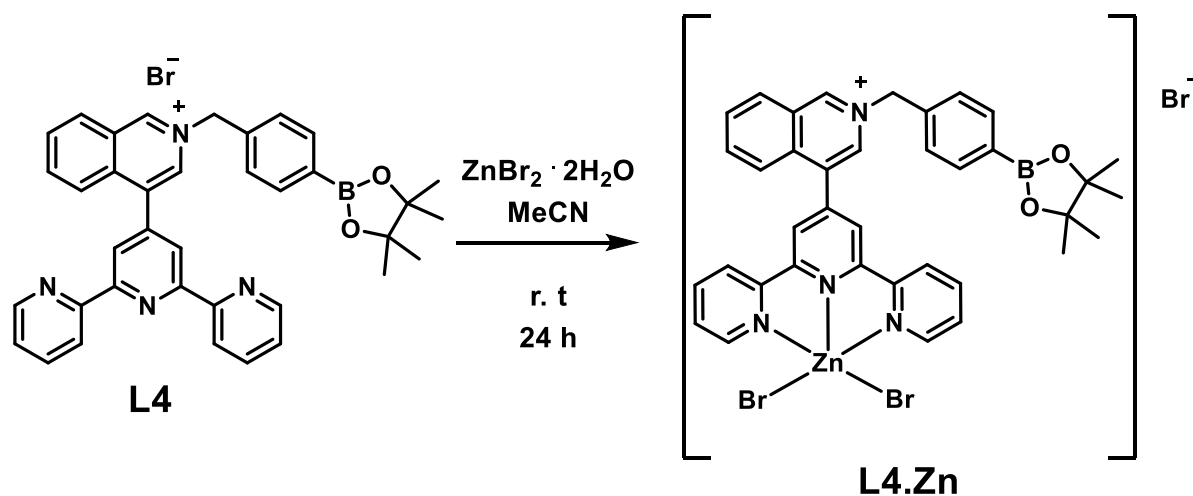
**$^{13}\text{C}$  RMN** (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ = 151.00, 148.98, 148.91, 147.94, 147.15, 146.37, 140.91, 138.53, 135.09, 134.91, 134.77, 134.62, 134.46, 133.05, 131.91, 131.63, 130.70, 128.39, 127.75, 127.57, 125.55, 124.53, 122.73, 64.14.

**$^{11}\text{B}$  RMN** (160 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ = 22.01.

**EM** (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ =  $[\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{Zn} + \text{Br}^- + 2\text{MeCN} + 2\text{Na}^+]^+$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{BBR}_3\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_3\text{Zn}^+$ , 940.92; encontrado, 940.72.

**Análisis Elemental**  $[\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{BBR}_3\text{N}_4\text{O}_2 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}] = \text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{BBR}_3\text{N}_6\text{O}_2\text{Zn}$ . Calculado: C, 47.63; H, 3.43; N, 9.52. Encontrado: C, 47.69; H, 3.61; N, 9.51.

## 2.8 Síntesis del Complejo L4.Zn.



En un vaso de precipitados se disolvieron 92 mg (0.14 mmol) de **L4** en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 36.57 mg de  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.14 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Transcurrido ese tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener un polvo blanco en forma de cristalina (102.83 mg). El rendimiento de la reacción se estimó en 83.22 %.

**$^1\text{H}$  RMN** (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 10.45 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.10 (s, 2H), 8.94-8.93 (d, 2H), 8.76-8.71 (t, 3H), 8.39-8.33 (t, 4H), 8.23 (m, 1H), 7.97-7.93 (dd, 2H), 7.77-7.75 (d, 2H), 7.70-7.67 (d, 2H), 6.11 (s, 2H), 1.26 (s, 12H).

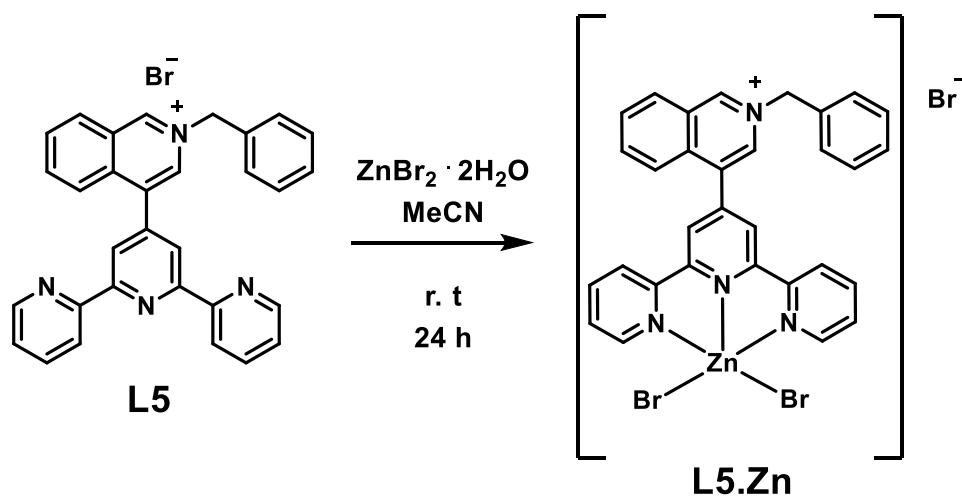
**$^{13}\text{C}$  RMN** (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 151.20, 149.00, 148.86, 147.93, 146.42, 141.01, 138.68, 137.00, 135.26, 134.96, 134.89, 134.35, 131.99, 131.71, 128.56, 127.81, 127.59, 125.76, 125.58, 124.50, 122.81, 83.99, 63.84, 24.69.

**$^{11}\text{B}$  RMN** (160 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 24.29.

**EM** (ESI<sup>+</sup>)  $m/z$ =  $[\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{Zn}^+]^+$  calculado para  $\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{Zn}^+$ , 799.04; encontrado, 799.03.

**Análisis Elemental**  $[\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBrN}_4\text{O}_2 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}] = \text{C}_{41}\text{H}_{40}\text{BBr}_3\text{N}_6\text{O}_2\text{Zn}$ . Calculado: C, 51.05; H, 4.18; N, 8.71. Encontrado: C, 51.04; H, 4.46; N, 8.62.

## 2.9 Síntesis del Complejo L5.Zn.



En un vaso de precipitados se disolvieron 80 mg (0.15 mmol) de **L5** en 25 mL de MeCN, posteriormente se adicionaron 40 mg de  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.15 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Transcurrido ese tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener un polvo blanco en forma de cristalina (104.05 mg). El rendimiento de la reacción se estimó en 91.68 %.

**$^1\text{H}$  RMN** (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 10.52 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 9.15 (s, 2H), 8.94-8.92 (d, 2H), 8.75-8.72 (d, 3H), 8.39-8.30 (m, 4H), 8.25-8.20 (t, 1H), 7.97-7.93 (t, 2H), 7.72-7.70 (d, 2H), 7.49-7.46 (m, 3H), 6.11 (s, 2H).

**$^{13}\text{C}$  RMN** (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ = 151.50, 149.42, 149.35, 148.38, 146.81, 141.34, 141.10, 139.00, 135.35, 135.24, 134.53, 132.35, 132.07, 129.98, 129.75, 129.50, 128.20, 128.01, 125.99, 124.96, 123.17, 64.27.

**Análisis Elemental**  $[\text{C}_{31}\text{H}_{23}\text{BrN}_4 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}] = \text{C}_{35}\text{H}_{29}\text{Br}_3\text{N}_6\text{Zn}$ . Calculado: C, 50.12; H, 3.49; N, 10.02. Encontrado: C, 50.04; H, 4.51; N, 10.06.

## SECCIÓN C. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL RECONOCIMIENTO MOLECULAR.

### 1. Titulaciones Fluorimétricas.

Las titulaciones fluorimétricas de los nucleótidos, PPI y guanosina con  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ , se realizaron de la siguiente manera. Se preparó una disolución stock 10 mM de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  en agua, a partir de esta disolución, se tomaron alícuotas que fueron diluidas en 2.5 mL de una disolución buffer, 40 mM de MOPS (pH 7.0) con una fuerza iónica de 0.05 M de NaCl, hasta obtener una concentración de 15  $\mu\text{M}$  de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ . Los espectros de emisión se grabaron a una longitud de excitación de 325 nm a potenciales de 650 V, posteriormente se adicionaron alícuotas de disoluciones stock de los sustratos de estudio. Los espectros fueron grabados por triplicado después de agitar y esperar un par de minutos. Los datos experimentales se utilizaron para determinar las constantes de asociación respectivas. Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación correspondiente (2) utilizando una regresión de mínimos cuadrados no lineal con Microcal Origin 8.1 para estequiometrías 1:1 y el programa HypSpec-Hyperquad para estequiometrías más complejas.<sup>121</sup>

Las titulaciones fluorimétricas de los neurotransmisores y el producto de Amadori (modelo de HbA<sub>1c</sub>) se realizaron de la siguiente manera. Se prepararon disoluciones stock 10 mM de cada complejo de Zn (II) (**L2.Zn-L5.Zn**) en agua, a partir de estas disoluciones, se tomaron alícuotas que fueron diluidas en 2.5 mL de una disolución buffer, 40 mM de MOPS (pH 7.4) con una fuerza iónica de 0.05 M de NaCl, hasta obtener una concentración de 10  $\mu\text{M}$  de cada complejo de Zn (II) (**L2.Zn-L5.Zn**). Los espectros de emisión se grabaron a una longitud de excitación de 330 nm a potenciales de 650 V, posteriormente se adicionaron alícuotas de disoluciones stock de los sustratos de estudio. Los espectros fueron grabados por triplicado después de agitar y esperar un par de minutos. Los datos experimentales se utilizaron para determinar las constantes de asociación respectivas. Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación (2) utilizando una regresión de mínimos cuadrados no lineal con Microcal Origin 8.1 para estequiometrías 1:1. Los experimentos de selectividad se realizaron añadiendo alícuotas de disoluciones stocks del analito respectivo, concentración final de  $[\text{X}]_{\text{final}} = 100 \mu\text{M}$ , a disoluciones acuosas tamponadas que contenían MOPS (40 mM a pH = 7,4) del correspondiente complejo de Zn (II) (10  $\mu\text{M}$ ) y se registraron las intensidades máximas de emisión de cada complejo.

## 2. Titulaciones Espectrofotométricas UV-Visible.

Para la titulación espectrofotométrica de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ , se preparó una disolución stock concentrada en agua de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  y a partir de esta disolución se tomó una alícuota que fue diluida en 2.5 mL de una disolución buffer, 40 mM de MOPS con una fuerza iónica de NaCl 0.05 M a pH 7.0 en una celda de cuarzo hasta obtener una concentración de 100  $\mu\text{M}$  de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ , posteriormente se tomó el espectro de absorción a 25 °C y directamente en la celda se adicionaron alícuotas de una disolución stock concentrada de GTP. Los espectros de absorción para cada una de las adiciones del nucleótido se tomaron por triplicado. Los datos experimentales se utilizaron para determinar la constante de asociación y la estequiometría del sistema.

Para la titulación espectrofotométrica de **L2.Zn**, se preparó una disolución stock concentrada en agua de **L2.Zn** y a partir de esta disolución se tomó una alícuota que fue diluida en 2.5 mL de una disolución buffer, 40 mM de MOPS con una fuerza iónica de NaCl 0.05 M a pH 7.4 en una celda de cuarzo hasta obtener una concentración de 10  $\mu\text{M}$  de **L2.Zn**, posteriormente se tomó el espectro de absorción a 25 °C y directamente en la celda se adicionaron alícuotas de una disolución stock concentrada de L-DOPA. Los espectros de absorción para cada una de las adiciones de L-DOPA se tomaron por triplicado. Los datos experimentales se utilizaron para determinar la constante de asociación.

## 3. Titulaciones Espectroscópicas por RMN.

Las titulaciones se realizaron directamente en un tubo de resonancia. Para los experimentos de  $^1\text{H}$  y  $^{31}\text{P}$  RMN de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  se usó un equipo de 300 MHz. Se prepararon 0.5 mL de disoluciones 4 mM de los nucleótidos en  $\text{D}_2\text{O}$  a pH 7.0, estas se titularon con una disolución stock de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ , se agitaron los tubos por 5 min y transcurrido ese tiempo se grabaron los espectros. La disolución stock de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  se preparó en  $\text{D}_2\text{O}$ .

Los experimentos de RMN correspondientes a los complejos **L2.Zn-L4.Zn** se llevaron a cabo en equipos de 300 y 500 MHz para las titulaciones de  $^1\text{H}$  y  $^{11}\text{B}$  respectivamente. Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN se registraron después de adicionar alícuotas de una disolución stock de L-DOPA a disoluciones del correspondiente complejo de Zn (II) (5.0 mM) en  $\text{DMSO-}d_6$ , todo el procedimiento se hizo directamente en tubos de RMN de cuarzo.



En los casos de los experimentos de  $^{11}\text{B}$  RMN para los complejos **L2.Zn-L4.Zn**, los espectros se registraron a 160 MHz. Se añadieron alícuotas de una disolución stock concentrada de L-DOPA a las correspondientes disoluciones del complejo de Zn (II), todo el procedimiento se realizó directamente en tubos de RMN de cuarzo.

#### 4. Tiempo de Vida Media de la Fluorescencia.

Se usó un sistema de recuento de fotones individuales correlacionados en el tiempo (TCSPC) acoplado a un microscopio confocal construido a medida para adquirir la vida útil de la fluorescencia. Se enfocó un láser de picosegundos de 354 nm pulsado a 10 MHz (LDH-DC-405, PicoQuant) en una celda de cuarzo de 1 cm con un objetivo de microscopio de 0,85 NA. La fluorescencia recogida con el mismo objetivo pasó a través de un espejo dicróico de paso largo de 366 nm (Chroma T510lpxrxt), a un filtro de muesca de 364 nm (Chroma ZET405nf), a un filtro de emisión de paso largo de 425 nm (Chroma ET425lp) y se enfocó a un fotodiodo de avalancha (PD-050-CTE, MPD). El controlador láser (PDL-800-D, PicoQuant) y el APD se conectaron a una tarjeta TCSPC (PicoHarp 300, PicoQuant). Se controló la potencia de irradiación para obtener menos del 1% de los eventos de detección con el fin de evitar efectos acumulativos en el histograma registrado. Se utilizó Rojo Allura (estándar analítico Sigma-Aldrich) para obtener el IRF en las mismas condiciones de irradiación. Todos los datos se obtuvieron y trataron en el software SymphoTime 64 (PicoQuant).

#### 5. Difracción de Rayos X de Monocristal.

Los detalles relevantes de los cristales, la recopilación de datos y el refinamiento de la estructura se pueden encontrar en la sección de anexos. Los datos para **L4.Zn** y **L5.Zn** se recopilaron en un difractómetro Bruker APEX II CCD a 100 K, utilizando radiación Cu-K $\alpha$  ( $k = 1,54178 \text{ \AA}$ ) de una fuente Incoatec ImuS y un monocromador óptico Helios.<sup>70</sup> Los cristales adecuados se recubrieron con aceite de hidrocarburo, se recogieron con un asa de nailon y se montaron en el difractómetro. Las estructuras se resolvieron mediante métodos directos<sup>187</sup> y se refinaron mediante mínimos cuadrados de matriz completa en *F2* utilizando shelXle GUI.<sup>181-182</sup> Los átomos de hidrógeno de los enlaces C-H y O-H se colocaron en posiciones idealizadas, debido a que no fue posible encontrar los átomos de hidrógeno del resto O-H en el mapa de densidad residual, y su posición se refinó con  $U_{\text{iso}} = aU_{\text{eq}}$  (donde  $a$  es 1.5 para restos -CH<sub>3</sub> y -OH, para otros es 1.2).

Los gráficos moleculares se realizaron utilizando Mercury-2020.1.<sup>183</sup> Los datos cristalográficos de las dos estructuras cristalinas se han depositado en el Cambridge Crystallographic Data Center, nos. CCDC 2043138-2043139.

## 6. Detalles Computacionales.

La optimización geométrica de los sistemas 1: 1 y 2: 2 **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>** / GTP se realizó con los tres parámetros intercambio-correlación funcional de Becke-Lee-Yang-Parr (B3LYP), y el conjunto de bases LANL2DZ, que toman considerando los efectos relativistas.<sup>188,189</sup> Además, la contribución debida a la dispersión electrónica fue considerada por la corrección Grimme-D3,<sup>190</sup> este nivel de teoría se conoce como B3LYP-D3/ LANL2DZ. En la optimización de la geometría se consideró un criterio de no frecuencias imaginarias. Finalmente, la densidad de electrones se analizó a través del Laplaciano de la densidad de electrones ( $-\nabla_{\rho}^2$ )<sup>191</sup> y el análisis de átomos en moléculas (AIM) propuesto por Bader.<sup>192</sup> Todos los cálculos presentados se realizaron con NWChem 6.6,<sup>193</sup> mientras que los resultados topológicos fueron obtenidos con el analizador de función de onda Multiwfn 3.3.7.<sup>125</sup>

Respecto a los sistemas **L2.Zn-L4.Zn** con L-DOPA. Todos los cálculos se realizaron al nivel de teoría  $\omega$ B97XD/LANL2DZ con el conjunto de programas Gaussian09 rev.E.01.<sup>185</sup> Los orbitales de enlace natural (NBO) y los análisis de población derivados, se calcularon con el programa NBO3.1 como se proporciona en el conjunto mencionado anteriormente.<sup>186</sup>

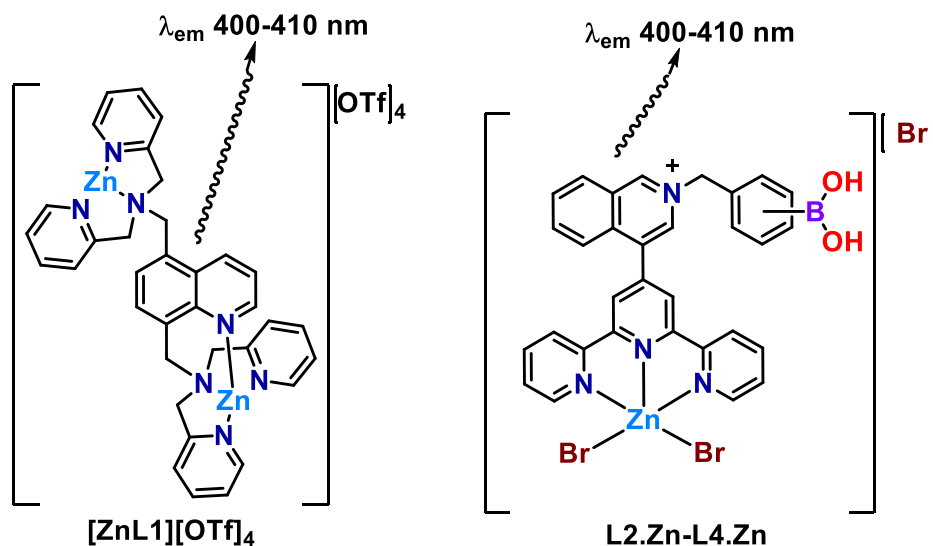
# CAPÍTULO 4

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se muestran los resultados más sobresalientes de este trabajo, enfocados a estudios en estado sólido y disolución de los quimiosensores sintetizados, así como los estudios de reconocimiento molecular con nucleótidos, neurotransmisores y modelos de hemoglobina glicosilada HbA<sub>1c</sub>, por medio de técnicas espectroscópicas.

El capítulo está dividido en dos secciones. En ambas secciones se muestran estudios espectroscópicos de fluorescencia, absorción UV-Vis, RMN de varios núcleos, espectrometría de masas y en algunos casos estructuras cristalinas obtenidas por difracción de rayos X de monocristal.

La sección A describe aspectos relacionados al complejo dinuclear  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  y su uso como quimiosensor para reconocer GTP en disolución acuosa. (Ver Esquema 4.1) La sección B engloba estudios de reconocimiento molecular dirigido a neurotransmisores del tipo catecolamina usando quimiosensores basados en complejos Zn (II) funcionalizados con ácidos borónicos ( $\text{L2.Zn-L5.Zn}$ ); (ver Esquema 4.1).



**Esquema 4.1** Complejo dinuclear de Zn (II)  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ , quimiosensor para GTP funcional en medio acuoso neutro; Complejos Terpy-Zn (II) funcionalizados con ácidos fenil borónicos  $\text{L2.Zn-L4.Zn}$ , quimiosensores funcionales a en disolución acuosa a pH 7.4 para reconocer neurotransmisores.

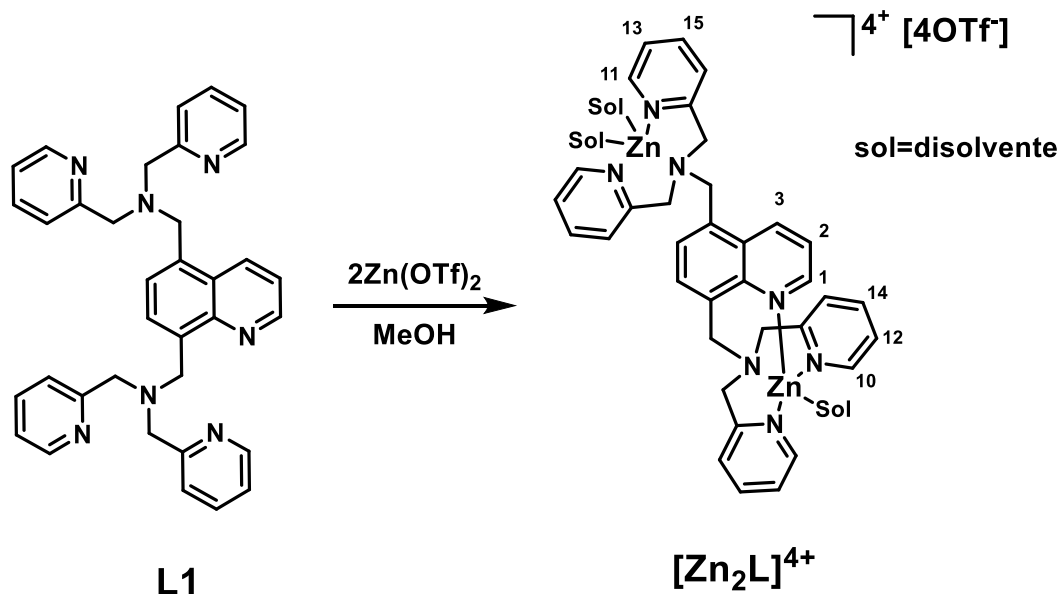
SECCIÓN A. QUIMIOSENSOR  $[Zn_2L1][OTf]_4$ .

## 1. Diseño y Síntesis.

Los receptores artificiales que contienen fragmentos de Zn (II)-DPA y Zn (II)-poliaminofenólicos como sitios de unión y fluoróforos orgánicos como el antraceno, la acridina y el xanteno son a menudo altamente fluorescentes y se han utilizado como quimiosensores principalmente para fosfato,<sup>99,100</sup> PPI,<sup>101</sup> ATP<sup>100,101</sup> y derivados de moléculas fosforiladas.<sup>103,104</sup> Además, son eficaces para reconocer proteínas fosforiladas y como disruptores ópticos de las interacciones proteína-proteína.<sup>66</sup> Sin embargo, el reconocimiento de GTP con receptores artificiales basados en metales del bloque d, sigue siendo un tópico que aún permanece en gran medida sin explorar.

La literatura relacionada al reconocimiento de GTP con receptores inorgánicos presenta muy pocos ejemplos como el complejo acuoso,  $[Zn_2L^2(H_2O)_x][Cl]_4$ , ( $L^2 = 1,8$ -bis[(2,2'-dipicolilamino)metil]-6-hidroxi-3H-xanten-3-ona<sup>105</sup> y el complejo dinuclear,  $Zn_2$ -DPA que contiene una cumarina,<sup>106</sup> para ambos quimiosensores se demostró que se unen a GTP en agua con constantes de unión aparente de  $K_{app} \approx 10^6 M^{-1}$ . Sin embargo, estos quimiosensores de Zn (II) no son selectivos entre nucleótidos, PPI e inositol-1,3,4-trifosfato.<sup>105,106</sup> Estos reportes sugieren que los complejos policatiónicos  $[Zn_2L(sol)] [X^-]_4$  ( $L =$  ligante fluorescente que contiene DPA y  $X^- =$  anión no coordinante) podrían usarse como potentes unidades receptoras para sensores de GTP. Por tanto, en este trabajo de tesis se diseñó un complejo dinuclear fluorescente de Zn (II) con propiedades estructurales interesantes, por ejemplo, sitios de unión asimétricos con una fuerte acidez de Lewis sin la necesidad de una unidad de señalización adicional. El complejo tetracatiónico  $[Zn_2L1]^{4+}$  se sintetizó con éxito siguiendo el procedimiento de cuatro pasos descrito en el esquema 3.1. El uso de aniones no coordinantes como el triflato pudo dar como resultado un complejo policatiónico soluble en agua,  $[Zn_2L1(sol)_x][OTf]_4$  ( $sol =$  disolvente), con fuerte afinidad por especies aniónicas como resultado de una fuerte contribución electrostática. El complejo  $[Zn_2L1]^{4+}$  está estrechamente relacionado estructuralmente con otros complejos Zn (II)-DPA informados por Hamachi,<sup>66</sup> donde la principal diferencia es que ligante **L1** sintetizado en este trabajo, tiene sitios de coordinación asimétricos (ver esquema 4.2). La síntesis de  $[Zn_2L1]^{4+}$  se logró mediante la coordinación de 1,5-bis[(2,2'-dipicolilamina)metil]-quinolina con  $Zn(OTf)_2$  en metanol. (Ver esquema 4.2)

El complejo  $[Zn_2L1][OTf]_4$  se aisló puro como un polvo cristalino blanco con un buen rendimiento, esto se puede corroborar a través de la espectroscopía de RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{19}F$ , DEPT y HSQC (ver Anexos).

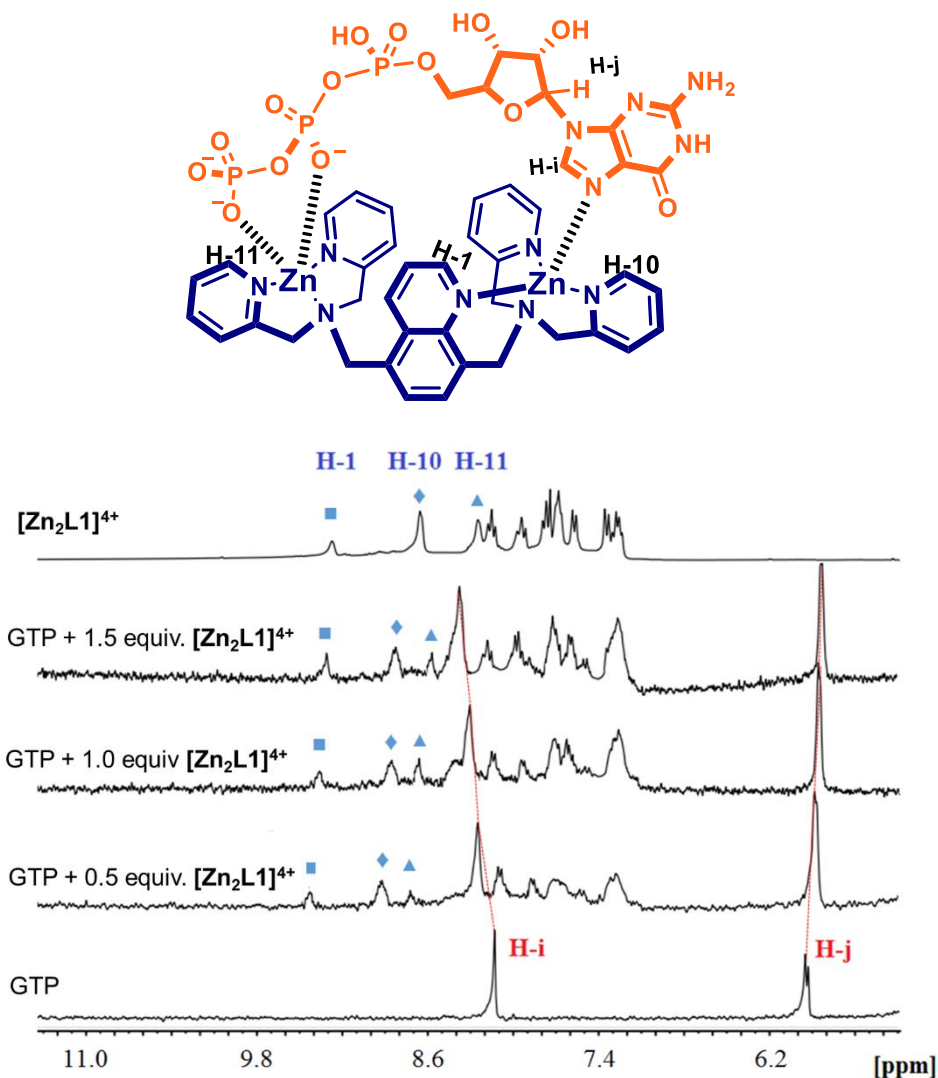


**Esquema 4.2** Síntesis del complejo dinuclear  $[Zn_2L1][OTf]_4$ .

Espectrometría de masas proporciona información de dos iones del complejo  $[Zn_2L1]^{4+}$ , uno monocatónico  $\{[Zn_2L1]^{4+} + 3OTf\}^+$  ( $m/z = 1127.9$ ) y uno dicatónico  $\{[Zn_2L1]^{4+} + 2OTf\}^{2+}$  ( $m/z = 489.6$ ), ambos se observan claramente y se resuelven isotópicamente mediante ionización positiva de ESI. Los picos coinciden muy bien con la distribución isotópica teórica (ver anexos). El espectro de  $^{19}F$  RMN de  $[Zn_2L1]^{4+}$  presenta solo una señal en  $-80.04$  ppm, indicando que los aniones trifluorometanosulfonato (OTf) se hallan en un entorno químico idéntico y además actuando como contraiones de la entidad dinuclear. El hecho de permanecer como contraiones en la especie no implica un enlace formal dentro de la esfera de coordinación del zinc (II), sino una estabilización de cargas en el sistema, esta afirmación puede ser soportada con el desplazamiento del NaOTf ( $-80$  ppm).<sup>107</sup> Desafortunadamente, no se lograron obtener monocristales de  $[Zn_2L1][OTf]_4$ , posiblemente debido al alto grado de flexibilidad del ligante y a la repulsión electrostática entre las unidades quelantes de Zn (II)-DPA altamente cargadas, que no pueden estabilizarse con aniones de muy baja basicidad como el triflato. El análisis elemental (C, N, H) es consistente con un aducto metanólico de la sal  $[Zn_2L1][OTf]_4$ .

## 2. Estudios de Detección y Asociación de Aniones

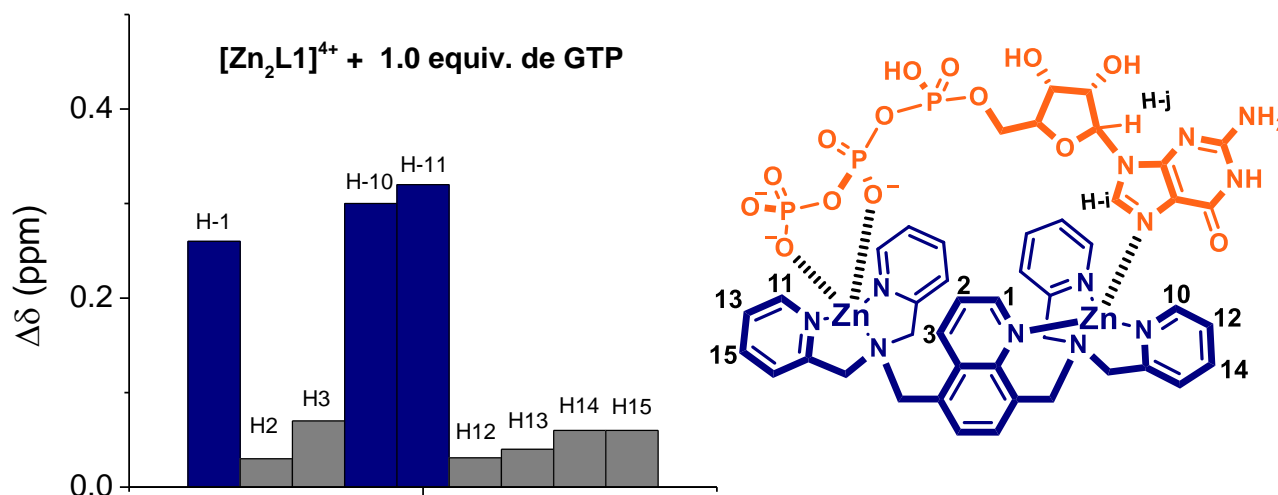
La primera evidencia de la alta afinidad del complejo tetracatiónico  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  por GTP se obtuvo mediante mediciones espectroscópicas de RMN. El esquema 4.3 ilustra la titulación de GTP con  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  monitorizado por mediciones espectroscópicas de  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{D}_2\text{O}$  a  $\text{pH} = 7.0$  (40 mM, MOPS).



**Esquema 4.3** Espectro parcial de  $^1\text{H}$  RMN de la titulación del complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  con GTP en  $\text{D}_2\text{O}$  a  $\text{pH} 7.0$ .

La adición de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (0-1.5 equiv.) a una disolución de GTP 4 mM induce un notable desplazamiento a campo bajo ( $\Delta\delta = 0.29$  ppm a saturación) del protón H-i correspondiente al CH del anillo de cinco miembros de la purina del GTP. Este desplazamiento a campo bajo puede atribuirse a la coordinación eficaz de la guanina a un átomo de Zn (II).

La unión del metal a la parte heterocíclica de la nucleobase no es inesperada porque el átomo  $N^7$  de las purinas y en especial de la guanina, es sin duda el átomo donante más fuerte de las nucleobases debido a su alta basicidad y al favorable potencial electrostático del átomo de nitrógeno.<sup>108</sup> Desde el contexto de la química bioinorgánica se ha demostrado que el intenso momento dipolar de la guanina y la orientación del átomo de  $N^7$  pueden estabilizar cualquier entidad metálica cargada positivamente generando un notable desplazamiento a campo bajo del protón de la guanina.<sup>53,109,110</sup> Por otro lado, también se observa un desplazamiento hacia campo alto del protón H-j de la ribosa ( $\Delta\delta = 0.15$  ppm), que puede atribuirse a posibles interacciones  $CH \cdots \pi$  con los anillos aromáticos del complejo  $[Zn_2L1]^{4+}$ .<sup>53</sup> Los cambios inducidos por la complejación de las señales de los protones del quimiosensor  $[Zn_2L1]^{4+}$  tras la adición de 1.0 equiv. de GTP se muestran en el esquema 4.4.

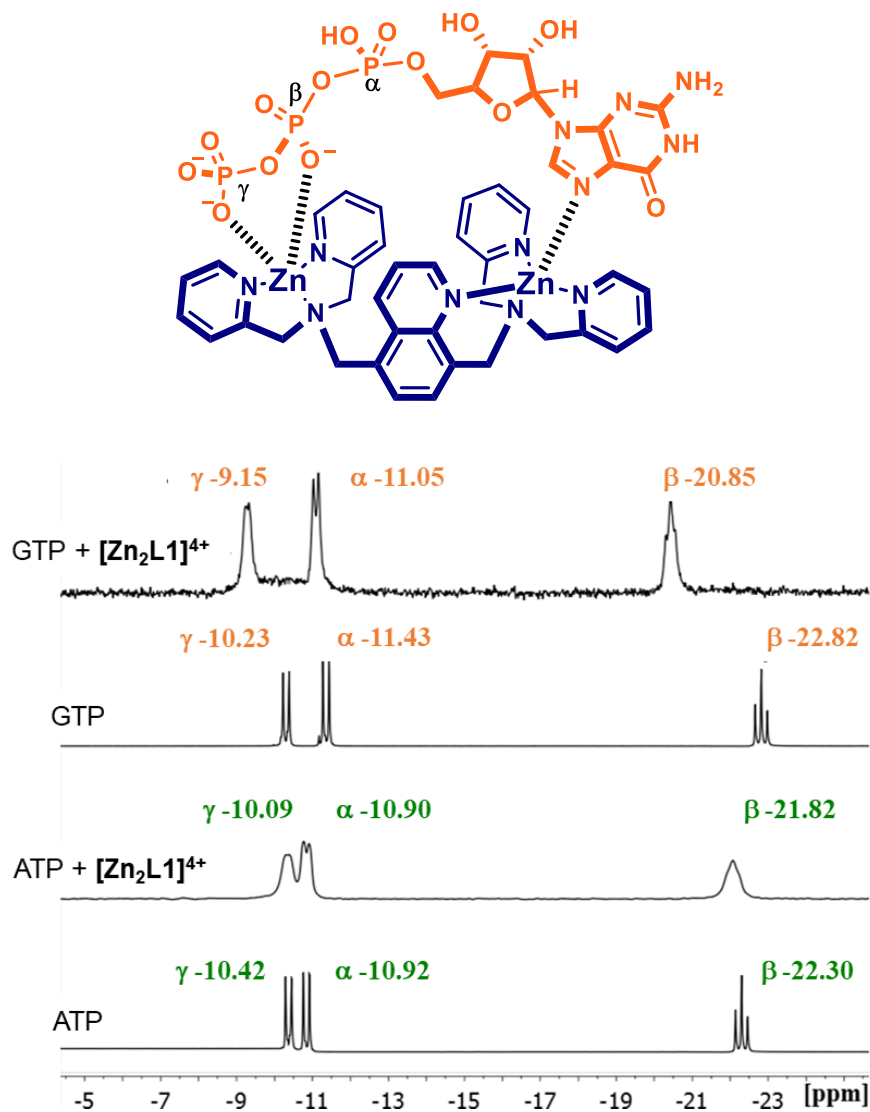


**Esquema 4.4** Desplazamientos de  $^1H$  RMN del complejo  $[Zn_2L1]^{4+}$  inducidos por la complejación de 1.0 equiv. de GTP en  $D_2O$  a pH 7.0.

Todos los protones aromáticos de los quelatos de  $[Zn(DPA)]^{2+}$ , específicamente, H10 y H11 de los anillos de piridina y H1 del anillo de quinolina, mostraron un notable ensanchamiento y un desplazamiento a campo bajo ( $\Delta\delta = 0.4 - 0.3$  ppm) que apoyan la formación del enlace  $Zn-N^7$  con un comportamiento fluxional,<sup>111</sup> este hecho indica que los dos átomos de  $Zn(II)$  participan como sitios de unión (ver esquema 4.7). Todos los protones de  $[Zn_2L1]^{4+}$  se asignaron mediante experimentos bidimensionales HSQC de RMN (ver anexos).

El modo de unión del grupo trifosfato de los nucleótidos de GTP y ATP con  $[Zn_2L1]^{4+}$  también se investigaron mediante mediciones espectroscópicas de  $^{31}P$  RMN.

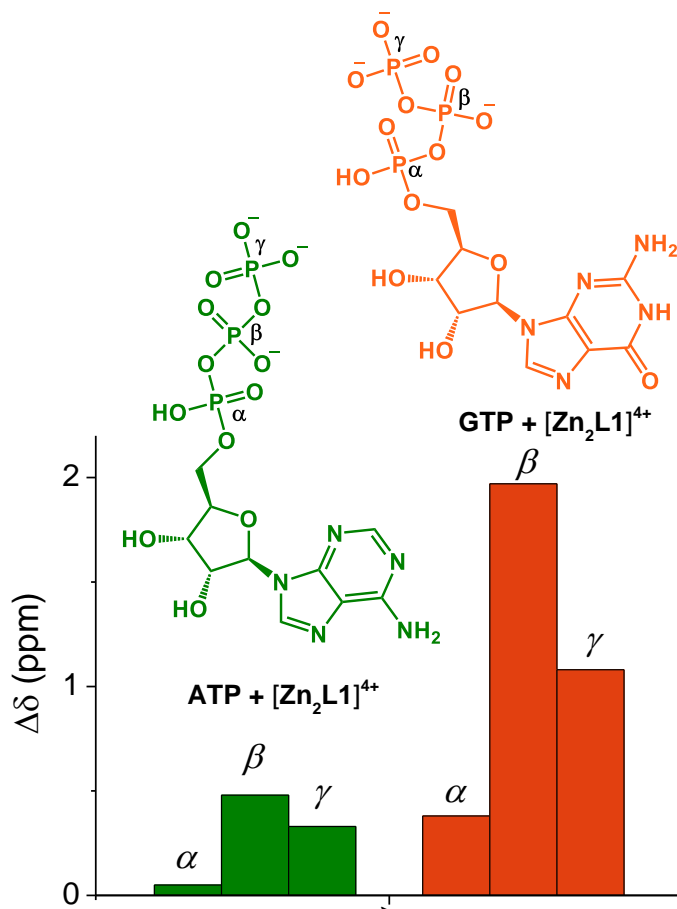
Los núcleos de fósforo del GTP libre tienen señales en  $-10.23$  ( $\gamma\text{-P}$ ),  $-11.43$  ( $\alpha\text{-P}$ ) y  $-22.82$  ( $\beta\text{-P}$ ). La adición de 1.0 equiv. de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  a una disolución de GTP muestra un ensanchamiento considerable de las señales correspondientes a los fósforos  $\beta\text{-P}$  y  $\gamma\text{-P}$  con evidentes cambios en el campo (ver esquema 4.5), lo que sugiere que existe un proceso dinámico a temperatura ambiente, que puede ser asignado al equilibrio entre los dos complejos supramoleculares isoméricos propuestos en el esquema 4.7.



**Esquema 4.5** Espectros de  $^{31}\text{P}$  RMN de GTP y ATP (4.0 mM) en presencia de 1.0 equiv. de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en  $\text{D}_2\text{O}$ .

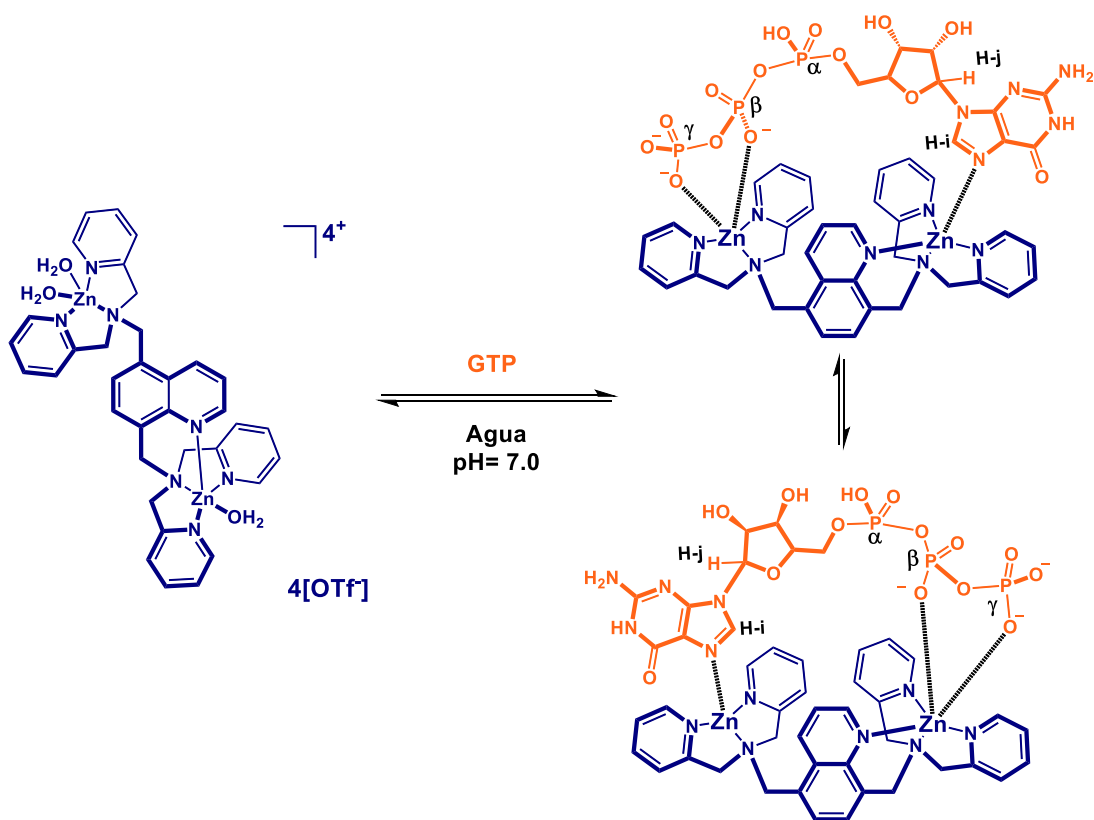
En el caso del ATP, todos los grupos fosfato mostraron cambios hacia campo bajo más pequeños ( $\Delta\delta \leq 0.5$  ppm) que los observados para GTP, lo que indica una asociación más débil con  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (ver esquemas 4.5 y 4.6).





**Esquema 4.6** Desplazamientos de  $^{31}\text{P}$  RMN de ATP y GTP inducidos por la complejación de 1.0 equiv. de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en  $\text{D}_2\text{O}$  a pH 7.0.

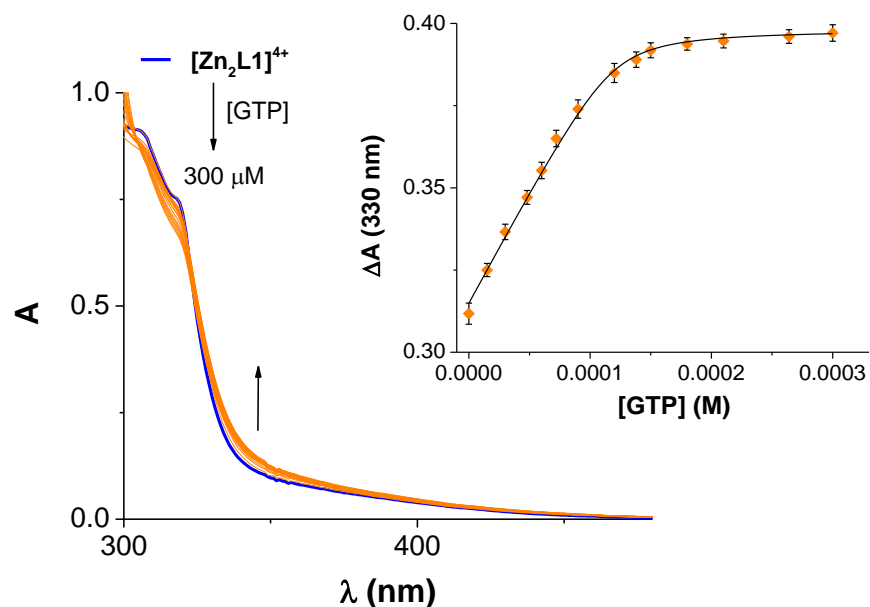
Los resultados espectroscópicos de RMN de los núcleos de  $^1\text{H}$  y  $^{31}\text{P}$  sugieren la coordinación simultánea de los dos fosfatos ( $\beta\text{-P}$  y  $\gamma\text{-P}$ ) y el átomo  $\text{N}^7$  de la purina de guanina con los dos átomos de  $\text{Zn}$  (II). Las señales de  $^1\text{H}$  RMN y  $^{31}\text{P}$  RMN de GTP se desplazan y ensanchan, lo que puede atribuirse a la formación de dos complejos supramoleculares isoméricos representados como dos rotámeros en equilibrio dinámico en el esquema 4.7. Hay varios ejemplos de receptores bimetalicos para  $\text{PPi}$  <sup>59,100,101,112,113</sup> y  $\text{ATP}$  <sup>102-105,114</sup> operando simultáneamente a través de dos puntos de unión, de hecho, existen conformaciones dobladas de nucleótidos que presentan estos modos de unión en algunos cristales de  $\text{ATP/GTP-proteína}$ .<sup>115,116</sup> Además, se han observado características espectroscópicas de RMN similares, específicamente el desplazamiento hacia campo bajo de las señales de  $^{31}\text{P}$  (~ 2.0 ppm), con policationes orgánicas <sup>117</sup> y receptores artificiales basados en  $\text{Zn}$  (II), estos desplazamientos se atribuyen a la formación de fuertes interacciones de enlace de hidrógeno o enlaces  $\text{Zn}$  (II)-fosfato, respectivamente.<sup>99</sup>



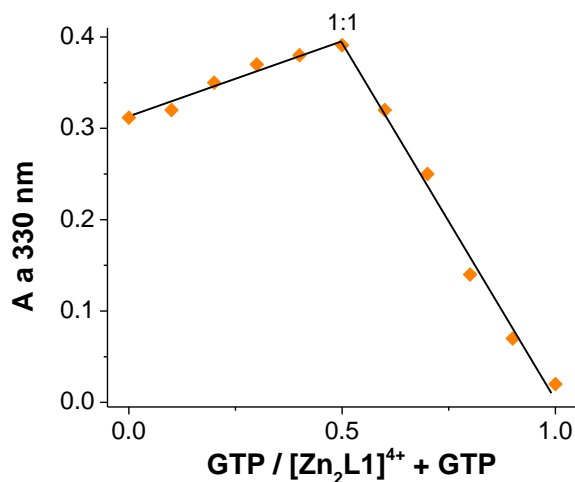
**Esquema 4.7** Equilibrio dinámico propuesto entre  $\text{GTP}-[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ .

El esquema 4.8 copila la familia de espectros de UV-Vis obtenidos cuando una disolución acuosa neutra de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (100  $\mu\text{M}$ ) se valora con GTP (0-3.0 equiv.). El recuadro interno del esquema 4.8 muestra el aumento de absorbancia a 330 nm ( $\Delta A=0.08$ ) con la adición progresiva de GTP. La curva de perfil de la absorbancia a 330 nm permaneció sin cambios cuando la relación  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}/\text{GTP}$  alcanzó 1.0 equiv., lo que sugiere una estequiometría 1:1. Sólo se observó un punto isobéptico a 325 nm y el gráfico de Job confirmó la estequiometría 1:1 (ver esquema 4.9). El perfil de titulación podría ajustarse bien a un modelo de unión 1:1 utilizando un tratamiento de mínimos cuadrados no lineal con la ecuación (1) para dar una constante de asociación aparente de  $\text{Log}K_{(1:1)} = 5.54 \pm 0.02$ . Donde  $A_{obs}$  es la absorbancia observada,  $A_H$  es la absorbancia del quimiosensor libre,  $\Delta A_\infty$  es el cambio máximo de absorbancia inducido por la presencia de GTP a saturación,  $[\text{H}]_T$  es la concentración total del quimiosensor,  $[\text{G}]_T$  es la concentración total del huésped y  $K_{(1:1)}$  es la constante de asociación.

$$A_{obs} = A_H + \frac{\Delta A_\infty \left\{ [\text{H}]_T + [\text{G}]_T + \frac{1}{K_{(1:1)}} - \left[ \left( [\text{H}]_T + [\text{G}]_T + \frac{1}{K_{(1:1)}} \right)^2 - 4[\text{H}]_T[\text{G}]_T \right]^{0.5} \right\}}{2[\text{H}]_T} \quad (1)$$

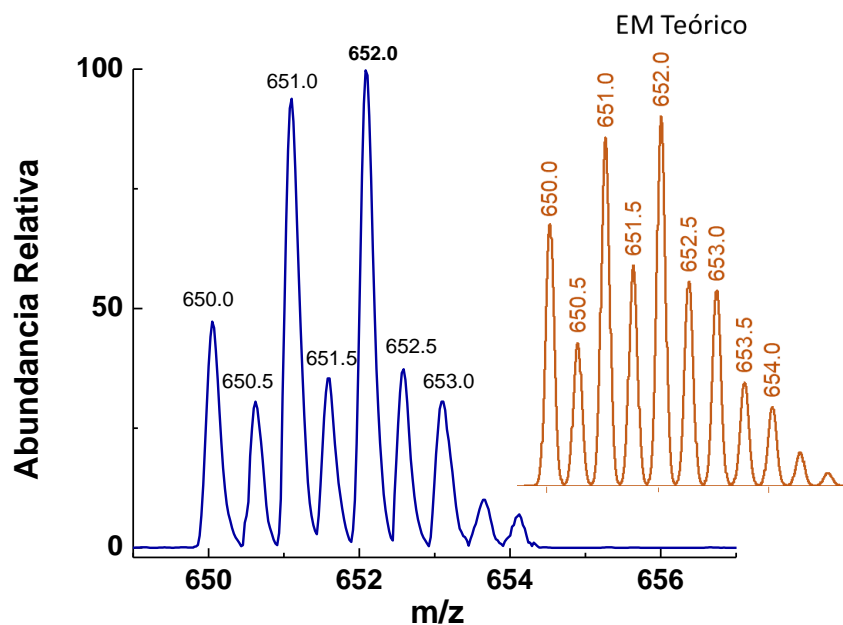


**Esquema 4.8** Titulación UV-Vis de una disolución de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (100  $\mu\text{M}$ ) con GTP a pH 7.0. Las flechas indican la dirección de los cambios espectrales. El recuadro interno muestra el perfil de absorbancia a 330 nm para cantidades crecientes de GTP.



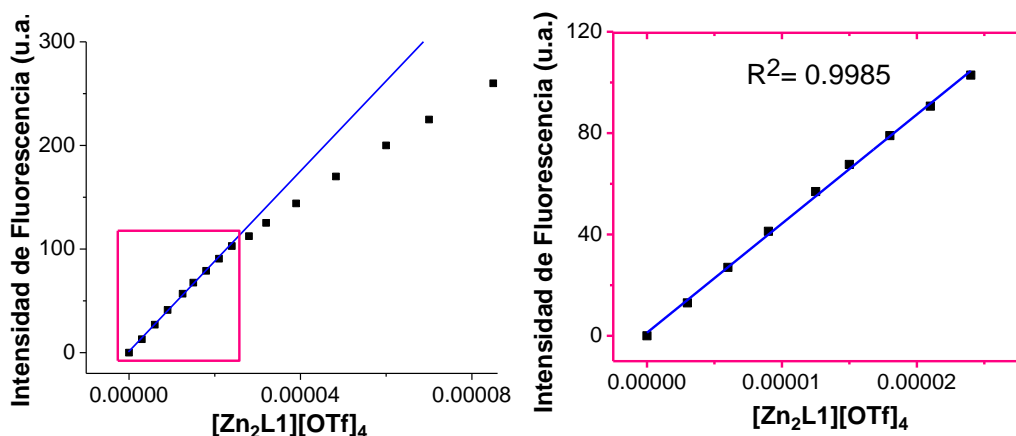
**Esquema 4.9** Grafico de Job. Análisis estequiométrico de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  con GTP a 330 nm.

El espectro de masas ( $\text{ESI}^+$ ) de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  en presencia de 1.0 equiv. de la sal disódica de GTP mostró prácticamente una especie a 652.06 m/z (ver esquema 5.0), que se resolvió isotópicamente y se puede atribuir al complejo dicatiónico supramolecular 1:1,  $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + \text{GTP}^{-4} + 2\text{Na}^+ + 3\text{H}_2\text{O}\}^{2+}$  (652.05 m/z). Los picos experimentales, separados por 0.5 unidades m/z, coinciden bien con la distribución isotópica teórica para el complejo 1:1 como se muestra en el esquema 4.10. Estos experimentos confirman inequívocamente la coordinación de GTP al complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en agua neutra.



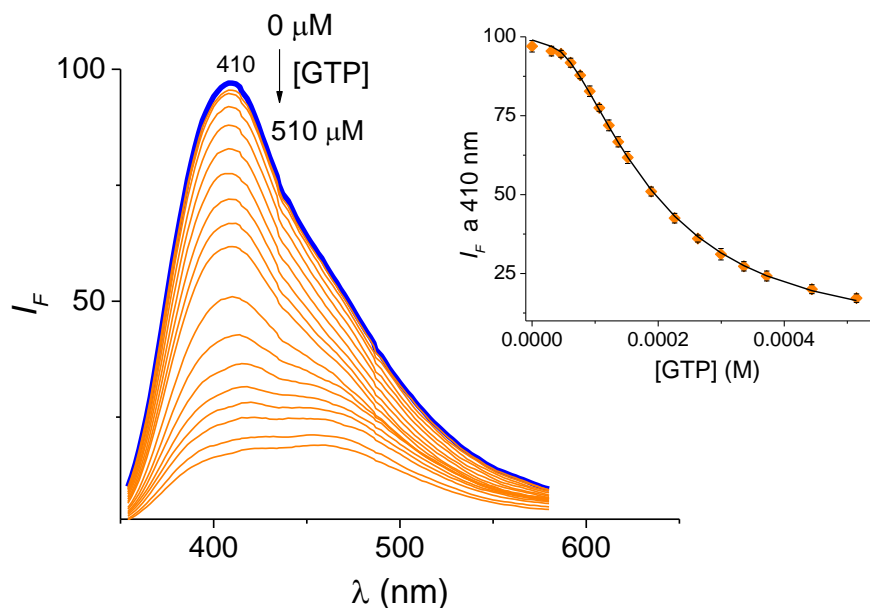
Esquema 4.10 EM (ESI<sup>+</sup>) de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (150  $\mu\text{M}$ ) con 1.0 equiv. de GTP a pH 7.0.

Para obtener una respuesta óptica más sensible, se exploró la detección de aniones mediante espectroscopía de fluorescencia. Se sabe que, cuando los derivados de fosfato se unen a receptores de Zn (II), las propiedades fotofísicas de los receptores, se modifican a través de diferentes mecanismos que proporcionan una señal que indica la unión del anión. De hecho, varios mecanismos de señalización, como PET,<sup>112,117,118</sup> FRET,<sup>63</sup> MLCT,<sup>53</sup> CHEF<sup>66,105</sup> y ICT<sup>119</sup> se han desarrollado para quimiosensores basados en Zn (II). El rango máximo de concentración donde el complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  no presenta desviaciones a la ley de Lambert-Beer es de 25  $\mu\text{M}$  a pH 7.0 (MOPS 40 mM) por lo tanto, se usó una concentración inferior a 25  $\mu\text{M}$  del  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  para realizar los experimentos por espectroscopía de fluorescencia (ver esquema 4.11).

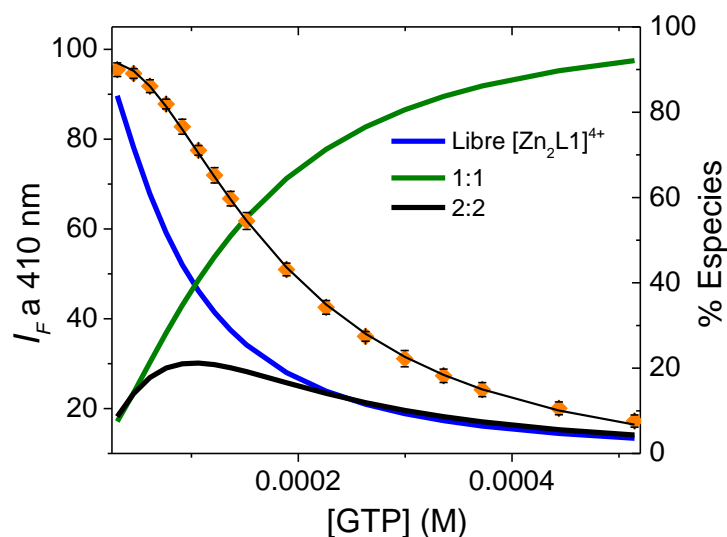


Esquema 4.11 Emisión Fluorescente vs concentración de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  a pH 7.0.

La adición de GTP a una disolución de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) induce una fuerte extinción con un desplazamiento al rojo de la banda de emisión a  $\lambda_{\text{em}} = 410 \text{ nm}$  como se muestra en el esquema 4.12. Inesperadamente, el perfil de titulación fluorimétrica mostró una clara curva sigmoidea, que se puede ajustar perfectamente a una combinación de complejos ensamblados con modelos 1:1 y 2:2, (modelo 1:1 =  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + \text{GTP} \rightleftharpoons [\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} \cdot \text{GTP}$ ,  $\text{Log} \beta_1$  y modelo 2:2 =  $2[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 2\text{GTP} \rightleftharpoons 2[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} \cdot 2\text{GTP}$ ) como se muestra en el esquema 4.13.

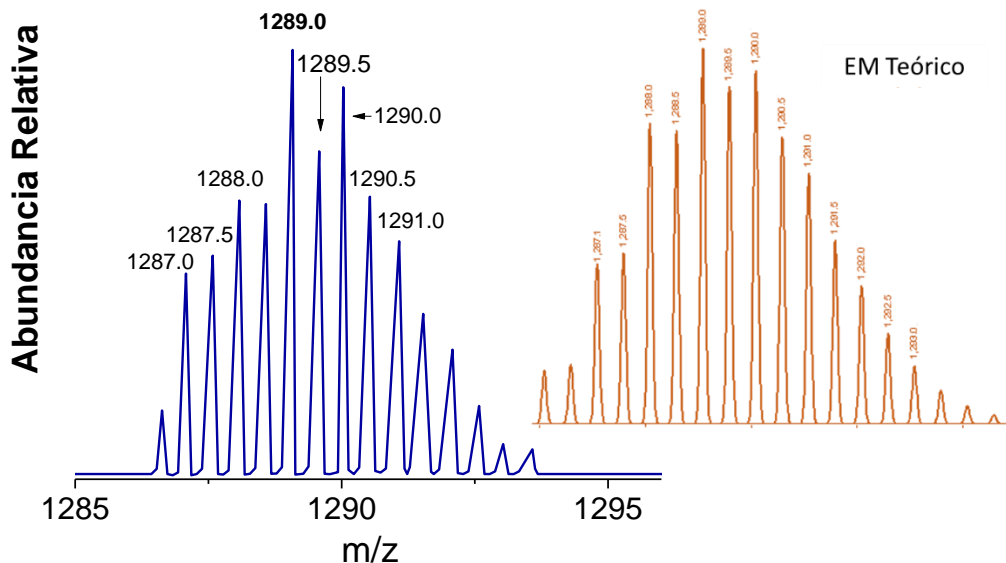


**Esquema 4.12** Titulación fluorimétrica de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  ( $15 \mu\text{M}$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 325 \text{ nm}$ ) con GTP a pH 7.0. El recuadro interno muestra el perfil de fluorescencia a  $410 \text{ nm}$ , la línea continua se obtuvo ajustando los datos experimentales ( $\blacklozenge$ ) a modelos 1:1 y 2:2.



**Esquema 4.13** Diagrama de especiación del sistema  $\text{GTP}/[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ ; Donde el porcentaje % está referido a la concentración total de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ .

En el diagrama de especiación (ver esquema 4.13) se observa que el complejo 2:2 se forma en una abundancia máxima del 22% a 92  $\mu\text{M}$  de GTP. Este complejo 2:2 se detectó mediante EM-ESI<sup>+</sup> a baja concentración de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  ( $\sim 5 \mu\text{M}$ ) con 1.0 equiv. de GTP en una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}$ , 8/2 v/v (ver esquema 4.14). Los picos separados por 0.5 unidades de m/z, se resolvieron isotópicamente y coinciden bien con la distribución isotópica teórica para el complejo supramolecular dicatiónico  $\{2[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 2\text{GTP}^{-3} + \text{Na}^+ + \text{OTf}\}^{+2}$  (1289.0 m/z).

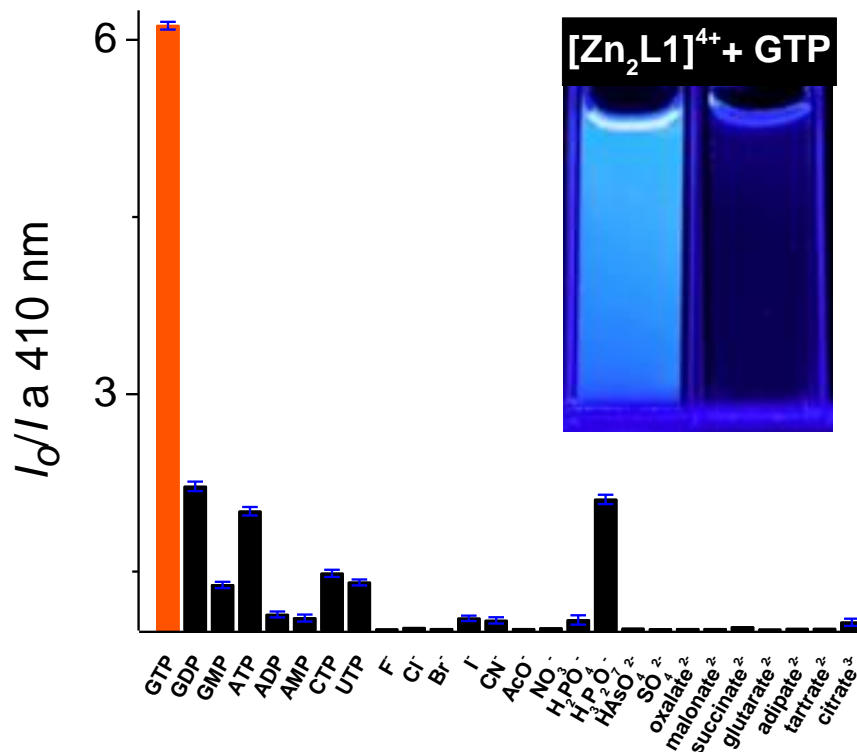


**Esquema 4.14** EM (ESI<sup>+</sup>) de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  ( $5 \mu\text{M}$ ) con 1.0 equiv. de GTP.

Las constantes globales de asociación estimadas, ( $\text{Log}\beta_n$ , donde  $\beta_1 = K_{(1:1)}$  correspondiente a la constante de asociación escalonada para el modelo 1:1 y  $\beta_2 = K_{(2:2)} \cdot \beta_1$  correspondiente a la constante global para los modelos 1:1 y 2:2), son curiosamente altas,  $\text{Log}\beta_1 = 6.05 \pm 0.01$  y  $\text{Log}\beta_2 = 10.91 \pm 0.03$ , debido a los efectos sinérgicos entre los enlaces Zn-fosfato  $\beta$ , Zn-N<sup>7</sup>(guanina) y las interacciones C-H<sub>ribosa</sub>... $\pi$ (anillos aromáticos de **L1**) presentes en los sistemas GTP/ $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  tal y como se observa en los experimentos espectroscópicos de RMN. La constante de asociación para el modelo 1:1 ( $\text{Log}K_{(1:1)} = 6.05 \pm 0.01$ ) calculada a partir de los datos de fluorescencia es mayor en comparación con la estimada por UV-Vis ( $\text{Log}K_{(1:1)} = 5.54 \pm 0.02$ ) y esto se debe probablemente a la formación de excíplejos.<sup>117,118</sup> En la literatura se han reportado efectos sinérgicos similares entre enlaces de coordinación e interacciones de apilamiento  $\pi$  para varios complejos de Zn (II) con nucleótidos y PPI,<sup>52,60,64,110,120</sup> por ejemplo, el complejo dinuclear de Zn (II) a base de una tetraamina es capaz de unirse a PPI formando macrociclos estables 1:1 y 2:2 con alta afinidad.<sup>111</sup>

Si se observa el diagrama de especiación del esquema 4.13, a concentraciones más altas de GTP ( $> 300 \mu\text{M}$ ), el complejo 1:1 se forma con una abundancia del 92%, lo que demuestra que a concentraciones por arriba de  $92 \mu\text{M}$  se desfavorece la formación del complejo 2:2 y por tanto el complejo 1:1 prevalece con mayor abundancia. La coexistencia de los dos complejos supramoleculares (1:1 y 2:2) observados a partir de los datos de fluorescencia está respaldada por las mediciones de EM-ESI. La formación del complejo 2:2 a altas concentraciones de GTP es prácticamente nula, por esta razón, esta especie no se observa en el experimento de titulación espectrofotométrica por UV-Vis. Las constantes globales de asociación se calcularon con el programa HypSpec-Hyperquad <sup>121</sup> y están tabuladas en la tabla 4.0.

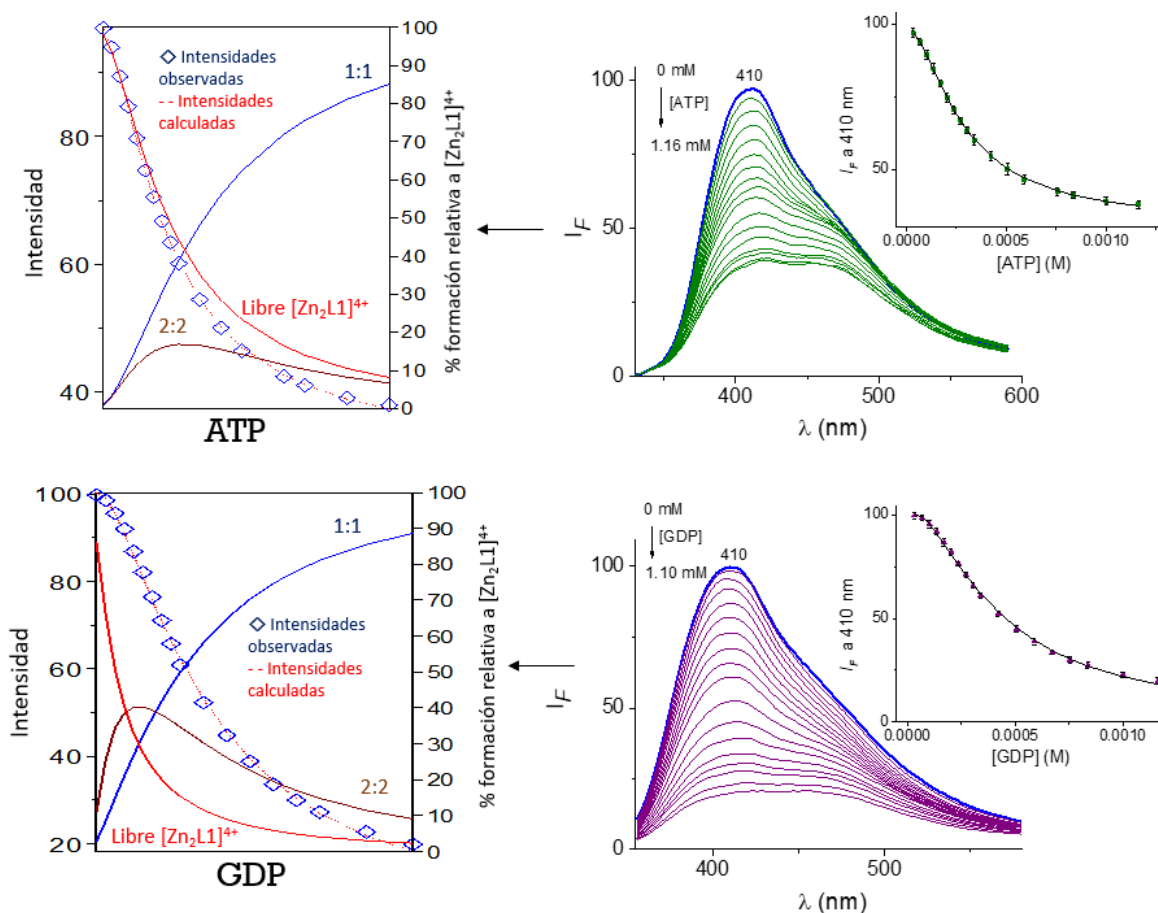
Para analizar la selectividad aniónica de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  se utilizaron sales de sodio de una extensa serie de aniones: GTP, GDP, GMP, ATP, ADP, CTP, UTP, halogenuros,  $\text{CN}^-$ , carboxilatos y oxoaniones. Se prepararon disoluciones stocks de estos aniones y se agregaron a una disolución acuosa amortiguada a pH 7.0 del complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  ( $15 \mu\text{M}$ ), la disminución de la intensidad de emisión del complejo se registró a  $410 \text{ nm}$  (ver esquema 4.15). Todos los halogenuros,  $\text{CN}^-$ , oxoaniones, carboxilatos, GMP, UTP y CTP dieron respuestas muy bajas.



**Esquema 4.15** Disminución de la fluorescencia a  $410 \text{ nm}$  de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) después de adicionar 20 equiv. de disoluciones sódicas de diferentes aniones.

La adición de ATP, GDP y PPI resultó en una modesta disminución en las intensidades de emisión, pero aún fueron significativamente más bajas que las observadas para GTP. Las interferencias de algunos nucleótidos como el ATP y el GDP es común en la detección y el reconocimiento de GTP. En este sentido, es notable que el sensor  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  sea selectivo para GTP sobre ATP, porque el ATP tiene una menor energía de hidratación y además se ha demostrado que el ATP forma complejos más estables con receptores simétricos basados en complejos de Zn (II).<sup>48,58,110,122-124</sup> Está claro que el complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  reconoce GTP con excelente sensibilidad y selectividad sobre otros nucleótidos y PPI.

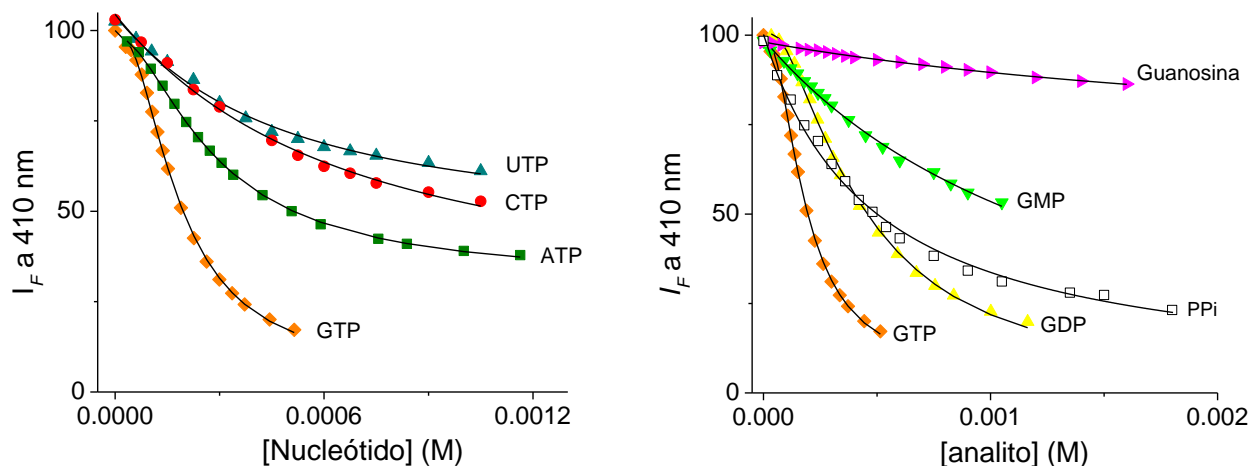
Las constantes de asociación con ATP, GDP, UTP, CTP, PPI y guanosina se determinaron a las mismas condiciones que se muestran en el esquema 4.12. Para ATP y GDP, los perfiles de fluorescencia a 410 nm también mostraron curvas sigmoideas (ver esquema 4.16).



**Esquema 4.16** (Derecha) Titulaciones fluorimétricas de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  (15  $\mu\text{M}$ ;  $\lambda_{\text{ex}} = 325$  nm) con ATP (verde) y GDP (violeta) a pH 7.0. El recuadro interno muestra el perfil a 410 nm, la línea continua se obtuvo ajustando los datos experimentales ( $\diamond$ ) a modelos 1:1 y 2:2. (Izquierda) Diagramas de especiación de los sistemas ATP/ $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ , GDP/ $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$ .



Los valores de las constantes globales de asociación,  $\text{Log}\beta_{1(1:1)} = 4.58 \pm 0.02$ ,  $\text{Log}\beta_2 = 8.50 \pm 0.02$  para ATP y  $\text{Log}\beta_{1(1:1)} = 5.01 \pm 0.04$ ,  $\text{Log}\beta_2 = 9.42 \pm 0.03$  para GDP, son dos órdenes de magnitud más bajos que los estimados para el GTP (ver tabla 4.0). Por el contrario, CTP, UTP, GMP, PPI y guanosina mostraron un perfil común que se puede ajustar a un modelo de unión 1:1 con valores de  $\text{Log}K_{(1:1)}$  CTP=  $3.25 \pm 0.02$ ,  $\text{Log}K_{(1:1)}$  UTP=  $3.42 \pm 0.05$ ,  $\text{Log}K_{(1:1)}$  GMP=  $2.82 \pm 0.05$ ,  $\text{Log}K_{(1:1)}$  PPI=  $3.32 \pm 0.04$  y  $\text{Log}K_{(1:1)}$  guanosina=  $2.07 \pm 0.08$  (ver tabla 4.1). Los perfiles fluorimétricos a 410 nm para estos analitos se muestran en el esquema 4.17. En general, estas observaciones cuantitativas denotan que la presencia de grupos fosfato  $\beta$  y  $\gamma$  en GTP y GDP aumenta la afinidad hacia  $[Zn_2L1]^{4+}$  en comparación con GMP y guanosina. A bajas concentraciones, la presencia de fosfatos  $\beta$  y  $\gamma$  favorecen la formación de estequiometrías 2:2 en comparación con los perfiles de fluorescencia de GMP y guanosina que carecen de estos sitios de unión a metales.

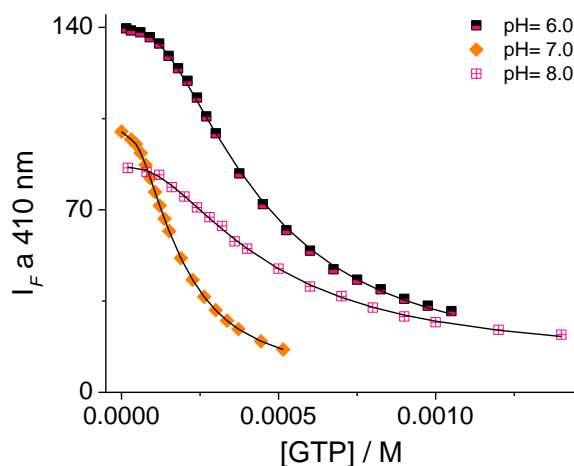


**Esquema 4.17** Perfiles de fluorescencia a 410 nm de disoluciones acuosas de  $[Zn_2L1]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) a pH 7.0 (MOPS 40mM) con una serie de nucleótidos trifosfato (izquierda) y con GDP, GMP, PPI y guanosina (derecha). En todos los experimentos la fuerza iónica se ajustó a 0.05 M de NaCl.

Por otro lado, la comparación directa de constantes de estabilidad con complejos de diferentes estequiometrías puede ser una interpretación engañosa. Para una comparación confiable, se puede utilizar el parámetro  $BC_{50}^\circ$  propuesto recientemente por Roelens.<sup>126</sup> El parámetro intrínseco de concentración media de asociación ( $BC_{50}^\circ$ ,  $\mu\text{M}$ ) es un descriptor de afinidad generalizado que define unívocamente la capacidad de unión de un receptor en sistemas químicos que involucran múltiples especies complejas. Cuanto menor sea el valor de este parámetro, mayor será la afinidad. Conceptualmente, para equilibrios de unión 1:1,  $BC_{50}^\circ$  coincide con la constante de disociación,  $K_d$ .<sup>125</sup>

Los valores de  $\text{BC}_{50}^\circ$ , calculados a partir de las constantes de asociación medidas a pH 7.0, también se compilan en la tabla 4.0, a partir de este parámetro, se observa claramente que el quimiosensor  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  exhibe una afinidad sobresaliente hacia GTP con un valor de  $\text{BC}_{50}^\circ$  de  $0.9 \pm 0.2 \mu\text{M}$  mientras que la afinidad de este complejo hacia el GDP y el ATP es 1 orden de magnitud menor. Este parámetro,  $\text{BC}_{50}^\circ$ , también se calculó incluyendo el complejo 2:2 ( $\text{Log}\beta_2$ ) para GTP, GDP, ATP y sorprendentemente, el parámetro  $\text{BC}_{50}^\circ$  es insensible a la presencia del complejo 2:2. La razón de esto se debe a la mayor estequiometría, el complejo 2: 2 comienza a contribuir a la afinidad general solo para valores superiores al doble del valor de la constante  $\text{Log}\beta_1$ , del modelo 1:1.

Notablemente, hubo dependencia lineal de la intensidad de fluorescencia de la concentración de GTP en el rango de 50-180  $\mu\text{M}$  ( $R^2 = 0.998$ ) con un límite de detección de  $9.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ . El límite de detección se define como  $\text{LOD} = 3\sigma/s$ , donde  $\sigma$  es la desviación estándar del blanco y  $s$  es la pendiente de la curva de calibración o constante de Stern-Volmer ( $K_{\text{SV}} = 3.2 \pm 0.08 \times 10^4$ ). También se exploró el efecto del pH sobre la mitigación de la fluorescencia por GTP sobre  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en el rango de 6.0 y 8.0. Los perfiles fluorimétricos en 410 nm y los correspondientes parámetros de afinidad, mediante el ajuste a una combinación de modelos 1:1 y 2:2, se muestran en el esquema 4.18 y la tabla 4.0.



**Esquema 4.18** Perfiles de fluorescencia a 410 nm de disoluciones acuosas de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) a diferentes pH con adiciones crecientes de GTP.

A pH 6.0 y 8.0, se observó una menor afinidad de GTP hacia  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en comparación con un pH de 7.0; este hecho puede ser resultado de la disminución de la carga negativa de GTP ( $\text{HGTP}^{-3} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{GTP}^{-2}$ ;  $\text{pK}_a = 7.04$ )<sup>127</sup> y por la posible formación de hidroxocomplejos,<sup>110</sup> respectivamente.

**Tabla 4.0** Constantes globales de asociación ( $\text{Log}\beta_n$ )<sup>a</sup>, parámetro de atenuación de la fluorescencia ( $I_0/I$ ) y parámetro intrínseco de concentración media de asociación ( $\text{BC}_{50}^\circ$ ,  $\mu\text{M}$ )<sup>b</sup> para [Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> con GTP, ATP y GDP.

	$\text{Log}\beta_{1(1:1)}^c$	$\text{Log}\beta_2^d$	$I_0/I^e$	$\text{BC}_{50}^\circ$ ( $\mu\text{M}$ )	pH
<b>GTP</b>	$6.05 \pm 0.01$	$10.91 \pm 0.03$	6.12	$0.9 \pm 0.2$	7.0
	$5.26 \pm 0.01$	$9.66 \pm 0.02$	2.25	NC <sup>f</sup>	6.0
	$5.14 \pm 0.01$	$9.87 \pm 0.02$	1.82	NC <sup>f</sup>	8.0
<b>GDP</b>	$5.01 \pm 0.04$	$9.42 \pm 0.03$	2.22	$9.8 \pm 0.8$	7.0
<b>ATP</b>	$4.58 \pm 0.02$	$8.50 \pm 0.02$	1.98	$26.0 \pm 1.0$	7.0

<sup>a</sup> Constantes de asociación globales ( $\text{log}\beta_n$ ) directamente obtenidas de los equilibrios químicos 1:1 y 2:2 de los perfiles fluorimétricos sigmoidales a 410 nm utilizando el programa HypSpec – Hyperquad.

<sup>b</sup> Calculado desde el valor de  $\text{log}\beta_1$  a pH 7.0 usando el programa libre “BC<sub>50</sub>° Calculator”

<sup>c</sup>  $\beta_1$  es la constante de asociación escalonada para el modelo 1:1;  $[\text{Zn}_2\text{L1}] \cdot \text{GTP} = \beta_1 [\text{Zn}_2\text{L1}][\text{GTP}]$ ;  $\beta_1 = K_{1:1}$ .

<sup>d</sup>  $\beta_2$  es la constante de formación global para los modelos 1:1 y 2:2.  $\beta_2 = K_{2:2}\beta_1$  donde  $K_{2:2}$  es una constante escalonada para el modelo 2:2;  $[\text{Zn}_2\text{L1}]_2 \cdot \text{GTP}_2 = K_{2:2} [\text{Zn}_2\text{L1}]^2 [\text{GTP}]^2$ .

<sup>e</sup>  $I_0/I$  indica el parámetro relativo de atenuación de la fluorescencia a 410 nm de [Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> en presencia de 0.5 mM de el correspondiente nucleótido.

<sup>f</sup> No calculado.

**Tabla 4.1** Constantes de asociación y parámetro de atenuación de la fluorescencia ( $I_0/I$ ) para CTP, UTP, GMP, PPi y guanosina.

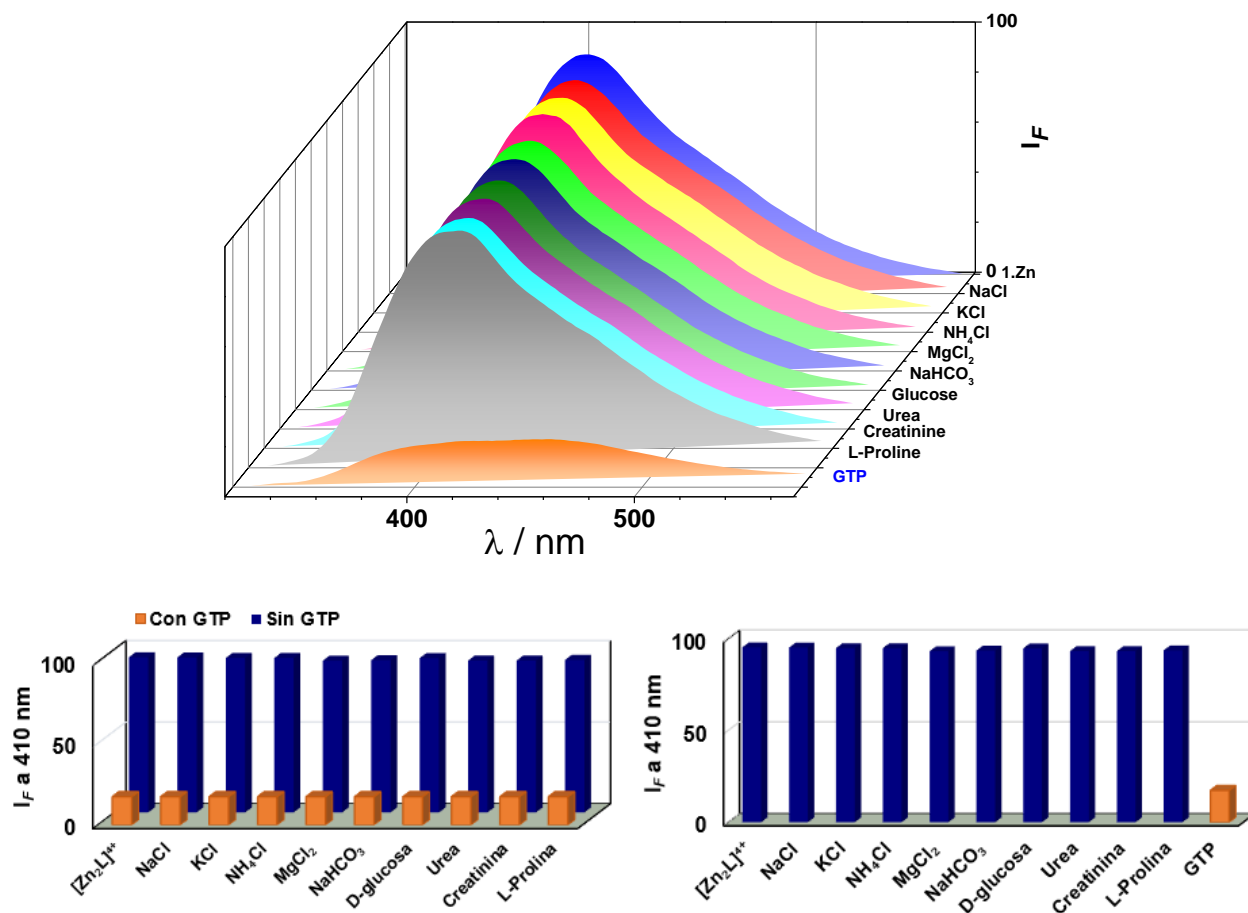
	$\text{Log}\beta_{1(1:1)}^a$	$I_0/I$
<b>CTP</b>	$3.25 \pm 0.02$	1.48
<b>UTP</b>	$3.42 \pm 0.05$	1.40
<b>GMP</b>	$2.82 \pm 0.05$	1.38
<b>PPi</b>	$3.32 \pm 0.04$	2.11
<b>Guanosine</b>	$2.07 \pm 0.08$	1.08

<sup>a</sup> Se uso la ecuación 2

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

Donde  $I_{obs}$  es la intensidad de fluorescencia observada,  $I_H$  es la intensidad del quimiosensor libre,  $\Delta I_\infty$  es el cambio de fluorescencia máximo inducido por la presencia de GTP a saturación,  $[G]_T$  es la concentración total del huésped,  $[H]_T$  es la concentración total del quimiosensor y  $K_{(1:1)}$  es la constante de asociación.

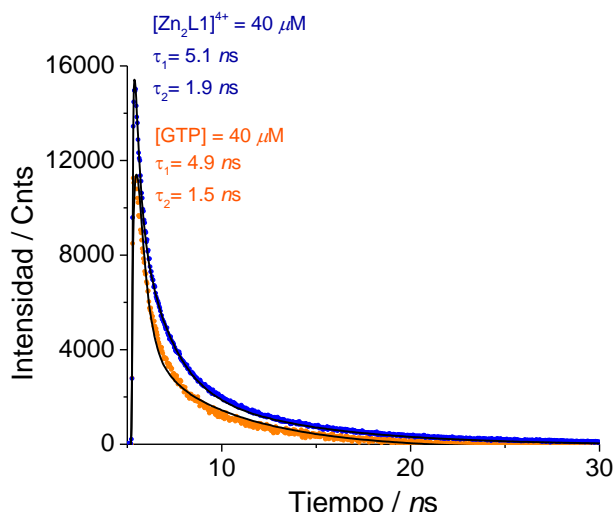
Para aplicaciones prácticas, se requiere que los quimiosensores no solo tengan una buena respuesta óptica y una excelente afinidad, también se requiere elevada selectividad en presencia de posibles interferencias coexistentes. Por lo tanto, se llevó a cabo un experimento de selectividad de [Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> hacia sustancias biológicas interferentes en el plasma sanguíneo y la orina como urea, creatinina, L-prolina, D-glucosa, NaCl, KCl, NH<sub>4</sub>Cl, MgCl<sub>2</sub> y NaHCO<sub>3</sub> a pH = 7.0. Las adiciones de estos componentes biológicos a una disolución acuosa de [Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> producen un cambio insignificante de su emisión (ver esquema 4.19).



**Esquema 4.19** Espectros de fluorescencia (arriba). Respuestas de fluorescencia de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  hacia GTP en presencia de varios componentes del plasma sanguíneo, 1.0 mM (izquierda) e Intensidades a 410 nm de disoluciones acuosas  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) a pH = 7.0 con varios componentes del plasma sanguíneo (derecha).

El esquema 4.19 (abajo-izquierda) muestra que la respuesta de atenuación de la emisión de fluorescencia a 410 nm inducida por GTP no se ve afectada por los componentes del plasma sanguíneo y la orina. Como resultado, sólo el GTP induce una fuerte atenuación de la emisión de fluorescencia con cambio de color de azul a incoloro bajo luz ultravioleta (ver esquema 4.15 y 4.19). Este hallazgo es interesante porque  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  puede actuar como un quimiosensor visualmente selectivo para detectar GTP en un fluido biológico como la orina.

Para estudiar el proceso de extinción de la fluorescencia, se midió el tiempo de vida media de la fluorescencia del complejo  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  en ausencia y presencia de 1.0 equiv. de GTP. Tras la excitación con un láser de 354 nm a una disolución acuosa del complejo dinuclear  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  se exhibió un decaimiento biexponencial con tiempos de vida  $\tau_1 = 5.1$  y  $\tau_2 = 1.9$  ns (ver esquema 4.20).

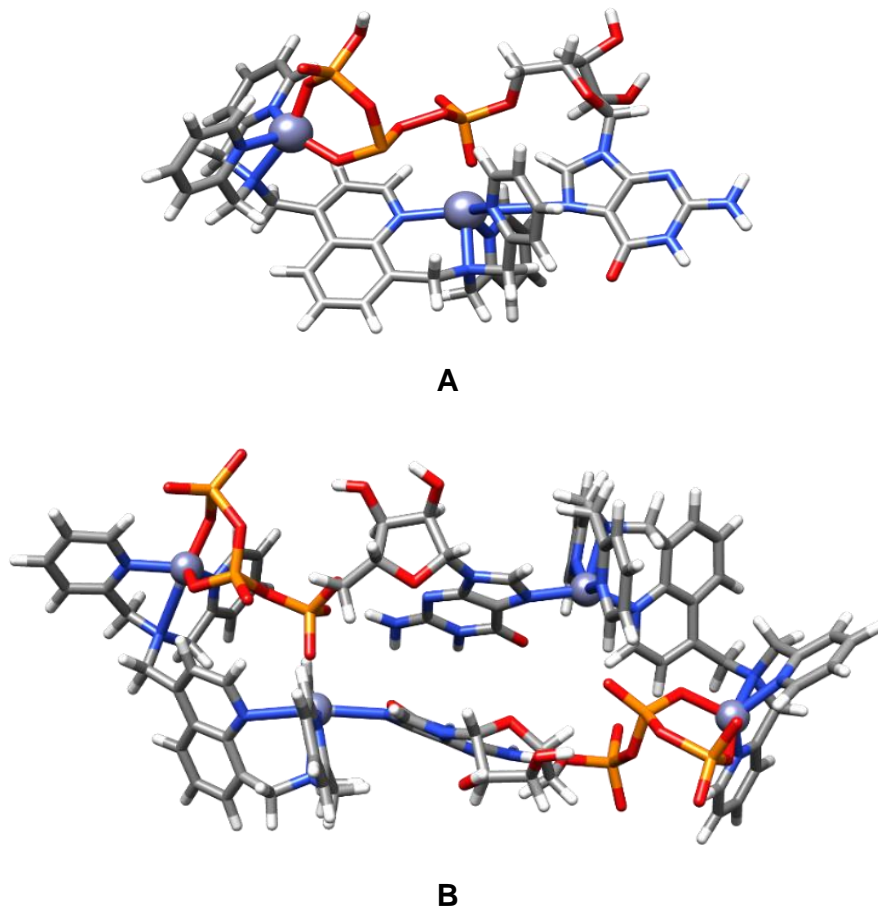


**Esquema 4.20** Decaimiento de la fluorescencia de  $[Zn_2L1]^{4+}$  en ausencia y presencia de 1.0 equiv. de GTP.

El complejo  $[Zn_2L1]^{4+}$  con 1.0 equiv. de GTP mostró tiempos de vida biexponenciales casi idénticos al complejo libre,  $\tau_1 = 4.9$  y  $\tau_2 = 1.5$  ns, lo que sugiere que la energía de transición es prácticamente la misma en los dos sistemas, para ambos sistemas la emisión proviene del estado singlete, esta singularidad en los tiempos de vida media de la fluorescencia puede atribuirse a la coordinación de la quinolina (fluoróforo del sistema) a uno de los iones Zn (II), esta aseveración está respaldada por mediciones espectroscópicas de  $^1H$  RMN.<sup>128</sup> Al tratarse del mismo fluoróforo en ambos sistemas, es lógico que la emisión provenga de la misma transición y por lo tanto, el tiempo de vida media no cambie significativamente. Previamente se han informado propiedades fotofísicas similares con emisión azul y vida útil de fluorescencia en el rango de nanosegundos para varios complejos de Zn (II) basados en (iso)quinolina.<sup>101,129-140</sup> Esta emisión azul generalmente se atribuye a la transferencia de carga parcial desde la quinolina en el estado excitado al átomo de Zn (II)<sup>141</sup> y también al aumento de la rigidez del ligante aromático en el complejo, lo que da como resultado una fluorescencia mejorada por quelación y una reducción de la pérdida de energía a través de procesos no radiativos.<sup>142,143</sup> Se sabe que la atenuación estática de la fluorescencia (complejación) no genera un cambio considerable en los valores de tiempo de vida media al agregar un atenuador, mientras que un cambio significativo en la vida media de la fluorescencia se asigna a una atenuación dinámica.<sup>144,145</sup> Estas mediciones de tiempo de vida media de la fluorescencia respaldan que la atenuación de la emisión al agregar GTP corresponde a un proceso estático (complejación) con estabilidad química del enlace Zn-quinolina.

### 3. Estudios DFT

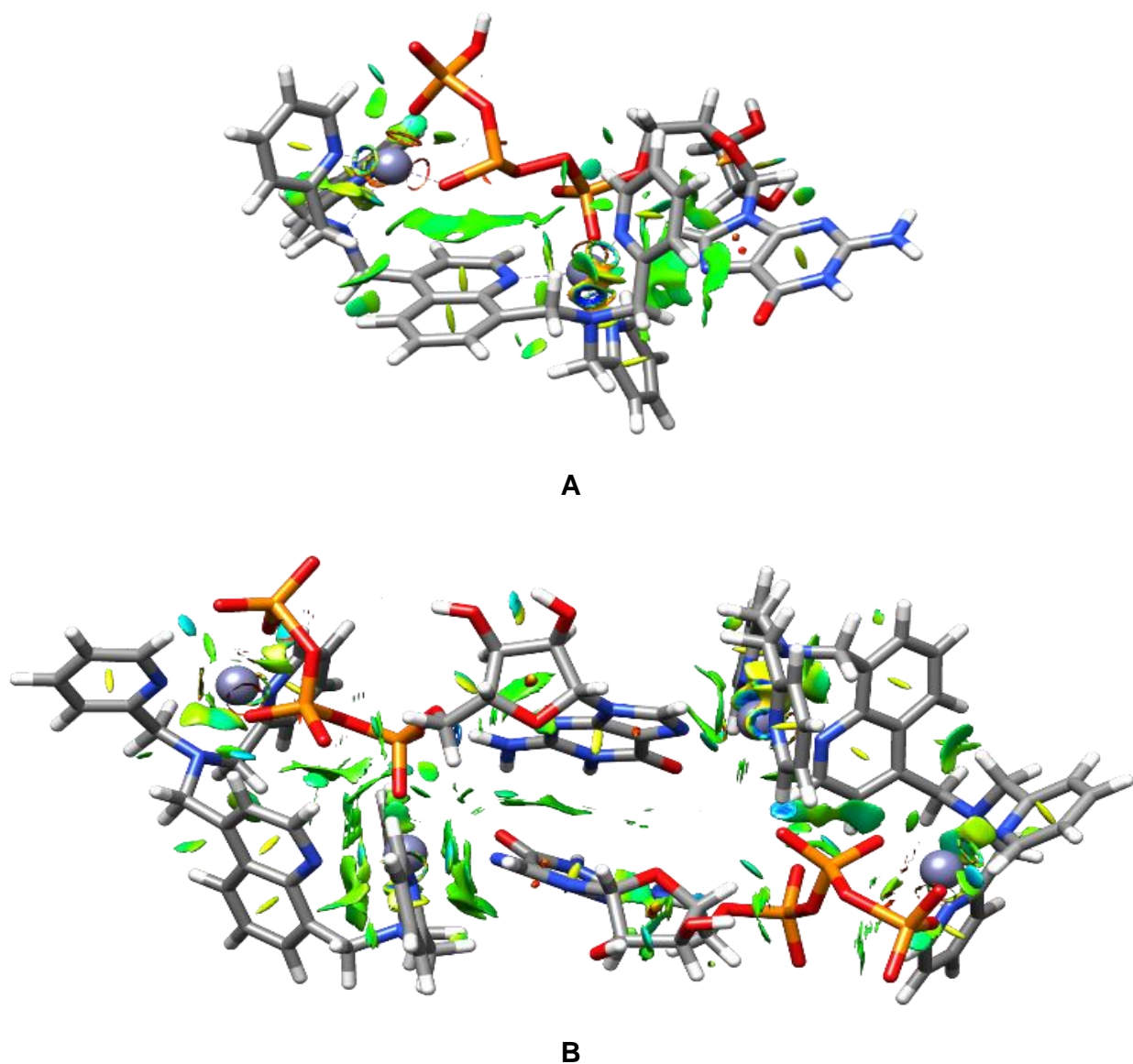
Para comprender mejor los posibles modos de unión entre  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  con GTP, se construyeron y optimizaron dos sistemas con estequiometrías 1:1,  $[\text{Zn}_2\text{L}^{4+}\cdot\text{GTP}]$  y 2:2,  $[(\text{Zn}_2\text{L1}^{4+})_2\cdot\text{GTP}_2]$ , usando un nivel de teoría B3LYP/cc-pVDZ-DK/LANL2DZ. El esquema 4.21 muestra la geometría optimizada para ambos complejos.



**Esquema 4.21** Estructuras optimizadas de  $[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+}$  con GTP para modelos A) 1:1 y B) 2:2.

El análisis de átomos en moléculas de enlaces intra e intermoleculares en el complejo 1:1 muestra un arreglo pentacoordinado para ambos átomos de Zn (II). En uno de los iones de Zn (II), el arreglo se presenta con tres átomos de nitrógeno de DPA y dos átomos de O provenientes de los fosfatos  $\beta$  y  $\gamma$  del GTP. Por otra parte, el nitrógeno  $\text{N}^7$  de la guanina del GTP está coordinado con el centro metálico de Zn (II) opuesto que se encuentra coordinado a un nitrógeno quinolónico y tres átomos de nitrógeno DPA. Esta conformación está respaldada por los desplazamientos observados en las mediciones espectroscópicas de RMN y estabilizada por interacciones intermoleculares.

El modelo 2: 2 adopta una disposición similar al modelo 1:1. Sin embargo, analizando la energía de enlace, el modelo 2:2 se favorece en 53,9 kcal/mol frente a la formación del modelo 1:1, la estabilidad superior es proporcionada por interacciones intermoleculares adicionales como se puede observar en el índice no covalente mostrado en el esquema 4.22, los contactos intermoleculares mostrados como superficies verdes son mayores en el modelo 2:2 que en el modelo 1:1.



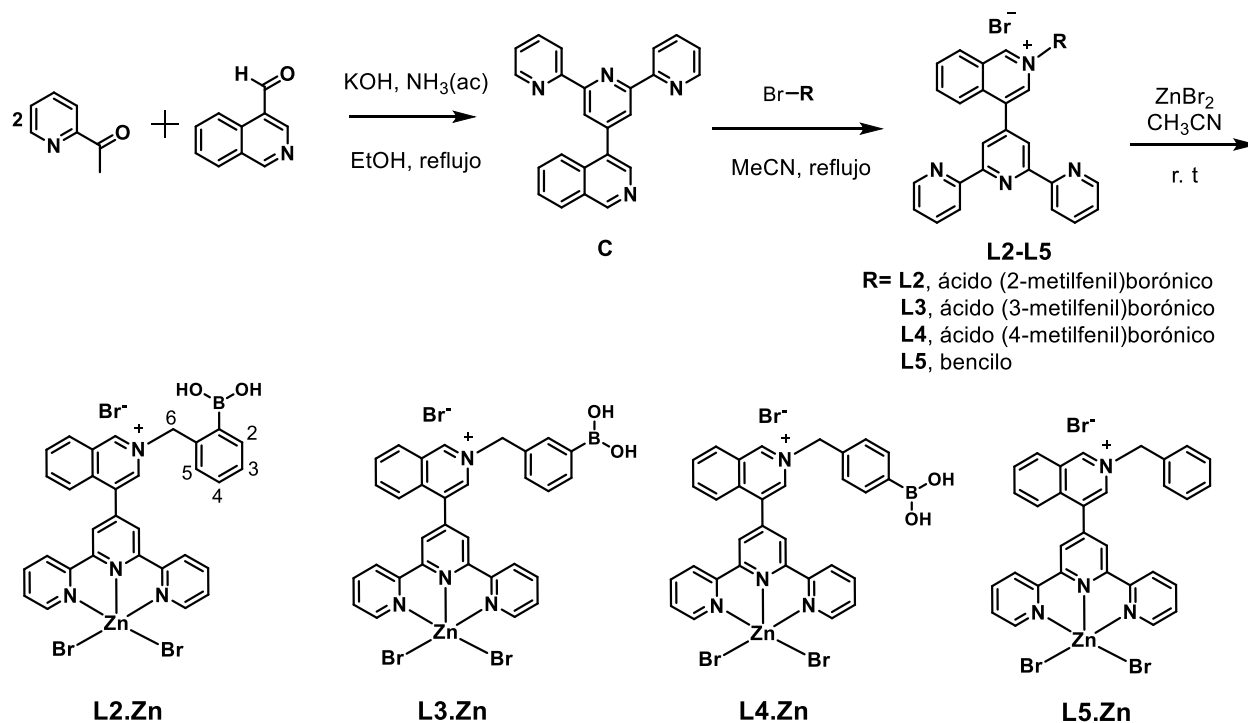
**Esquema 4.21** Análisis de interacciones no covalentes, en verde (débiles), azul (fuertes). A) 1:1 y B) 2:2.

## SECCIÓN B. QUIMIOSENSORES Zn (II)-BORÓNATO.

Esta sección describe la quimiodetección selectiva de L-DOPA con receptores catiónicos fluorescentes basados en complejos de Zn (II) que contienen un fragmento de ácido fenilborónico fuertemente acidificado. Este tipo de quimiosensores se ensamblan a L-DOPA a través de dos sitios de unión perfectamente diseñados para interactuar con los grupos funcionales de la L-DOPA. Los resultados obtenidos para una serie de complejos isoméricos fluorescentes de Zn (II)-ácido fenilborónico, se resumen a continuación.

## 1. Diseño, Síntesis y Estudios Cristalográficos de Rayos X.

Los complejos metálicos luminiscentes que contienen ligandos con ácidos borónicos se han utilizado en catálisis, como bloques de construcción de estructuras supramoleculares, como sondas termométricas, como quimiosensores de sacáridos, fosfato y peróxido de hidrógeno.<sup>146-155</sup> Sin embargo, el reconocimiento de neurotransmisores aún permanece en gran medida sin explorar. Los nuevos complejos asimétricos, **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn**, que contienen dos ácidos de Lewis diferentes, se sintetizaron con éxito mediante el procedimiento de tres pasos descrito en el Esquema 4.22.



Esquema 4.22 Síntesis de los complejos Zn (II)-ácido fenilborónico.



La síntesis se inició con la preparación del intermediario **C** que contiene una isoquinolina en la posición 4 del anillo de la piridina central, posteriormente el intermediario se sometió a reflujo prolongado con el respectivo isómero del ácido (bromometil)fenilborónico en CH<sub>3</sub>CN seco bajo atmósfera de N<sub>2</sub> para dar la serie de ligantes catiónicos **L2-L4**.

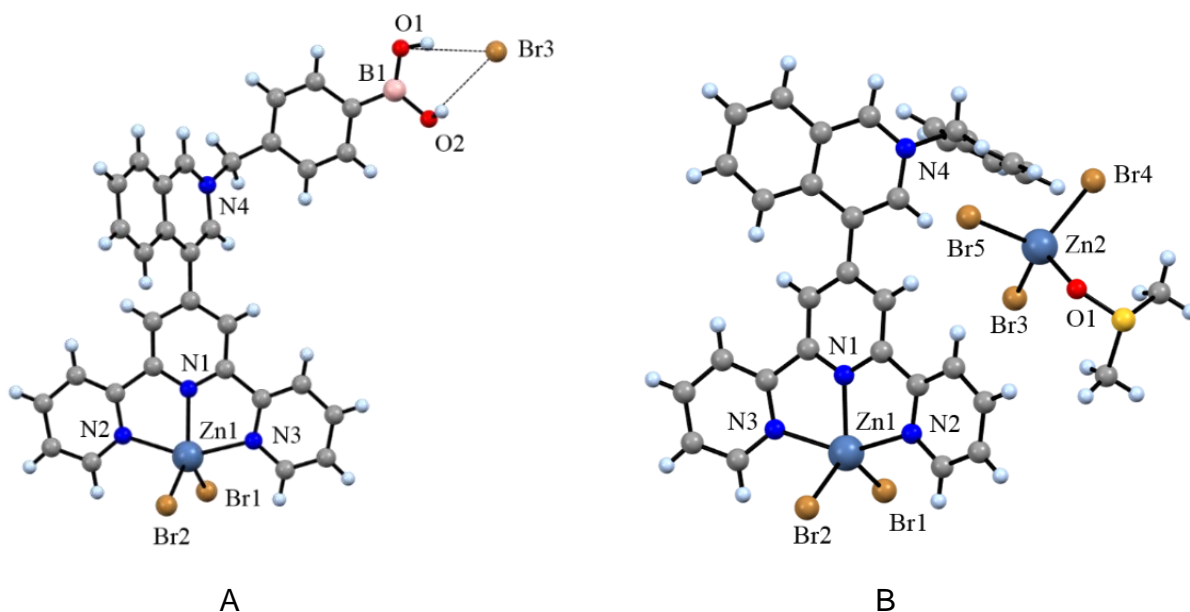
Los ligantes se caracterizaron usando espectroscopía de <sup>1</sup>H, <sup>11</sup>B y <sup>13</sup>C RMN, IR-ATR y ESI<sup>+</sup>. Los espectros se encuentran en la sección de anexos. Una vez caracterizados los ligantes, se sintetizaron los complejos mediante la metalación del ligante catiónico correspondiente **L2-L4** con ZnBr<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O en CH<sub>3</sub>CN a temperatura ambiente (r. t).

Las sales de bromuro de los complejos **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** se aislaron con buenos rendimientos como polvos cristalinos de color blanco, se caracterizaron por espectroscopía de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>11</sup>B RMN (ver anexos) y análisis elemental (C, N, H). El complejo de Zn (II)-bencilo (**L5.Zn**) se sintetizó como un compuesto de referencia que carece del grupo ácido borónico, se preparó bajo la misma ruta sintética usando bromuro de bencilo en lugar de algún derivado del ácido(bromo-metil)fenilborónico (ver esquema 4.22).

A través de EM ESI<sup>+</sup> se detectaron especies monocatiónicas para los complejos isoméricos **L2.Zn** y **L3.Zn**, en m/z = 944.7, {LZn<sup>2+</sup> + 3Br + 2Na<sup>+</sup>}<sup>+</sup>. Los picos experimentales, separados por una unidad m/z, coinciden bien con la distribución isotópica teórica para complejos 1:1 Zn (II)-Ligante (ver anexos). Respecto al complejo **L4.Zn** se obtuvo como éster de pinacol a partir del éster de pinacol del ácido 4-bromometilfenilborónico. Los picos experimentales resueltos isotópicamente, separados por una unidad m/z, en m/z = 801.03 corresponde a un complejo 1:1 Zn (II)-Ligante de acuerdo con patrones isotópicos calculados teóricamente (ver anexos).

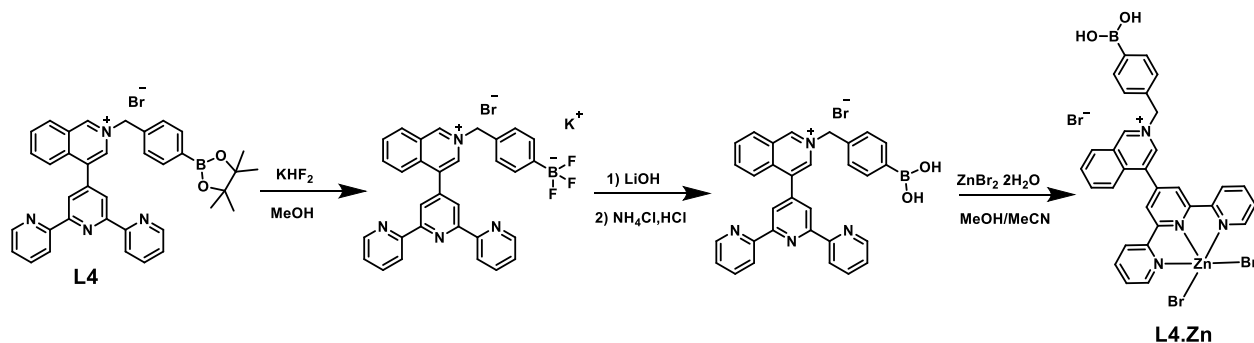
Los espectros de <sup>11</sup>B RMN de los tres isómeros **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** en DMSO-*d*<sub>6</sub> mostraron sólo una señal a ~ 25 ppm (ver anexos). Estas señales se pueden asignar a un grupo de ácido borónico sp<sup>2</sup>, sin embargo, estos valores se desplazan hacia campo alto en comparación con el ácido fenilborónico neutro (~ 30 ppm).<sup>157</sup> Este desplazamiento químico de <sup>11</sup>B (Δδ ~ 5 ppm) se puede atribuir a la fuerte acidificación de los grupos fenilborónicos por la carga positiva deslocalizada en el anillo de isoquinolinio. Geedes <sup>157</sup> y Singarama <sup>156</sup> han informado previamente este comportamiento de una fuerte acidificación de los ácidos borónicos que contienen núcleos heterocíclicos de 6-metoxiquinolinio o piridinio.

Por otra parte, se obtuvieron muestras adecuadas para el análisis estructural de difracción de rayos X de monocristal como sal de bromuro de **L4.Zn** y la sal de DMSO-tribromozincato de **L5.Zn** por evaporación lenta de disoluciones de CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>3</sub>CN y DMSO para **L4.Zn** y **L5.Zn**, respectivamente. Las estructuras cristalinas se muestran en el esquema 4.23, la estructura de **L4.Zn** confirma la presencia de un átomo de boro con hibridación con sp<sup>2</sup> en una conformación trigonal, esto es consistente con su espectro de <sup>11</sup>B RMN.



**Esquema 4.23** Estructuras cristalinas obtenidas por difracción de Rayos X de monocristal de A) sal de bromuro de **L4.Zn**, se muestran los contactos O-H...Br con el anión bromuro y B) sal de DMSO-tribromozincato de **L5.Zn**. Esquema de colores: gris= carbono, azul= nitrógeno, rosa= boro, rojo= oxígeno, naranja= bromo, azul metálico= zinc y blanco= hidrógeno.

El éster de pinacol del ácido borónico de **L4** se convirtió en ácido borónico mediante un intermediario de trifluoroborato de potasio,<sup>149</sup> (ver esquema 4.24).



**Esquema 4.24** Desprotección del ácido fenil borónico del ligante **L4** y método de cristalización del complejo Zn (II)-Ácido fenil borónico (**L4.Zn**).

El análisis cristalográfico mostró que los átomos de Zn (II) tienen una geometría piramidal cuadrada distorsionada (ver esquema 4.23) para ambos complejos (ver tabla 4.2 y 4.3). Los ángulos entre el plano central de la piridina y el plano del anillo de isoquinolina son 71.57° y 46.54° para **L4.Zn** y **L5.Zn**, respectivamente. La distorsión de la coplanaridad entre estos anillos parece ser principalmente un efecto electrónico más que estérico.<sup>158</sup>

**Tabla 4.2** Distancias de enlace seleccionadas (Å) y ángulos (deg) para el complejo **L4.Zn**.

<b>L4.Zn</b>			
Zn(1)-N(1)	2.095(5)	B(1)-O(2)	1.363(13)
Zn(1)-N(3)	2.183(5)	B(1)-O(1)	1.411(13)
Zn(1)-N(2)	2.192(5)	O(1)-H(1)	0.8400
Zn(1)-Br(1)	2.4122(9)	O(2)-H(2A)	0.8400
Zn(1)-Br(2)	2.3894(9)	B(1)-C(29)	1.505(16)
N(1)-Zn(1)-N(3)	75.43(18)	N(2)-Zn(1)-Br(2)	97.45(12)
N(1)-Zn(1)-N(2)	74.69(18)	N(1)-Zn(1)-Br(1)	120.37(12)
N(3)-Zn(1)-N(2)	150.11(17)	N(3)-Zn(1)-Br(1)	97.47(12)
N(1)-Zn(1)-Br(2)	125.83(12)	N(2)-Zn(1)-Br(1)	96.73(12)
N(3)-Zn(1)-Br(2)	100.65(12)	Br(2)-Zn(1)-Br(1)	113.74(4)

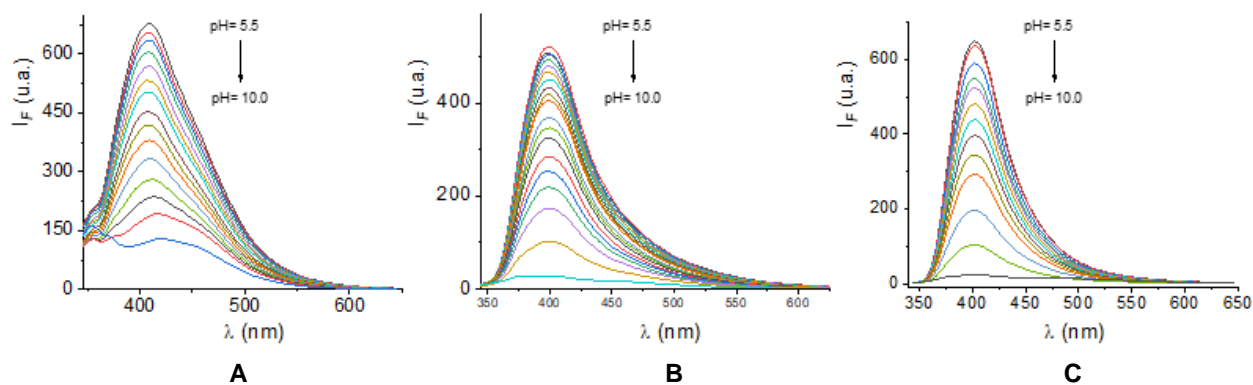
**Tabla 4.3** Distancias de enlace seleccionadas (Å) y ángulos (deg) para el complejo **L5.Zn**.

<b>L5.Zn</b>			
Zn(1)-N(1)	2.099(4)	Zn(2)-O(1)	2.005(4)
Zn(1)-N(2)	2.192(4)	Zn(2)-Br(3)	2.3694(11)
Zn(1)-N(3)	2.211(4)	Zn(2)-Br(4)	2.3774(10)
Zn(1)-Br(1)	2.3910(7)	Zn(2)-Br(5)	2.3905(11)
Zn(1)-Br(2)	2.4093(7)	-	-
N(1)-Zn(1)-N(2)	74.86(14)	N(3)-Zn(1)-Br(1)	99.30(10)
N(1)-Zn(1)-N(3)	74.22(13)	N(1)-Zn(1)-Br(2)	122.63(10)
N(2)-Zn(1)-N(3)	148.46(14)	N(2)-Zn(1)-Br(2)	97.56(10)
N(1)-Zn(1)-Br(1)	120.22(10)	N(3)-Zn(1)-Br(2)	93.82(10)
N(2)-Zn(1)-Br(1)	101.46(10)	Br(1)-Zn(1)-Br(2)	117.03(3)

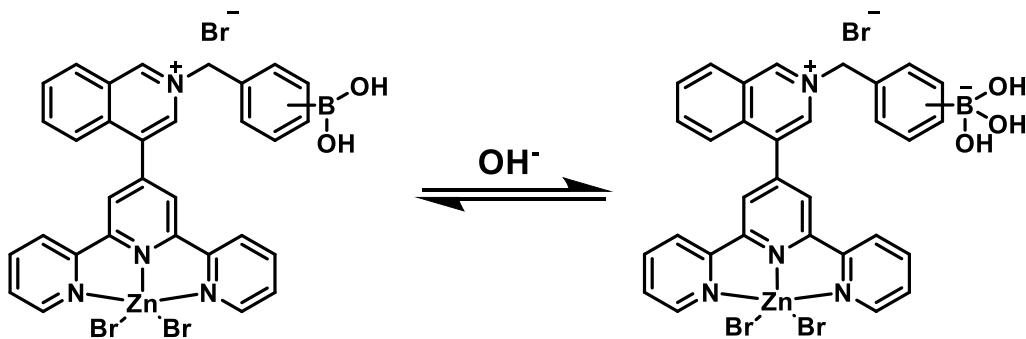
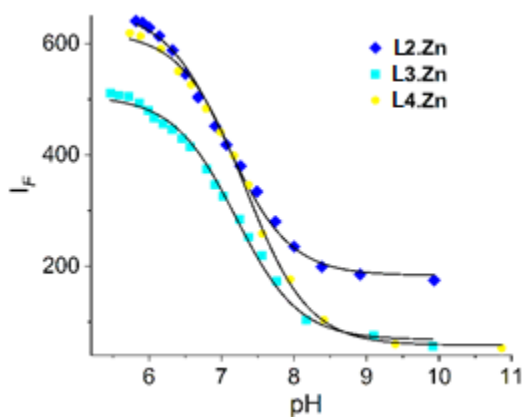
En el cristal **L4.Zn**, el átomo de boro B(1) adopta una geometría plana trigonal ( $\Sigma\angle_{(X\cdot B\cdot X)} = 359.34^\circ$ ) y está separado del átomo de Zn (II) por 13.014(9) Å, la distancia de enlace carbono-boro C-B= 1.505(16), es significativamente más corta que la que se encontró para los ácidos arilborónicos neutros como el ácido fenilborónico (1.566 Å) y el ácido 4-metilfenilborónico (1.554 Å).<sup>159</sup> En contraste, las distancias de enlace boro-oxígeno B-O= 1.363(13) Å y 1.411(13) Å, son considerablemente más largas que las descritas para el ácido 4-metilfenilborónico, (1.352 Å y 1.362 Å).<sup>159</sup> Esta diferencia puede atribuirse a una acidificación del átomo de boro sp<sup>2</sup> inducida por la cuaternización de la isoquinolina lateral.

## 2. Propiedades Ácido-Base.

Las propiedades ácido-base de las sales de bromuro de **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** se exploraron mediante valoraciones de pH por fluorescencia. Los máximos de absorción y emisión se recopilan en la tabla 4.4. Las familias de espectros de fluorescencia en disoluciones acuosas amortiguadas a diferentes valores de pH se compilan en el esquema 4.25.



**Esquema 4.25** Espectros de fluorescencia de A) **L2.Zn**, B) **L3.Zn** y C) **L4.Zn** (10  $\mu$ M) en medio amortiguado MOPS-MES-CAPS (20mM) con adiciones de NaOH ( $\lambda_{ex}$ = 330 nm).



**Esquema 4.26** Perfiles de pH-tituciones observados al máximo de emisión para cada complejo (**L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn**) y reacción ácido-base de Lewis de los ácidos borónicos de los complejos de Zn (II).

**Tabla 4.4** Máximos de absorción y emisión (nm) y valores de  $pK_a$  de **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** en agua.

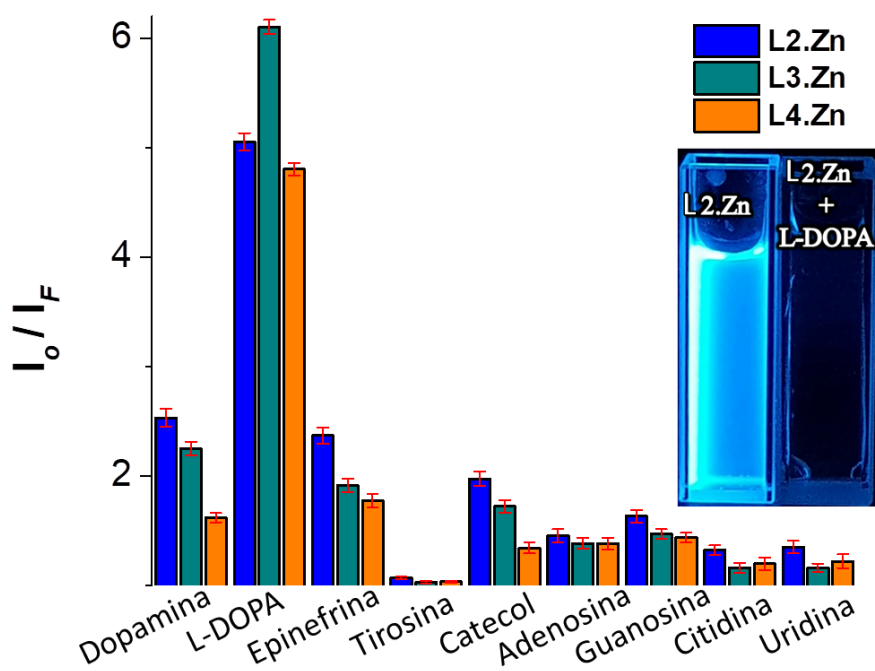
	$\lambda_{abs}$ (log $\epsilon$ ) a pH 7.0	Emisión a pH= 7.0 ( $\lambda_{ex}$ = 330 nm)	Titulación Fluorimétrica, $pK_a$
<b>L2.Zn</b>	285 (4.11); 333 (3.98)	409	7.06 $\pm$ 0.03
<b>L3.Zn</b>	282 (3.95); 333 (3.85)	400	7.20 $\pm$ 0.02
<b>L4.Zn</b>	282 (4.01); 333 (3.91)	402	7.33 $\pm$ 0.01

Los valores de  $pK_a$  obtenidos de los perfiles de titulación se muestran en la tabla 4.4 y el esquema 4.26. Los valores de  $pK_a$  estimados en el rango de 7.06-7.33 para los complejos de Zn (II) son significativamente más bajos que los típicos quimiosensores basados en ácidos arilborónicos neutros reportados en la literatura (ácido fenilborónico  $pK_a$ = 8.70).<sup>161,162</sup> Estos hallazgos son interesantes porque valores bajos de  $pK_a$  del ácido borónico aumentan considerablemente la afinidad por dioles en medio acuoso neutro.<sup>156,160,162,163</sup> Estos valores de  $pK_a$  se encuentran entre los más bajos registrados para un derivado de ácido fenilborónico y este estudio es el primer informe de los valores de  $pK_a$  de ácidos fenilborónicos unidos covalentemente a un complejo de metal de transición. Como se mencionó anteriormente, no es inesperado, debido al sistema  $\pi$  del grupo isoquinolinio que se encuentra deficiente de electrones. Se han informado anteriormente valores similares de  $pK_a$  en el rango de 6.70 a 7.80 con isómeros del ácido fenilborónico unidos a 6-metilquinolinio.<sup>164</sup> El mecanismo general de la extinción o atenuación de la fluorescencia para este tipo de sensores que contienen anillos aromáticos fluorescentes con un grupo de ácido borónico es la transferencia electrónica fotoinducida (PET).<sup>73,151</sup> En este contexto, las especies con un grupo boronato hibridado  $sp^3$  en **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** no son fluorescentes, lo que puede atribuirse a la extinción intramolecular mediante un mecanismo de PET (ver esquema 4.26) Con el fin de explorar la funcionalidad de los complejos de Zn (II)-boronato como quimiosensores, se estudiaron sus interacciones con los neurotransmisores del tipo catecolamina en condiciones fisiológicas (pH = 7.4) mediante espectroscopía de fluorescencia y experimentos de RMN.

### 3. Estudios de Detección y Reconocimiento de Neurotransmisores.

Las disoluciones acuosas amortiguadas (40 mM, MOPS a pH = 7,4) de **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** en el rango de concentración micromolar fueron estables durante un período prolongado de tiempo y siguieron muy bien la ley de Lambert-Beer por espectroscopía de fluorescencia. Por lo tanto, estas condiciones fueron las utilizadas para realizar los estudios de reconocimiento molecular.

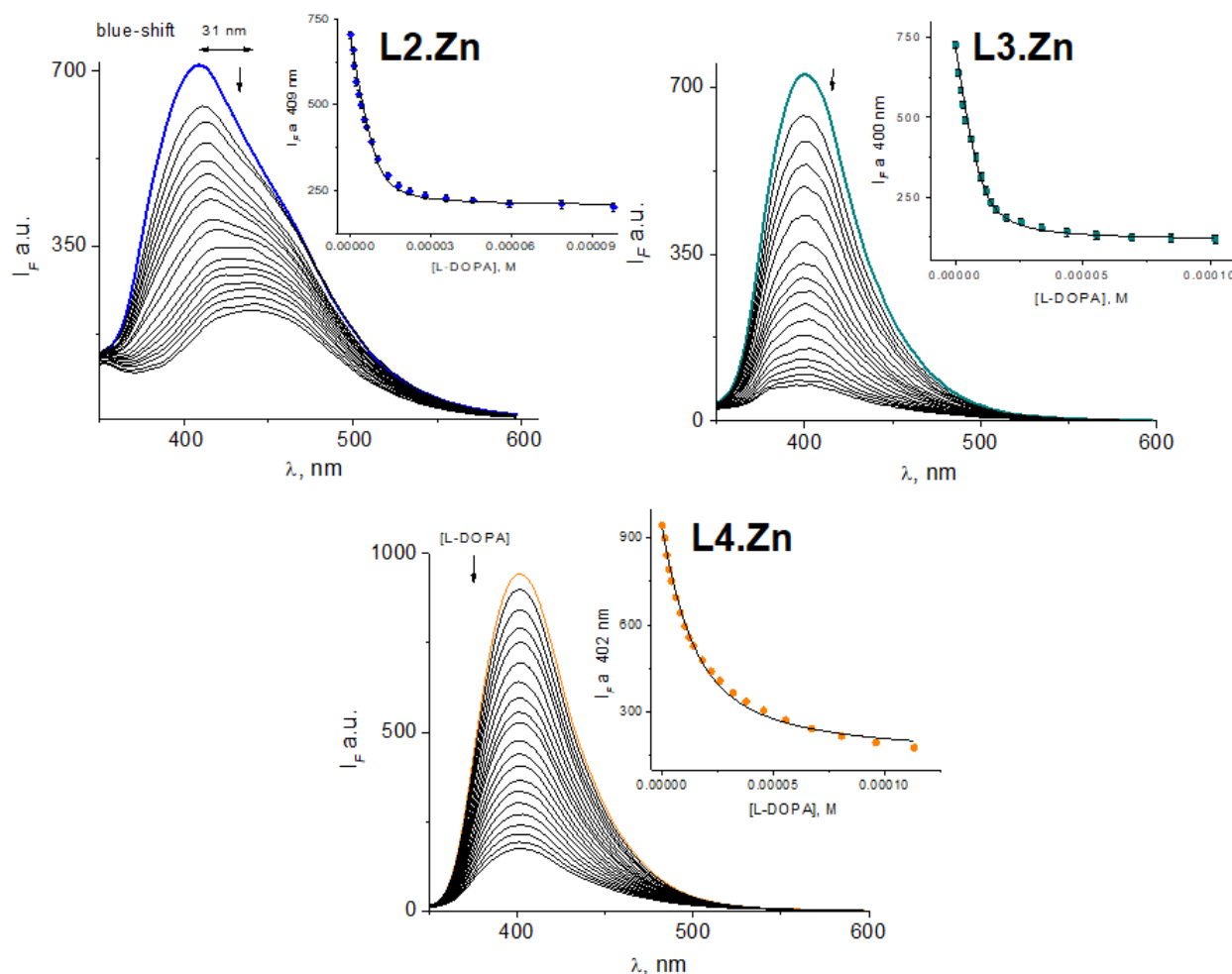
Como primer paso, se analizó la selectividad relativa hacia los neurotransmisores. Se agregaron 10 equiv. de dopamina, L-DOPA, epinefrina, tirosina, adenosina, guanosina, uridina, citidina y catecol ( $[X]$  final = 100  $\mu$ M) a disoluciones acuosas amortiguadas de complejos de Zn (II)-borónato (10  $\mu$ M) y el cambio en la intensidad de emisión de cada complejo se registró como se muestra en el esquema 4.27. Todos los nucleósidos, la tirosina y el catecol dieron respuestas muy bajas. La adición de dopamina y epinefrina dio como resultado una modesta disminución en las intensidades de emisión, pero fueron significativamente más bajas que las observadas para L-DOPA ( $I_0/I_F$  en el rango de 4.8 -6.0).



**Esquema 4.27** Atenuación de la fluorescencia de disoluciones acuosas 10  $\mu$ M de L2.Zn-L4.Zn a pH 7.4 (40 mM MOPS) después de adicionar disoluciones de diferentes bioanalitos (10 equiv.).

Se sabe que, cuando los neurotransmisores se asocian a receptores fluorescentes, las propiedades fotofísicas de los receptores, como la intensidad de la fluorescencia y la longitud de onda de emisión, se modifican a través de diferentes mecanismos y tal cambio proporciona una señal que indica que el analito se ha unido. De hecho, varios mecanismos de señalización como la transferencia electrónica fotoinducida (PET),<sup>88,89,165,166</sup> la transferencia de carga fotoinducida (PCT),<sup>73</sup> la formación de excímeros,<sup>167</sup> la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET),<sup>92,168</sup> el desplazamiento de ligante,<sup>169</sup> la transferencia de carga metal-ligante (MLCT),<sup>170</sup> la polarización de fluorescencia (FP),<sup>171</sup> y los efectos de columniscencia.<sup>172</sup>

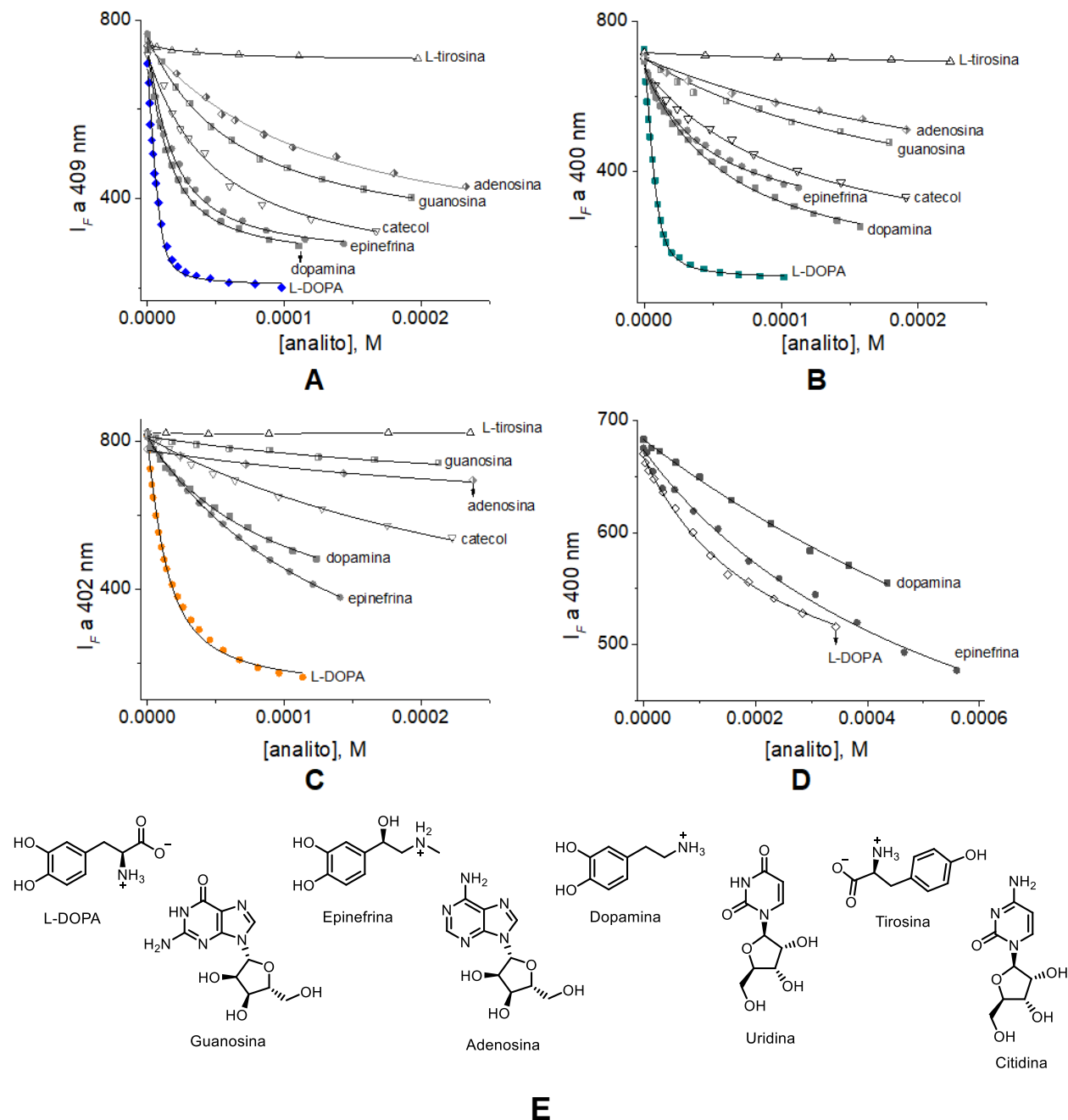
Para estudiar la afinidad y el modo de unión entre los neurotransmisores/nucleósidos y los complejos de Zn (II)-borónato, se llevaron a cabo experimentos de titulación fluorimétrica. En todos los casos, la adición de L-DOPA a disoluciones de los complejos de Zn (II) induce una fuerte atenuación de la emisión de fluorescencia y solo para el complejo **L2.Zn** se observa un desplazamiento al azul ( $\Delta\lambda = 31$  nm) de la banda de emisión (ver esquema 4.28).



**Esquema 4.28** Titulaciones fluorimétricas ( $\lambda_{\text{ex}} = 330$  nm) de disoluciones 10  $\mu\text{M}$  de los complejos **L2.Zn-L4.Zn** a pH 7.4 (40 mM MOPS) con L-DOPA. Los recuadros internos muestran los perfiles de fluorescencia en el máximo de emisión correspondiente a cada complejo. La línea continua se ajustó a un modelo 1:1 con la ecuación 2.

Las curvas del perfil fluorimétrico se pueden ajustar perfectamente a un modelo de asociación 1:1 utilizando un tratamiento de mínimos cuadrados no lineal con la ecuación (2) para dar constantes de unión con L-DOPA de  $\log K(\mathbf{L2.Zn}) = 6.01 \pm 0.02$ ,  $\log K(\mathbf{L3.Zn}) = 5.83 \pm 0.06$  y  $\log K(\mathbf{L4.Zn}) = 5.05 \pm 0.04$ . En particular, existe una dependencia lineal de la intensidad de fluorescencia de la disolución acuosa de **L2.Zn** en el rango de concentración de L-DOPA de 0 - 140  $\mu\text{M}$  ( $R^2 = 0.9967$ ) con un límite de detección de 3.0  $\mu\text{M}$ .

Las constantes de asociación con dopamina, epinefrina, adenosina, guanosina, L-tirosina y catecol se calcularon en las mismas condiciones que se describen en el esquema 4.28, la tabla 4.5 enlista los valores de  $K$  y sus correspondientes curvas de perfil fluorimétrico se muestran en el esquema 4.29. La estructura química de las moléculas seleccionadas en este estudio se muestra en el esquema 4.29 E.



**Esquema 4.29** Perfiles de titulación fluorimétrica de disoluciones 10  $\mu$ M de A) L2.Zn, B) L3.Zn, C) L4.Zn y D) L5.Zn a pH 7.4 con L-DOPA. E) Estructuras químicas de los analitos de estudio.



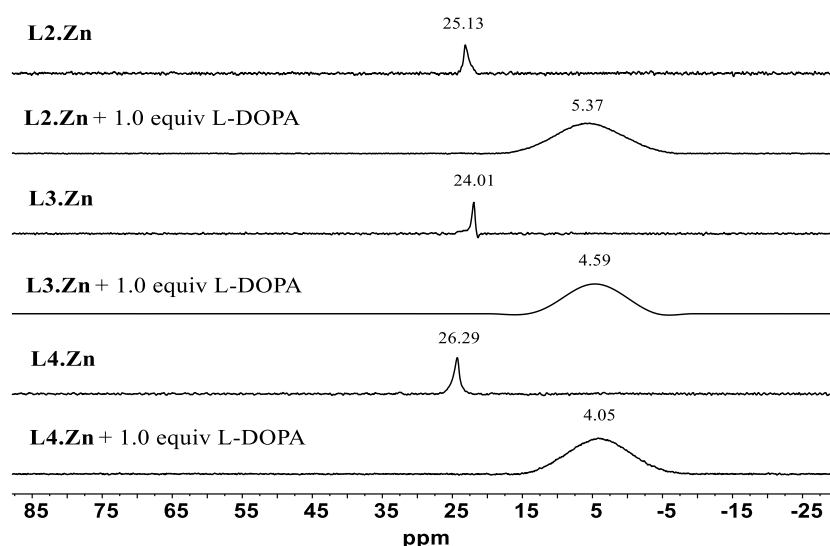
**Tabla 4.5** Constantes de asociación ( $\log K$ ) para los complejos **L2.Zn**, **L3.Zn**, **L4.Zn** y **L5.Zn** con neurotransmisores a pH 7.4.

	<b>L2.Zn</b>	<b>L3.Zn</b>	<b>L4.Zn</b>	<b>L5.Zn</b>
<b>L-DOPA</b>	6.01 ± 0.02	5.83 ± 0.06	5.05 ± 0.04	3.66 ± 0.05
<b>dopamine</b>	4.97 ± 0.04	4.41 ± 0.05	4.03 ± 0.07	2.82 ± 0.11
<b>epinephrine</b>	4.88 ± 0.04	4.25 ± 0.10	3.83 ± 0.06	3.24 ± 0.04
<b>L-tyrosine</b>	2.46 ± 0.05	2.61 ± 0.07	1.46 ± 0.05	NC
<b>catechol</b>	4.30 ± 0.05	3.99 ± 0.09	3.50 ± 0.06	NC
<b>adenosine</b>	3.02 ± 0.04	3.41 ± 0.07	3.11 ± 0.06	NC
<b>guanosine</b>	3.15 ± 0.05	3.66 ± 0.05	3.23 ± 0.05	NC

NC= No se calculó.

La mayor tendencia de los complejos de Zn (II)-borónato al asociarse a los neurotransmisores del tipo catecolamina sobre los nucleósidos puede atribuirse a la mayor afinidad de los ácidos borónicos por el fragmento de catecol que por los grupos 1,2-*cis* dioles de la ribosa.<sup>151</sup> La ausencia del grupo catecol en estructuras como la L-tirosina, propicia a que disminuya la afinidad de entre 3 a 4 órdenes de magnitud. Para verificar que el modo de unión entre el receptor y el analito es impulsado principalmente por la formación del éster borónico, se midieron las afinidades de L-DOPA, dopamina y epinefrina con el complejo de referencia **L5.Zn** mediante experimentos de titulaciones fluorimétricas en el mismo intervalo de concentración y al mismo pH que para los complejos **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** (ver esquema 4.29 D). Se observaron efectos modestos de atenuación de la fluorescencia y se estimaron bajas afinidades, por ejemplo, la afinidad de **L5.Zn** por L-DOPA ( $\log K = 3.66 \pm 0.05$ ) es 3 órdenes de magnitud más pequeña si se compara con los valores obtenidos para los complejos que tienen ácidos borónicos, **L2.Zn** y **L3.Zn**. En este sistema **L5.Zn**-neurotransmisor, la interacción se puede inferir entre el centro metálico de Zn (II) y los grupos N u O donadores de los neurotransmisores. Se ha demostrado que la detección fluorescente de aminoácidos zwitteriónicos con complejos Zn (II)-terpy, se puede observar en medios acuosos como resultado de la coordinación del grupo carboxilato con el centro metálico.<sup>186,173</sup> La formación de este enlace de coordinación Zn (II)-carboxilato puede explicar la selectividad que tienen los complejos Zn (II)-borónato por la L-DOPA sobre la epinefrina y la dopamina. Por otro lado, las afinidades de los complejos de Zn (II)-borónato hacia el catecol libre, se encuentran a valores de  $\log K = 3.50 - 4.30$ , estos son considerablemente mayores si se compara con la constante de asociación del catecol libre con el ácido fenil borónico neutro ( $\log K = 2.91$ ) tomado de la literatura,<sup>174</sup> lo que es consistente con la fuerte acidez de Lewis determinada para los grupos fenilborónicos de los complejos de Zn (II) estudiados.

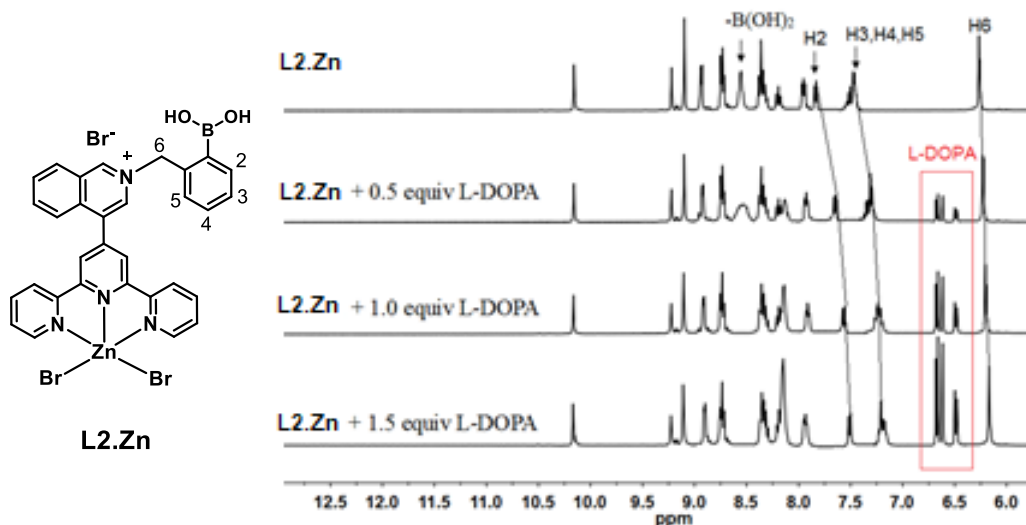
Aunque la tendencia observada en los cambios de emisión sugiere fuertemente la participación de múltiples interacciones, en este trabajo se quiso demostrar a través de mediciones espectroscópicas de RMN, la interacción entre el ácido borónico y el catecol explícitamente de la L-DOPA, esto debido a la alta afinidad que poseen los complejos de Zn (II)-borónato hacia el neurotransmisor mencionado. Para los experimentos de RMN, se prepararon disoluciones de **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** en DMSO- $d_6$  en el rango de concentración mM, todas las disoluciones fueron estables durante un período de tiempo prolongado (meses). El esquema 4.30 ilustra los experimentos de  $^{11}\text{B}$  RMN de los complejos de Zn (II)-borónato con L-DOPA.



**Esquema 4.30** Espectros de  $^{11}\text{B}$  RMN de **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** (5 mM) en presencia de 1.1 equiv. de L-DOPA en DMSO- $d_6$ .

Se sabe que, cuando se forma un éster borónico cíclico con un catecol (la hibridación del átomo de boro es  $sp^2$ ) la acidez de Lewis del átomo de boro aumenta, lo que da como resultado una conversión muy rápida al éster boronato del catecol con una hibridación del átomo de boro  $sp^3$ .<sup>160,163,175</sup> Este cambio en la hibridación del ácido fenilborónico de  $sp^2$  a  $sp^3$ , generado por la esterificación con el fragmento de catecol, tras la adición de 1.0 equiv. de L-DOPA a disoluciones de los complejos de Zn (II) se puede monitorear a través de su desplazamiento químico en  $^{11}\text{B}$  RMN (ver esquema 4.30), donde las señales para los ácidos borónicos en  $\sim 25$  ppm desaparecieron (átomos de boro trigonales  $sp^2$ ) y surgen nuevas señales ampliadas a 5 ppm para los átomos de boro  $sp^3$  que son característicos de la formación de boronatos.<sup>176-177</sup>

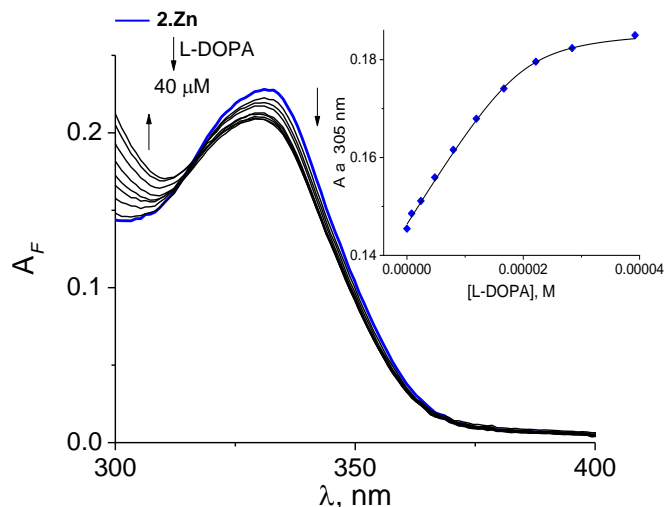
Para soportar los resultados observados en  $^{11}\text{B}$  RMN, se llevó a cabo un experimento de titulación de  $^1\text{H}$  RMN del quimiosensor **L2.Zn** (5,0 mM) con L-DOPA (ver esquema 4.31), esto con la finalidad de complementar la elucidación del modo de unión entre los complejos Zn (II)-boronato con L-DOPA. Cabe resaltar que el isómero **L2.Zn** presenta la mayor afinidad hacia L-DOPA de todos los complejos sintetizados en este estudio.



**Esquema 4.31** Espectros parciales de  $^1\text{H}$  RMN de **L2.Zn** con adiciones crecientes de L-DOPA en  $\text{DMSO-}d_6$ .

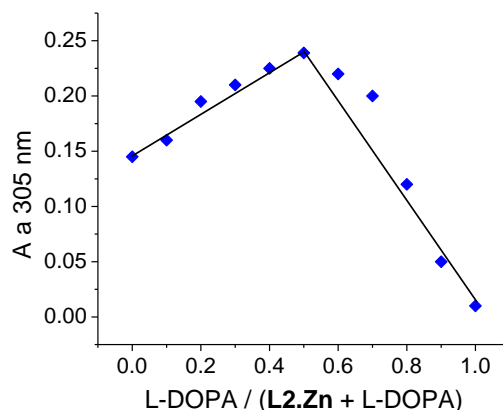
Al aumentar la concentración de L-DOPA (0-1.5 equiv.), únicamente los protones aromáticos (H2-5) del ácido fenilborónico y el grupo metileno  $-\text{CH}_2-$  se ven claramente afectados. La esterificación reversible del ácido borónico con el fragmento del catecol de la L-DOPA induce un notable desplazamiento hacia campo alto de  $\sim 0.4$  ppm, para los protones aromáticos H2-5 y de 0.25 ppm para los protones metileno H6, también se puede observar la desaparición simultánea de la señal de  $\text{B}(\text{OH})_2$  en 8.56 ppm. Con respecto a las señales de los hidrógenos del complejo **L2.Zn**, estas prácticamente no se ven afectadas.

El esquema 4.32 ilustra la familia de espectros de UV-Vis obtenidos cuando una disolución acuosa a pH 7.4 de **L2.Zn** (20  $\mu\text{M}$ ) se titula con L-DOPA hasta llegar a 2.0 equiv. El recuadro interior del esquema 4.32 muestra el aumento de absorbancia a 305 nm ( $\Delta A = 0.045$ ) en la adición progresiva de alícuotas de L-DOPA. La curva del perfil de UV-Vis se mantuvo sin cambios cuando la relación **L2.Zn**/L-DOPA alcanzó 1 equiv., lo que sugiere una estequiometría 1:1. El perfil de titulación se ajustó bien a un modelo de unión 1:1 usando la ecuación (1) para obtener una constante de asociación aparente de  $\log K = 5.91 \pm 0.05$ .



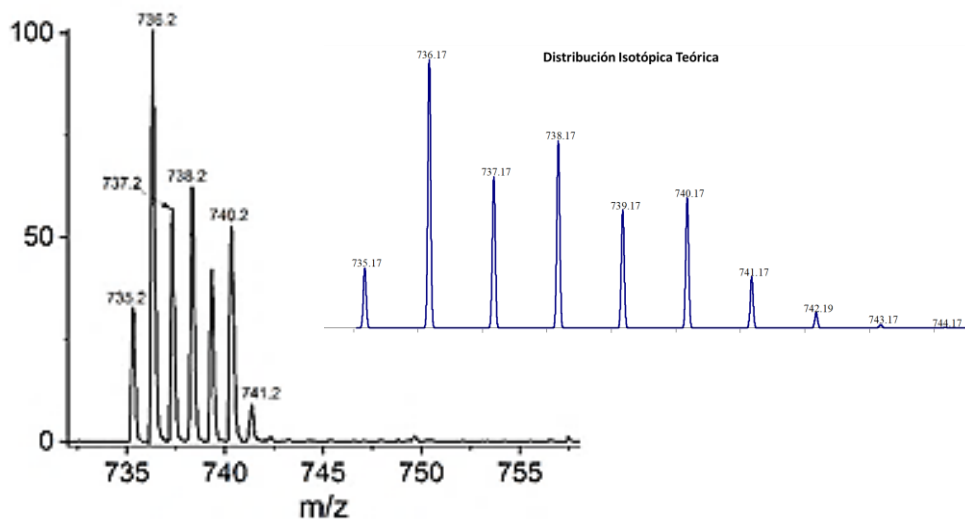
**Esquema 4.32** Titulación espectrofotométrica de una disolución a pH 7.4 de **L2.Zn** (20  $\mu\text{M}$ ) con L-DOPA. El recuadro interno muestra el perfil de absorbancia en 306 nm. La línea continua se ajustó a la ecuación (1).

Sólo se observó un punto isosbético a 317 nm y un gráfico de Job confirmó la estequiometría 1:1 (ver esquema 4.33). La constante de unión para el modelo 1:1 calculada para **L2.Zn** ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) a partir de datos de fluorescencia es consistente con la estimada por UV-Vis ( $\log K = 5.91 \pm 0.05$ ), lo que sugiere que el fenómeno de complejación, **L2.Zn-L-DOPA**, se encuentra principalmente en el estado basal del receptor.



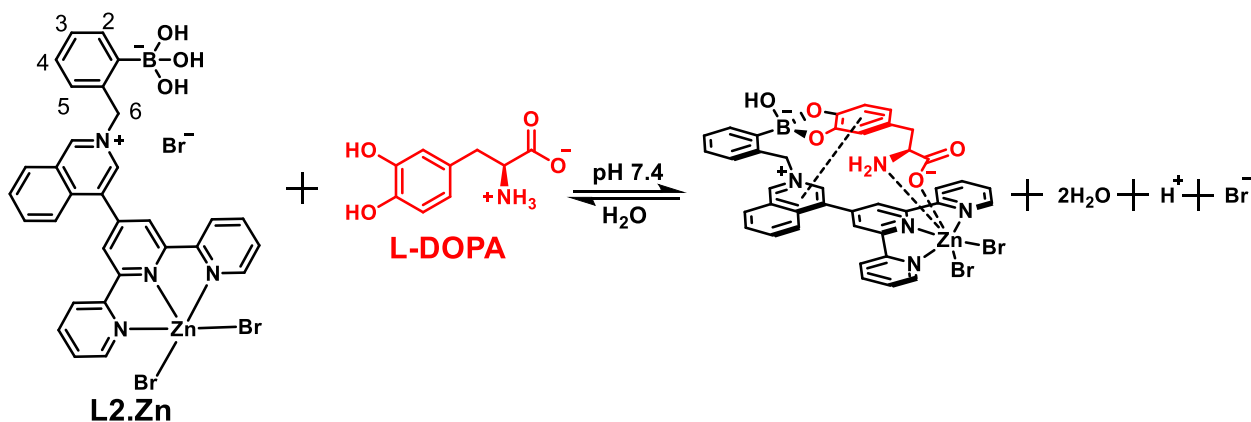
**Esquema 4.33** Análisis estequiométrico de **L2.Zn** con L-DOPA a 305 nm.

El espectro de masas  $\text{ESI}^+$  de **L2.Zn** en presencia de 1.0 equiv de L-DOPA mostró prácticamente una especie monocatiónica a 736.2 m/z (ver esquema 4.34), que se resolvió isotópicamente y se puede atribuir al ensamble **L2.Zn:L-DOPA** 1:1,  $[\text{C}_{40}\text{H}_{31}\text{BN}_5\text{O}_5\text{Zn}]^+$  (736,17 m/z). Este ensamble o modelo de unión correspondiente al complejo supramolecular visto en masas y soportado con estudios espectrofotométricos, fluorimétricos y titulaciones de  $^1\text{H}$  RMN, así como espectros de  $^{11}\text{B}$  RMN se muestra en el esquema 4.35.



Esquema 4.34 EM (ESI<sup>+</sup>) de **L2.Zn** con 1.0 equiv. de L-DOPA.

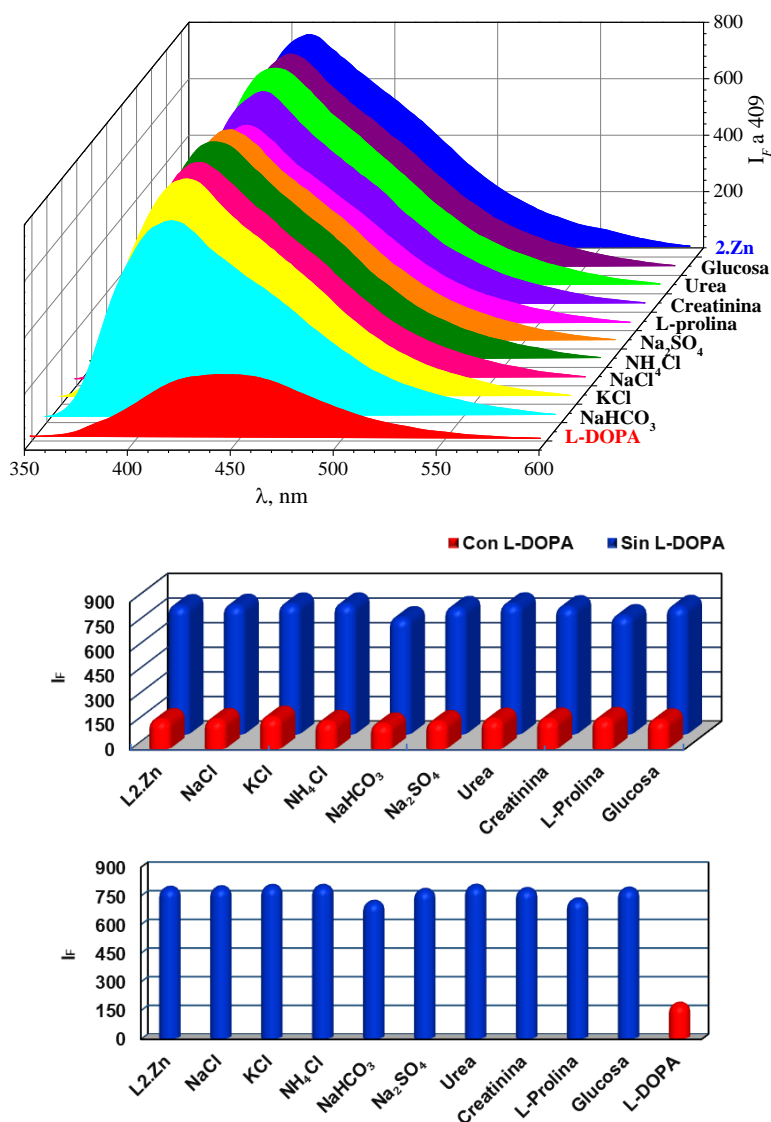
Está claro que el complejo **L2.Zn** reconoce L-DOPA con alta afinidad y selectividad sobre otros neurotransmisores, nucleósidos y catecol. A partir de los datos de fluorescencia, el orden de afinidad de **L2.Zn** por los analitos es L-DOPA > dopamina ~ epinefrina > catecol > adenosina ~ guanosina > L-tirosina.



Esquema 4.35 Equilibrio dinámico propuesto para el modo de unión entre **L2.Zn** con L-DOPA.

Para aplicaciones prácticas, se requiere que los quimiosensores tengan no solo una buena respuesta óptica y afinidad, sino también selectividad en presencia de posibles interferencias coexistentes en muestras reales. Por lo tanto, se realizó un experimento de selectividad de **L2.Zn** hacia sustancias biológicas interferentes en plasma sanguíneo y orina como: urea, creatinina, L-prolina, D-glucosa, NaCl, KCl, NH<sub>4</sub>Cl, MgCl<sub>2</sub> y NaHCO<sub>3</sub> a pH = 7.4. Las adiciones de estas moléculas interferentes a disoluciones acuosas de **L2.Zn** producen un cambio insignificante en su emisión de fluorescencia (ver esquema 4.36).

El esquema 4.36 muestra que la respuesta de extinción de la fluorescencia a 409 nm inducida por L-DOPA no se ve afectada por las especies presentes en el plasma sanguíneo y la orina. Como resultado, solo L-DOPA induce una fuerte extinción de la fluorescencia con un cambio de emisión azul a prácticamente nula emisión bajo luz ultravioleta (ver fotografía en el esquema 4.27). Este hallazgo es interesante porque **L2.Zn** puede actuar como un quimiosensor selectivo visualmente rápido para detectar L-DOPA en un fluido biológico previamente tratado para eliminar especies biológicas emisoras de azul, como proteínas o muestras de formulaciones farmacéuticas.

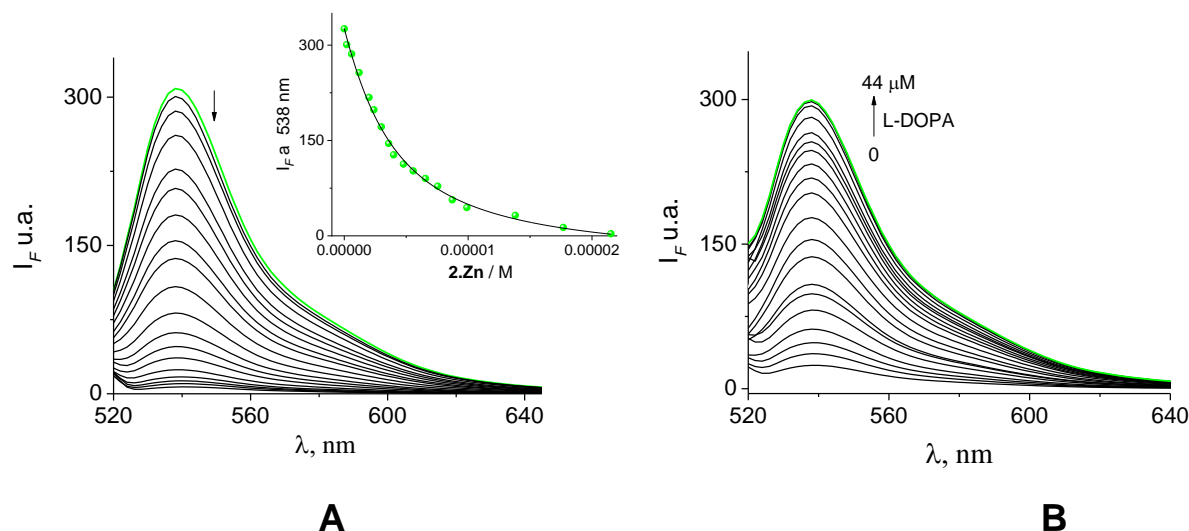


**Esquema 4.36** Familia de espectros de fluorescencia de **L2.Zn** en presencia de varios componentes del plasma sanguíneo y la orina (superior). Respuestas de fluorescencia de **L2.Zn** hacia L-DOPA en presencia de varios componentes del plasma sanguíneo y la orina, 1.0 mM (centro) e Intensidades a 409 nm de disoluciones acuosas **L2.Zn** (10  $\mu\text{M}$ ) a pH = 7.4 con varios componentes del plasma sanguíneo y la orina (inferior).

#### 4. Ensamble con Eosina Y.

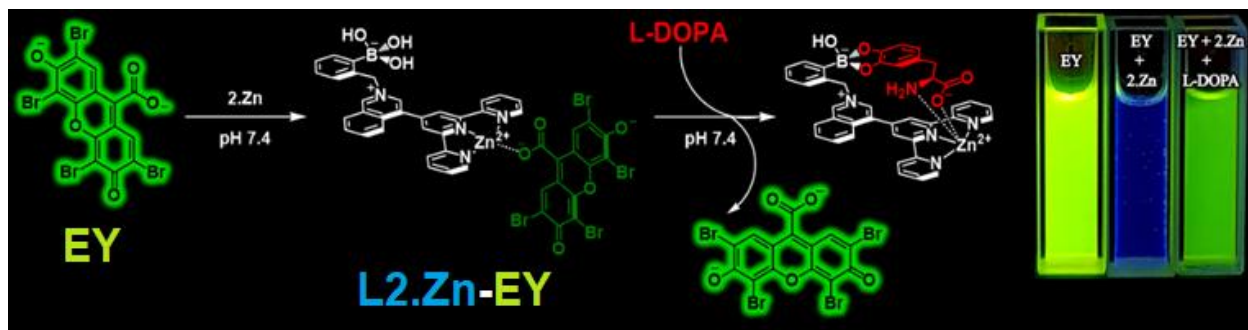
Teniendo en cuenta la alta afinidad de L-DOPA por **L2.Zn**, se decidió estudiar la utilidad de este receptor artificial de Zn (II) ensamblándolo con un fluoróforo conocido como eosina Y. El objetivo de este ensamble consiste en generar una prueba fácilmente perceptible al ojo humano para detectar L-DOPA, dicho ensamble de **L2.Zn** con eosina Y (EY) consiste en una reacción reversible de desplazamiento de indicador fluorescente, donde el indicador fluorescente es la EY. Debido a la alta afinidad de **L2.Zn** para L-DOPA, la reacción de desplazamiento del fluoróforo de EY es plausible y selectiva. La constante de asociación para el sistema **L2.Zn**:L-DOPA ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) resulta ser la constante más alta en valor jamás observada por este neurotransmisor por un receptor químico artificial. Por ejemplo, la afinidad de **L2.Zn** por L-DOPA es aproximadamente dos órdenes de magnitud mayor que el sistema reportado por Akkaya, que se basa en un receptor orgánico con reconocimiento de tres puntos que incluye esterificación reversible de un ácido borónico, transferencia de carga e interacciones electrostáticas.<sup>96</sup> Como se mencionó anteriormente, la EY es un fluoróforo comercial de xanteno que presenta un grupo funcional carboxilo ( $\lambda_{em} \sim 540$  nm), este fluoróforo se asocia a **L2.Zn** a través de la interacción entre el átomo de Zn (II) y el carboxilato. Como la emisión de fluorescencia de la EY depende del ambiente alrededor del mismo,<sup>178</sup> la coordinación de la EY con los metales de transición a través del grupo carboxilato, perturba su emisión de fluorescencia.<sup>178,179</sup> Usando este principio, se llevó a cabo un análisis cuantitativo de la extinción de fluorescencia de la EY por **L2.Zn** mediante un experimento de titulación fluorimétrica. Tras la adición de **L2.Zn** a una disolución acuosa de EY (2  $\mu$ M) a pH 7.4 (40 mM, MOPS, 50  $\mu$ M NaCl), la emisión de la EY a 538 nm ( $\lambda_{ex} = 515$  nm) se apagó por completo (ver esquema 4.37). Con base en la observación de que solo el EY, pero no el complejo **L2.Zn**, tiene emisión a esta longitud de onda, se realizó un análisis de la curva del perfil fluorimétrico utilizando la ecuación (2) donde la constante de asociación estimada es  $\log K_{(L2.Zn-EY)} = 5.43 \pm 0.10$ . Como era de esperar, la afinidad de **L2.Zn** por EY es menor que la del analito objetivo (L-DOPA), por lo tanto, el ensamble **L2.Zn**-EY se convierte en una combinación ideal para un conjunto quimiosensible a la detección de L-DOPA. La selectividad de un ensayo de desplazamiento de indicador (IDA) es ideal cuando el fluoróforo tiene una afinidad ligeramente menor que el analito objetivo, pero una mayor afinidad que otros analitos competitivos.<sup>180</sup>

Por lo tanto, al agregar L-DOPA a una disolución acuosa del ensamble **L2.Zn-EY** en una relación 10/1 equiv., el fluoróforo se desplaza rápidamente (hipotéticamente a través de la descoordinación del grupo carboxilo del átomo de Zn (II)) así se restaura su fluorescencia verde. En general, la fluorescencia perceptible al ojo humano de la EY permite una detección directa y en tiempo real de L-DOPA utilizando una lámpara estándar de UV.



**Esquema 4.37** A) Titulación fluorimétrica de EY (2 μM,  $\lambda_{ex}=515$  nm) con adiciones de una disolución de **L2.Zn** (0 a 21 μM). El recuadro interno muestra el perfil de fluorescencia y la línea continua se ajustó a un modelo 1:1 con la ecuación (2). B) Cambios en el espectro de emisión ( $\lambda_{ex}=515$  nm) del ensamble **L2.Zn-EY** con adiciones de L-DOPA (0 a 44 μM) en solución acuosa (40 mM MOPS, pH 7.4, 50 μM NaCl).

Como puede verse muy bien en el esquema 4.38, la fluorescencia verde de la EY se atenúa totalmente al unirse al complejo **L2.Zn** (10 equiv.) y la solución resultante presenta una emisión azul que puede atribuirse a la unidad fluorescente (isoquinolinio) del receptor, que no se altera. Posterior a la adición de 22 equiv. (44 μM) de L-DOPA a la disolución acuosa del ensamble, la EY recupera el 95% de la intensidad original a 538 nm (el máximo de fluorescencia de EY) como se muestra en el esquema 4.37 B.

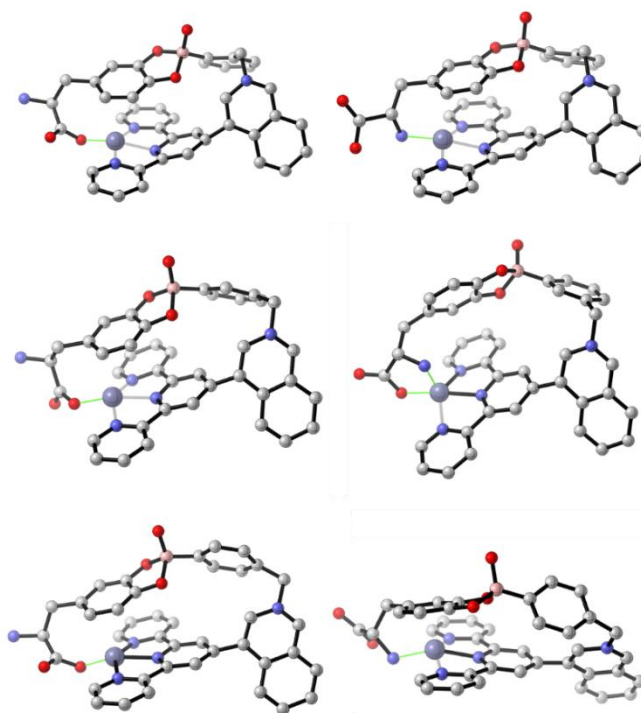


**Esquema 4.38** Propuesta del mecanismo de detección vía ensamble **L2.Zn-EY** para L-DOPA.



## 5. Estudios DFT

Para obtener más información sobre la selectividad de **L2.Zn** hacia L-DOPA, se llevaron a cabo cálculos DFT para los tres isómeros (**L2.Zn-L4.Zn**) donde se optimizaron las estructuras de cada complejo interaccionando con L-DOPA y dopamina. Las geometrías para los complejos 2.Zn y 3.Zn de L-DOPA se optimizaron al nivel de teoría  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ, modelando las interacciones de Zn (II) con los grupos carboxílico o amino del neurotransmisor en dos modos de coordinación, ya sea por el carboxilato o el grupo amino. Sus estructuras optimizadas se muestran en el esquema 4.39. Los análisis de frecuencias vibracionales revelaron que estas estructuras son mínimos locales en sus respectivas superficies de energía potencial ya que no se obtuvieron valores imaginarios.



**Esquema 4.39** Estructuras optimizadas para los sistemas **L2.Zn**:L-DOPA (superior), **L3.Zn**:L-DOPA (centro) y **L4.Zn**:L-DOPA (inferior) a un nivel de teoría  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ (no se muestran los átomos de hidrógeno para mayor claridad.)

De los tres isómeros, el más estable es **L2.Zn**:L-DOPA, esta aseveración concuerda con las observaciones experimentales. De los dos patrones de coordinación sugeridos, el Zn (II) unido a través del grupo carboxilato debería estar presente casi exclusivamente, ya que la coordinación a través del grupo amino produce una estructura 32.35 kcal/mol más alta en energía.

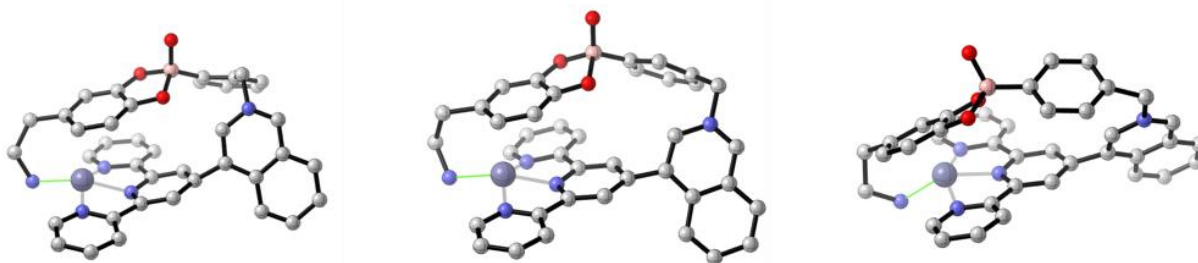
Los isómeros **L3.Zn**:L-DOPA son más altos en energía si se comparan con los estimados para **L2.Zn**:L-DOPA en 10.45 kcal/mol (carboxilato) y 17.89 kcal/mol (quelato carboxilato-Zn-amina) para los patrones de coordinación vía carboxilato o una coordinación mixta oxígeno-nitrógeno a Zn (II), respectivamente. Por otra parte, los isómeros **L4.Zn**:L-DOPA son 21.19 kcal/mol (carboxilato) y 37.12 (amina) kcal/mol más altos en energía.

Para los isómeros **L3.Zn**:L-DOPA y **L4.Zn**:L-DOPA, la coordinación con el grupo carboxilato produce también un complejo más bajo en energía que cuando está involucrado el grupo amino (diferencia en energía de 7,47 y 15,93 kcal/mol, respectivamente). Estos resultados son consistentes con la noción de que el Zn es un átomo oxofílico.

Las preferencias estructurales en los isómeros de los complejos con L-DOPA surgen principalmente de la deformación conformacional, ya que el índice de enlace de Wiberg total para Zn (II) no varía significativamente (1.13-0.99), lo que indica una interacción principalmente electrostática del Zn (II) con el carboxilato y el grupo amino presentes en la L-DOPA.

Para el caso del complejo de dopamina, el isómero **L2.Zn** es también el más bajo en energía, siendo los isómeros **L3.Zn** y **L4.Zn** 9.19 y 11.52 kcal/mol más altos en energía, respectivamente. Sus estructuras optimizadas se muestran en el esquema 4.40.

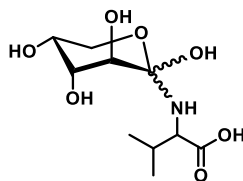
Como en el caso de L-DOPA, los sistemas con dopamina muestran una baja covalencia hacia el átomo de Zn (II), como lo demuestran sus bajos índices de enlace de Wiberg totales para Zn (II) (1.04, 1.30 y 1.10 para **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn**, respectivamente).



**Esquema 4.40** Estructuras optimizadas para los sistemas **L2.Zn**:dopamina (izquierda), **L3.Zn**:L-DOPA (centro) y **L4.Zn**:L-DOPA (derecha) a un nivel de teoría  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ (no se muestran los átomos de hidrógeno para mayor claridad.)

## 6. Estudios de Detección con un Modelo de Hemoglobina Glicosilada HbA<sub>1c</sub>.

La hemoglobina A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>) es un tipo de hemoglobina glicosilada que se forma cuando la glucosa se une de forma no enzimática a la valina N-terminal de la cadena β de la hemoglobina de un ser humano adulto. Debido a que el promedio de vida de los eritrocitos es de 120 días, la relación entre HbA<sub>1c</sub> y la hemoglobina total (% HbA<sub>1c</sub>) es un indicativo del nivel de glucosa en sangre a largo plazo. Por tanto, el diagnóstico de diabetes, así como el tratamiento de las complicaciones asociadas mediante la determinación del %HbA<sub>1c</sub> es muy eficaz. El rango de referencia clínica del %HbA<sub>1c</sub> es del 3 al 15%. Los niveles de glucosa se consideran normales cuando el porcentaje de HbA<sub>1c</sub> es inferior a aproximadamente el 7%. Se considera que una persona con un %HbA<sub>1c</sub> superior al 7% tiene diabetes mellitus. A lo largo del tiempo, se ha desarrollado una gran variedad de métodos de detección de HbA<sub>1c</sub>, que incluyen cromatografía, inmunoensayos, mediciones enzimáticas, sensores electroquímicos y electroforesis capilar, estos métodos se han utilizado en laboratorios de investigación y también en clínicas, sin embargo, son altamente costos y la detección en tiempo real es casi imposible. Los derivados del ácido borónico se han identificado como moléculas que tienen especificidad hacia HbA<sub>1c</sub>, debido a los ácidos borónicos se unen covalentemente al grupo 1,2-*cis*-diol de las glicoproteínas. En este tenor, se decidió evaluar la afinidad de los complejos Zn (II) funcionalizados con ácidos borónicos (**L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn**) con un modelo de HbA<sub>1c</sub> conocido como producto de Amadori (*N*-[D-fructosil-(1)]-L-valina), esto con el objetivo de cimentar las bases para estudios futuros con la HbA<sub>1c</sub>. (Ver esquema 4.41)



**Esquema 4.41** Molécula modelo de HbA<sub>1c</sub>: *N*-[D-fructosil-(1)]-L-valina.

Para estudiar la afinidad entre el producto de Amadori y los complejos de Zn (II)-boronato, se llevaron a cabo experimentos de titulación fluorimétrica. En todos los casos, la adición del producto de Amadori a disoluciones de los complejos de Zn (II) induce una modesta atenuación de la emisión de fluorescencia. Las constantes de asociación determinadas para el producto de Amadori se estimaron en  $\log K$  (**L2.Zn**)= 4.44 ± 0.02,  $\log K$  (**L3.Zn**)= 3.95 ± 0.03 y  $\log K$  (**L4.Zn**)= 3.87 ± 0.06.

---

# CONCLUSIÓN

Con respecto al quimiosensor del modelo 1, se puede concluir que la sal triflato del complejo catiónico dinuclear de Zn (II), **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>** puede usarse como un quimiosensor fluorescente intrínseco para la detección de GTP en agua neutra pura. En estas condiciones, la adición de GTP a una disolución de **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>** exhibe una respuesta eficiente de la extinción de la fluorescencia en tiempo real ( $K_{SV} = 3.2(\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ). En disolución acuosa a pH 7.0 se encontró una afinidad particularmente alta con muy buena selectividad sobre otros nucleótidos y aniones inorgánicos, tales como halogenuros, PPI, ATP, GDP, CTP y UTP. Este cambio óptico permite la detección de GTP en el intervalo de concentración micromolar, incluso en presencia de especies coexistentes en el plasma y la orina (urea, glucosa, creatinina, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, etc.). El proceso de atenuación de la emisión de fluorescencia podría explicarse por un mecanismo de PET de complejación aniónica estática, posiblemente tanto en el estado excitado como en el fundamental. Los experimentos espectroscópicos de RMN y los cálculos de DFT muestran que el GTP está unido a **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>** a través de tres sitios de contacto que implican la coordinación simultánea del átomo N<sup>7</sup> del fragmento de guanina y de dos grupos fosfato a los dos átomos de Zn (II). Basado en estudios de fluorescencia, espectrometría de masas y cálculos teóricos, el modo de unión de GTP a **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>** está dado por una combinación de sistemas supramoleculares que coexisten en disolución y que presentan estequiometrías 1:1 y 2:2 **[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup>/GTP**. En otro contexto, el nucleótido de GTP muestra una química de coordinación interesante con el complejo asimétrico dinuclear de Zn (II) utilizado, lo que representa un tema de investigación que debe seguir explorándose. En general, estos resultados destacan aún más la utilidad de diseñar y sintetizar nuevos receptores no simétricos basados en metales de transición y policatiónicos para aplicaciones analíticas en agua pura.

En relación con la serie de quimiosensores del modelo 2, los complejos luminiscentes **L2.Zn**, **L3.Zn** y **L4.Zn** que llevan grupos de ácido borónico acidificados para la quimiodetección de neurotransmisores del tipo catecolamina, exhiben una afinidad excepcionalmente alta con una muy buena selectividad hacia la L-DOPA sobre otros neurotransmisores comunes como la dopamina, la epinefrina, L-tirosina y los nucleósidos en agua pura a pH 7.4.

La adición de L-DOPA a disoluciones acuosas de todos los isómeros de Zn (II)-borónato sintetizados, muestra una respuesta analítica eficiente y en tiempo real con una fuerte extinción de la fluorescencia. Este cambio óptico permite una detección rápida de L-DOPA en el intervalo de concentración micromolar, incluso en presencia de especies coexistentes en el plasma sanguíneo y la orina (urea, glucosa, creatinina, etc.). Las respuestas de extinción de la fluorescencia podrían explicarse por un mecanismo de PET desencadenado por la complejación del neurotransmisor. Los experimentos espectroscópicos de  $^1\text{H}$  RMN,  $^{11}\text{B}$  RMN y los cálculos de DFT muestran que la L-DOPA se une a los receptores de Zn-borónato a través de dos sitios de contacto, esto implica la esterificación simultánea del ácido borónico con el fragmento de diol aromático de L-DOPA (el catecol de la L-DOPA) y la coordinación del anión carboxilato al átomo de Zn (II). Esta interacción electrostática (carboxilato- $\text{Zn}^{2+}$ ) se ve aún más favorecida por el fragmento de isoquinolinio presente en el complejo Zn-terpy. Con base en los estudios espectroscópicos, espectrometría de masas y cálculos teóricos, el complejo **L2.Zn** tiene la mayor afinidad ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) hacia L-DOPA entre todos los receptores de Zn (II) estudiados y esta constante de asociación representa la mayor afinidad jamás observada por este neurotransmisor hacia un receptor químico de naturaleza artificial. La afinidad y la preferencia estructural del isómero **L2.Zn** por L-DOPA surgen principalmente de la tensión conformacional y la fuerte acidez del ácido fenilborónico ( $\text{p}K_a = 7.06$ ) en comparación con el resto de los isómeros. La combinación de **L2.Zn** con eosina Y se puede utilizar como un método analítico preciso y de bajo costo para la detección a simple vista de L-DOPA con una respuesta de activación de la fluorescencia rápida. En general, estos resultados destacan aún más la utilidad y la bifuncionalidad de una nueva familia de receptores luminiscentes basados en ácidos borónicos y metales de transición solubles en agua, como herramientas analíticas eficaces para la detección selectiva de neurotransmisores en el agua.

Adicionalmente, el modelo de hemoglobina glicosilada conocido como producto de Amadori (*N*-[D-fructosil-(1)]-L-valina), exhibe moderada afinidad por los complejos de Zn (II)-borónato, pero el cambio óptico estimado es muy pequeño, sin embargo, estos estudios alientan a perfeccionar la arquitectura y la funcionalidad de los complejos sintetizados en este estudio, con el objetivo de mejorar la afinidad y selectividad hacia analitos más complejos como hemoglobina glicosilada  $\text{HbA}_{1c}$ .

# REFERENCIAS

1. a) J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 91. (b) Lehn, J. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2002**, 99, 4763.
2. (a) E. Fischer, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985. (b) H. J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1417. (c) J. M. Lehn, *Science.* **1993**, 260, 1762.
3. (a) D. J. Cram, *J. Inclusion Phenom.* **1988**, 6, 397. (b) D. N. Reinhoudt, J. P. Dijkstra, *Pure Appl. Chem.* **1988**, 60, 477.
4. (a) E. P. Kyba, R. C. Helgeson, K. Madan, G. W. Gokel, T. L. Tarnowski, S. S. Moore, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2564. (b) D. J. Cram, *Science.* **1983**, 219, 1177.
5. (a) J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry*, Ed. Wiley, **2000**. (b) J. M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**. (c) T. W. Bell, N. M. Hext, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 589. (d) J. M. Lehn, *Science.* **1985**, 227, 849.
6. (a) E. M. Nolan, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 3433. (b) H. N. Kim, W. X. Ren, J. S. Kim, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 3210.
7. A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman. *Pure Appl. Chem.* **1991**, 63, 1247.
8. E. V. Anslyn. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 687.
9. J.M. Lehn, *Struct. Bonding.* **1973**, 16, 1.
10. D. J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1009.
11. L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, L. Parodi, A. Taglietti, *Transition Metals in Supramolecular Chemistry*, Ed. Board, **1999**.
12. (a) J. P. Behr, *The Lock and Key Principle*, John Wiley Sons Inc, **1994**. (b) R. D. Hancock, *J. Chem.* **1992**, 69, 615. (c) G. Ercolani, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 16097. (d) D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1986**, 25, 1039.
13. (a) J. P. Desvergne, A. W. Czarnik, *Chemosesor of Ion and Molecule Recognition*, Kluwer Academic Publishers, **1997**.
14. (a) H. G. Lohr, F. Vogle, *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 65. (b) M. Takagi, K. Ueno, *Top. Curr. Chem.* **1984**, 121, 39. (c) T. W. Bell, N. M. Hext, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 589. (d) P. D. Beer, J. Cadman, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 205, 131.
15. (a) E. W. Miller, S. X. Bian, C. J. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 3458. (b) A. S. Vasylevska, A. A. Karasyov, S. M. Borisov, *Chem.* **2007**, 387, 2131. (c) X. Peng, J. Du, J. Fan, J. Wang, Y. Wu, J. Zhao, S. Sun, T. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 1500.
16. A. D. McNaught and A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, The "Gold Book"*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1997**.
17. S. E. Braslavsky, *Pure Appl. Chem.* **2007**, 79, 293.
18. R. Martinez-Mañez, F. Sancenón. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 4419.
19. A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1515.
20. M. B. I. Mohamed, T. S. Aysha, T. M. Elmorsi, M. El-Sedik, S. T. Omara, E. Shaban, O. M. Kandil, A. H. Bedair, *J. Fluoresc.* **2020**, 30, 601.
21. (a) N. Busschaert, C. Caltagirone, W. V. Rossom, P. A. Gale, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 8038.
22. M. Rangasamy, K. Palaninathan, *New J. Chem.* **2018**, 42, 10891.
23. (a) J. Wu, B. Kwon, W. Liu, E. V. Anslyn, P. Wang, J. Seung-Kim, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 7893. (b) B. T. Nguyen, E. V. Anslyn, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250, 3118.
24. E. Gaidamauskas, D. C. Crans, H. Parker, K. Saejueng, B. A. Kashemirov, C. E. McKenna, *New J. Chem.* **2011**, 35, 2877.
25. Q. Y. Chen, C. F. Chen, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 6493.
26. J. V. Caspar, E. M. Kober, B. P. Sullivan, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 630.
27. (a) K. Bowman-James, *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 671. (b) M. M. G. Antonisse, D. N. Reinhoudt, *Chem. Commun.* **1998**, 443.

28. N. Busschaert, C. Caltagirone, W. V. Rossom, P. A. Gale, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 8035.
29. (a) A. Weller, *Pure Appl. Chem.* **1968**, 16, 115. (b) D. Rehm, A. Weller, *Isr. J. Chem.* **1970**, 8, 259. (c) Y.C. Wang, H. Morawetz, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 3611. (d) B.K. Selinger, *Aust. J. Chem.* **1977**, 30, 2087. (e) G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, C. Mangano, D. Sacchi, N. Sardone, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, 257, 69. (f) L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, D. Sacchi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 1975. (g) L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2, 167. (h) D.K. Cabbiness, D.W. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 2151.
30. (a) M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, L. Begin, J. Bourson, B. Valeur, *J. Fluoresc.* **1994**, 4, 271. (b) M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, F. Badaoui, J. Bourson, J.P. Lefebvre, B. Valeur, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 6879.
31. (a) K. Choi, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3912. (b) J. F. Ireland, P. A. H. Wyatt, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1976**, 12, 131. (c) Z. R. Grabowski, K. Rotkiewicz, *Chem. Rev.* **2003**, 103, 3899.
32. (a) Y. Kikazawa, T. Akita, H. Nakamura, *Chem. Lett.* **1993**, 1671. (b) H. Bouas-Laurent, A. Castellan, M. Daney, J.P. Desvergne, G. Guinand, P. Marsau, M.H. Riffaud, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 315. (c) F. Fages, J. P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, J.P. Konopelski, P. Marsau, Y. Barrans, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 655. (d) F. Fages, J. P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, M. Meyer, A.M. Albrecht-Gary, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3658.
33. (a) J. W. Steed, *Chem. Commun.* **2006**, 2637. (b) D.B. Varshey, J.R.G. Sander, T. Frišćić, L.R. MacGillivray, *Supramolecular Interactions, in: Supramol. Chem.*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2012**.
34. E. García-España, P. Díaz, J. M. Llinares, A. Bianchi, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250, 2952.
35. (a) P. D. Beer, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 71. (b) P. D. Beer, E. J. Hayes, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 240, 167.
36. (a) E. J. O'Neil, B. D. Smith, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250, 3068. (b) J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 89. (c) D. J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1009. (d) P. D. Beer, E. J. Hayes, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 240, 167. (e) M. Kruppa, B. König, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 3520.
37. X. Gao, H. Zheng, G. Shang, J. Xu, *Talanta*, **2007**, 73, 770.
38. L. You, D. Zha, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 7840.
39. D. G. *Boronic Acids-Preparation, Application in Organic Synthesis and Medicine*. 1st ed. WILEY-VCH, Weinheim, **2005**.
40. N. T. Southall, K. A. Dill, A. D. J. Haymet, *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106.
41. D. B. Smithrud, E. M. Sanford, I. Chao, S. B. Ferguson, D. R. Carcanague, J. D. Evanseck, K. N. Houk, F. Diederich, *Pure Appl. Chem.* **1990**, 62, 2227.
42. X. Y. Han, Q. X. Fan, Z. H. Chen, L. X. Deng, Z. Q. Fang, G. Shi, M. Zhang, *Biosens. Bioelectron.* **2019**, 139, 111335.
43. H. Kaur, N. Singh, D. O. Jang, *Sens. Act. B Chem.* **2019**, 284, 193.
44. B. Liu, H. Shen, D. Liu, Y. Hao, X. Zhu, Q. Shen, P. Qu, M. Xu, *Sens. Act. B Chem.* **2019**, 300, 126879.
45. S. Li, X. Zhao, X. Yu, Y. Wan, M. Yin, W. Zhang, B. Cao, H. Wang, *Anal. Chem.* **2019**, 91, 14737.
46. A. S. Oshchepkov, T. A. Shumilova, M. Zerson, R. Magerle, V. N. Khrustalev, E. A. Kataev, *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 9034.
47. M. L. Aulsebrook, M. Starck, M. R. Grace, B. Graham, P. Thordarson, R. Pal, K. L. Tuck, *Inorg. Chem.* **2019**, 58, 495.
48. A. J. Plajer, E. G. Percástegui, M. Santella, F. J. Rizzuto, Q. Gan, B. W. Laursen, J. R. Nitschke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 4200.
49. L. S. Mittal, P. Sharma, N. Kaur, P. Singh, *Anal. Methods.* **2019**, 11, 5320.
50. N. Wu, J. Lan, L. Yan, J. You, *Chem. Comm.* **2014**, 50, 4438.
51. N. Ahmed, B. Shirinfar, I. S. Youn, M. Yousuf, K. S. Kim, *Org. Biomol Chem.* **2013**, 11, 6407.
52. P. P. Neelakandan, M. Hariharan, D. Ramaiah, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 11334.
53. N. Ahmed, B. Shirinfar, I. S. Youn, A. Bist, V. Suresh, K. S. Kim, *Chem. Comm.* **2012**, 48, 2662.
54. S. K. Kim, B. S. Moon, J. H. Park, Y. I. Seo, H. S. Koh, Y. J. Yoon, K. D. Lee, J. Yoon, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 6617.

55. J. Y. Kwon, N. J. Singh, H. N. Kim, S. K. Kim, K. S. Kim, J. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8892.
56. X. J. Zhao, C. Z. Huang, *New J. Chem.* **2014**, 38, 3673.
57. H. Lei, J. Liu, J. Yan, S. Lu, Y. Fang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6, 13642.
58. A. S. Rao, D. Kim, H. Nam, H. Jo, K. H. Kim, C. Ban, K. H. Ahn, *Chem. Comm.* **2012**, 48, 3206.
59. S.K. Kim, D. H. Lee, J. I. Hong, J. Yoon, *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 23.
60. Y. Zhou, Z. Xu, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 2222.
61. S. Mondal, K. Ghosh, *Anal. Methods*. **2019**, 2.
62. S. Nakano, M. Fukuda, T. Tamura, R. Sakaguchi, E. Nakata, T. Morii, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 3465.
63. A. Bianchi-Smiraglia, M. S. Rana, C. E. Foley, L. M. Paul, B. C. Lipchick, S. Moparthy, K. Moparthy, E. E. Fink, A. Bagati, E. Hurley, H. C. Affronti, A. V. Bakin, E. S. Kandel, D. J. Smiraglia, M. L. Feltri, R. Sousa, M. A. Nikiforov, *Nat. Methods*. **2017**, 47, 549.
64. L. J. Liang, S. J. Zhen, X. J. Zhao, C. Z. Huang, *Analyst*. **2012**, 137, 5291.
65. T. W. Traut, *Mol Cel Biochem.* **1994**, 140, 1.
66. T. Sakamoto, A. Ojida, I. Hamachi, *Chem. Comm.* **2009**, 2, 141.
67. D. Differential, *ACS Chem. Biol.* **2009**, 4, 93.
68. J. Downward, *Nat. Rev. Cancer.* **2003**, 3, 11.
69. Y. Ou, A. M. Buchanan, C. E. Witt, P. Hashemi, *Anal. Methods* **2019**, 11, 2738.
70. N. Chauhan, S. Soni, P. Agrawal, Y. P. S. Balhara, U. Jain, *Process Biochem.* **2019**, 91, 241.
71. B. Si, E. Song, *Chemosensors* **2018**, 6, 1.
72. J. Soleymani, *Trends Anal. Chem.* **2015**, 72, 27.
73. T. Pradhan, H. S. Jung, J. H. Jang, T. W. Kim, C. Kang, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 4684.
74. A. Prasanna de Silva, H. Q. Nimal Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1515.
75. T. Nagatsu, H. Ichinose, *Cell. Mol. Neurobiol.* **1999**, 19, 57.
76. Y. Misu, Y. Goshima, T. Miyamae, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, 23, 262.
77. T. Suominen, P. Uutela, R. A. Ketola, J. Bergquist, L. Hillered, M. Finel, H. Zhang, A. Laakso, R. Kostainen, *PLOS One* **2013**, 8, 2.
78. S. D. Niyonambaza, P. Kumar, P. Xing, J. Mathault, P. De Koninck, E. Boisselier, M. Boukadoum, A. Miled, *Appl. Sci.* **2019**, 9, 1.
79. P. Sótónyi, B. Merkely, M. Hubay, J. Járay, E. Zima, P. Soós, A. Kovács, I. Szentmáriay, *Toxicol. Sci.* **2004**, 77, 368.
80. L. Wang, D. Su, S. N. Berry, J. Lee, Y. T. Chang, *Chem. Commun.* **2017**, 53, 12465.
81. J. E. Hardebo, C. Owman, *Ann. Neurol.* **1980**, 8, 1.
82. K. J. Broadley, *Pharmacol. Ther.* **2010**, 125, 363.
83. K. Hyland, P. T. Clayton, *Clin. Chem.* **1992**, 38, 2405.
84. J. Zhang, F. R. Qu, A. Nakatsuka, T. Nomura, M. Nagai, M. Nomoto, *Brain Res.* **2003**, 993, 54.
85. P. C. Rodriguez, D. B. Pereira, A. Borgkvist, M. Y. Wong, C. Barnard, M. S. Sonders, H. Zhang, D. Sames, D. Sulzer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, 110, 870.
86. K. A. Kempadoo, E. V. Mosharov, S. J. Choi, D. Sulzer, E. R. Kandel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, 113, 14835.
87. C. G. Goetz, C. M. Macleod, P. M. Carvey, G. T. Stebbins, *Neurology* **1993**, 43, 1040.
88. K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.* **2004**, 6, 3727.
89. K. S. Hettie, T. E. Glass, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 17488.
90. Y. Guo, J. Yang, X. Wu, A. Du, *J. Fluoresc.* **2005**, 15, 131.
91. S. M. Wabaidur, Z. A. Alothman, S. M. Alam, S. H. Lee, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2012**, 96, 221.
92. M. Yoshitake, H. Nohta, H. Yoshida, T. Yoshitake, K. Todoroki, M. Yamaguchi, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 920.
93. F. Zhu, J. Wang, S. Xie, Y. Zhu, L. Wang, J. Xu, S. Liao, J. Ren, Q. Liu, H. Yang, X. Chen, *Anal. Chem.* **2020**, 92, 12040.
94. J. Dong, X. Li, S. B. Peh, Y. Di Yuan, Y. Wang, D. Ji, S. Peng, G. Liu, S. Ying, D. Yuan, J. Jiang, S. Ramakrishna, D. Zhao, *Chem. Mater.* **2019**, 31, 146.



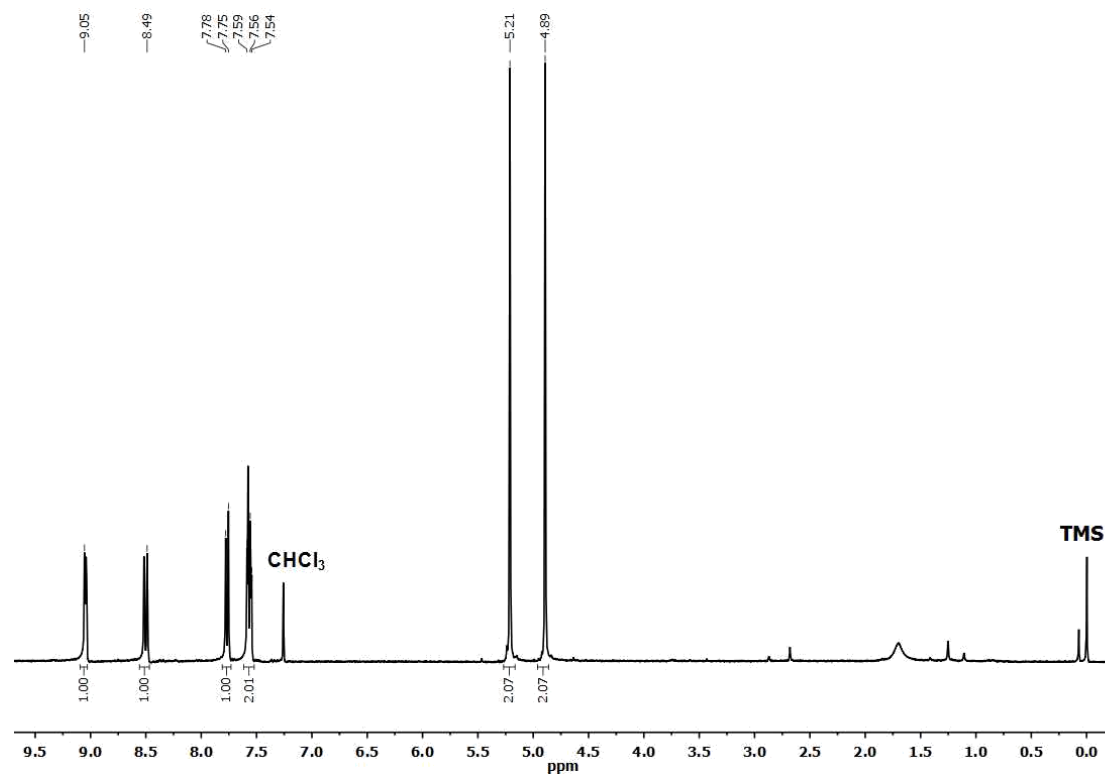
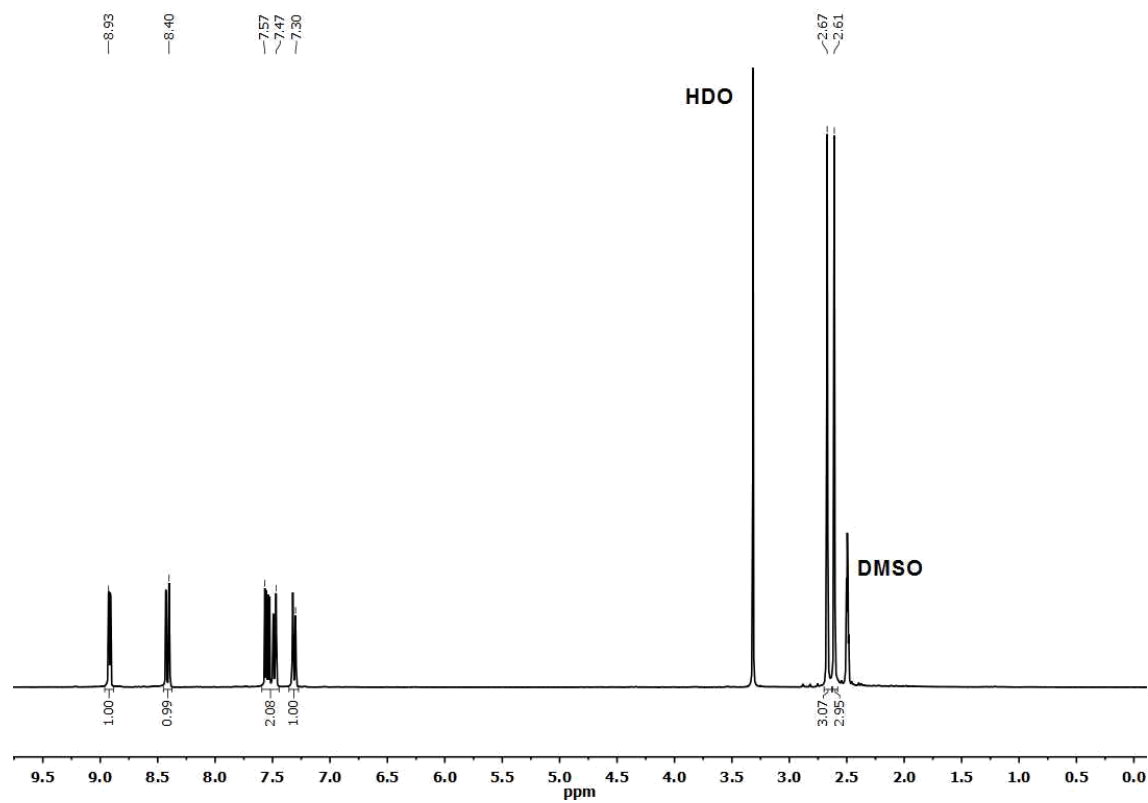
95. T. Imada, H. Kijima, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 2817.
96. A. Coskun, E. U. Akkaya, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3107.
97. Z. Wu, X. Yang, W. Xu, B. Wang, F. Hao, *Drug Discov. Ther.* **2012**, *6*, 238.
98. X. X. Chen, X. Wu, P. Zhang, M. Zhang, B. N. Song, Y. J. Huang, Z. Li, Y. B. Jiang, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 13630.
99. S. Khatua, S. H. Choi, J. Lee, K. Kim, Y. Do, D. G. Churchill, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 2993.
100. G. Ambrosi, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, A. Guerri, E. Macedi, M. Micheloni, P. Paoli, R. Pontellini, P. Rossi, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 5901.
101. L. M. Mesquita, V. André, C. V. Esteves, T. Palmeira, M. N. Berberan-Santos, P. Mateus, R. Delgado, *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 2212.
102. M. Zhang, W. J. Ma, C. T. He, L. Jiang, T. B. Lu, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 4873.
103. A. E. Hargrove, S. Nieto, T. Zhang, J. L. Sessler, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6603.
104. K. Kim, Y. Ha, L. Kaufman, D. G. Churchill, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 928.
105. A. Ojida, I. Takashima, T. Kohira, H. Nonaka, I. Hamachi, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12095.
106. Y. Kurishita, T. Kohira, A. Ojida, I. Hamachi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13290.
107. A. Dorazco-Gonzalez, *Organometallics*. **2014**, *33*, 868.
108. B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200*, 487.
109. J. Šponer, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1965.
110. D. Bansal, R. Gupta, *Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 14737.
111. S. Watchasit, P. Suktanarak, C. Suksai, V. Ruangpornvisuti, T. Tuntulani, *Dalt. Trans.* **2014**, *43*, 14701.
112. H. N. Lee, K. M. K. Swamy, S. K. Kim, J. Y. Kwon, Y. Kim, S. J. Kim, Y. J. Yoon, J. Yoon, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 243.
113. O. F. Ikotun, N. Marino, P. E. Kruger, M. Julve, R. P. Doyle, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 890.
114. H. H. Jang, S. Yi, M. H. Kim, S. Kim, N. H. Lee, M. S. Han, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6241.
115. C. R. Simmons, J. M. Stomel, M. D. McConnell, D. A. Smith, J. L. Watkins, J. Simmons, P. Allen, J. C. Chaput, *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 649.
116. R. T. Guo, Y. E. Chong, M. Guo, X. L. Yang, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 28968.
117. A. Dorazco-González, M. F. Alamo, C. Godoy-Alcántar, H. Höpfl, A. K. Yatsimirsky, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 455.
118. I. J. Bazany-Rodríguez, D. Martínez-Otero, J. Barroso-Flores, A. K. Yatsimirsky, A. Dorazco-González, *Sens. Act. B Chem.* **2015**, *221*, 1348.
119. Z. Kowser, H. Tomiyasu, X. Jiang, U. Rayhan, C. Redshaw, T. Yamato, *New J. Chem.* **2015**, *39*, 4055.
120. D. H. Lee, J. H. Im, S. U. Son, Y. K. Chung, J. I. Hong, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7752.
121. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta*, **1996**, *43*, 1739.
122. S. C. Schwartz, B. Pinto-Pacheco, J. P. Pitteloud, D. Buccella, *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 3204.
123. W. Fang, C. Liu, F. Yu, Y. Liu, Z. Li, L. Chen, X. Bao, T. Tu, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2016**, *8*, 20583.
124. Q. C. Xu, H. J. Lv, Z. Q. Lv, M. Liu, Y. J. Li, X. F. Wang, Y. Zhang, G. W. Xing, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 47788.
125. T. Lu, F. Chen, *J. Comp. Chem.* **2012**, *33*, 580.
126. A. Vacca, O. Francesconi, S. Roelens, *Chem. Rec.* **2012**, *12*, 544.
127. N. A. Corfù, H. Sigel, *Eu. J. Biochem.* **1991**, *199*, 659.
128. L. D. Rosales-Vázquez, J. Valdes-García, I. J. Bazany-Rodríguez, J. M. Germán-Acacio, D. Martínez-Otero, A. R. Vilchis-Néstor, R. Morales-Luckie, V. Sánchez-Mendieta, A. Dorazco-González, *Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 12407.
129. Y. Mikata, A. Ugai, R. Ohnishi, H. Konno, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 10223.
130. Y. Mikata, Y. Sato, S. Takeuchi, Y. Kuroda, H. Konno, S. Iwatsuki, *Dalt. Trans.* **2013**, *42*, 9688.
131. M. Mameli, M. C. Aragoni, M. Arca, M. Atzori, A. Bencini, C. Bazzicalupi, A. J. Blake, C. Caltagirone, F. A. Devillanova, A. Garau, M. B. Hursthouse, F. Isaia, V. Lippolis, B. Valtancoli, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 9236.
132. N. J. Williams, W. Gan, J. H. Reibenspies, R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1407.
133. E. M. Nolan, S. J. Lippard, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 193.
134. Y. Mikata, A. Yamanaka, A. Yamashita, S. Yano, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7295.

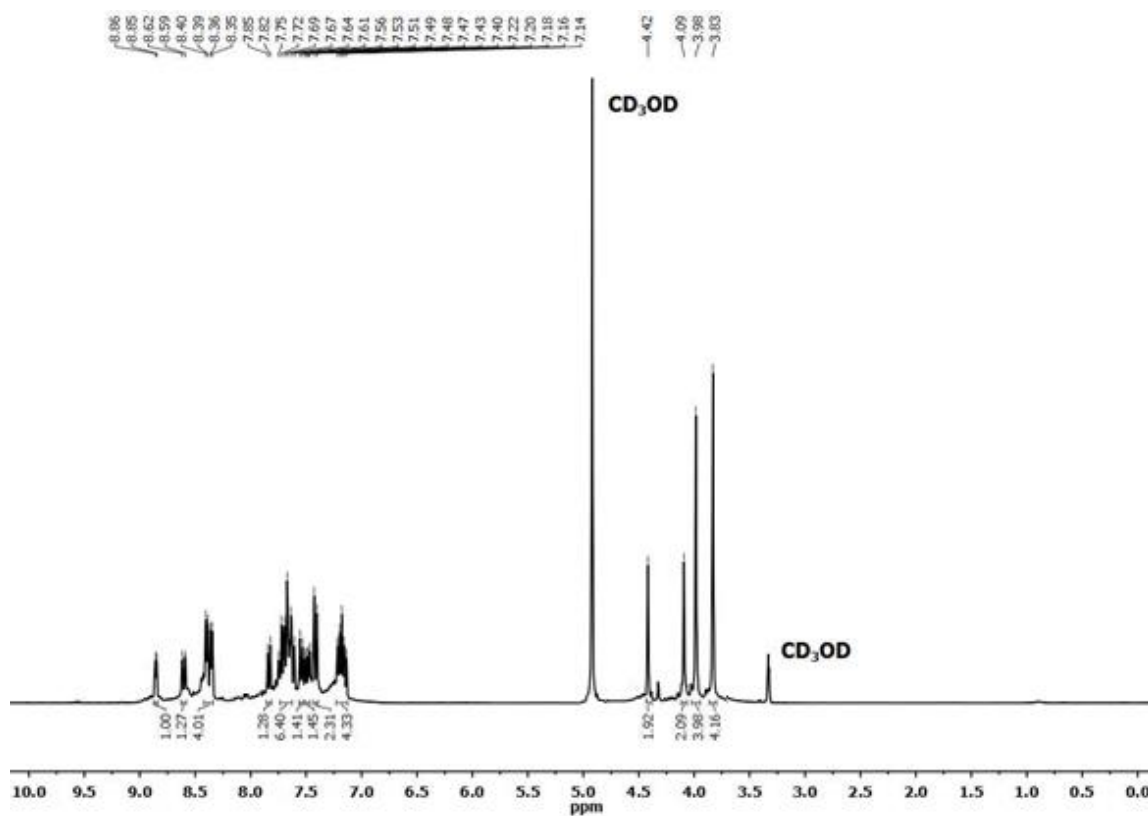
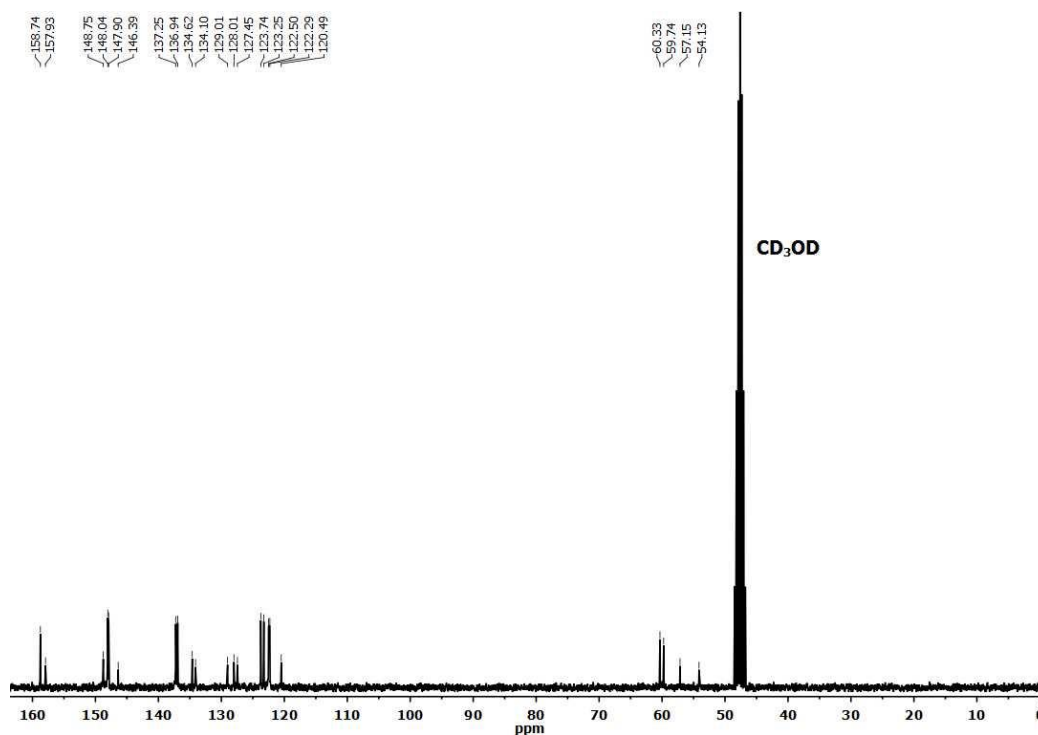
135. M. C. Aragoni, M. Arca, A. Bencini, A. J. Blake, C. Caltagirone, G. De Filippo, F. A. Devillanova, A. Garau, T. Gelbrich, M. B. Hursthouse, F. Isaia, V. Lippolis, M. Mameli, P. Mariani, B. Valtancoli, C. Wilson, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 4548.
136. Y. Shiraishi, C. Ichimura, T. Hirai, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 7769.
137. Y. Mikata, M. Wakamatsu, A. Kawamura, N. Yamanaka, S. Yano, A. Odani, K. Morihira, S. Tamotsu, *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 9262.
138. D. Y. Wu, L. X. Xie, C. L. Zhang, C. Y. Duan, Y. G. Zhao, Z. J. Guo, *Dalt. Trans.* **2006**, 29, 3528.
139. Y. Mikata, M. Wakamatsu, S. Yano, *Dalt. Trans.* **2005**, 3, 545.
140. W. Gan, S. B. Jones, J. H. Reibenspies, R. D. Hancock, *Inorg. Chim. Acta.* **2005**, 358, 3958.
141. C. Ichimura, Y. Shiraishi, T. Hirai, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 5594.
142. J. C. Rendón-Balboa, L. Villanueva-Sánchez, L. D. Rosales-Vázquez, J. Valdes-García, A. R. Vilchis-Nestor, D. Martínez-Otero, S. Martínez-Vargas, A. Dorazco-González, *Inorg. Chim. Acta.* **2018**, 483, 235.
143. R. Alizadeh, V. Amani, *Inorg. Chim. Acta*, 443, 151–159, **2016**.
144. M. K. Salomón-Flores, C. L. Hernández-Juárez, I. J. Bazany-Rodríguez, J. Barroso-Flores, D. Martínez-Otero, R. López-Arteaga, J. Valdés-Martínez, A. Dorazco-González, *Sens. Act. B Chem.*, **2019**, 281, 462.
145. A. Dorazco-González, Use of Pincer Compounds as Metal-Based Receptors for Chemosensing of Relevant Analytes. In *Pincer Compounds. Chemistry and Applications*; 1st Edition.; D. Morales-Morales, Ed.; Elsevier: Amsterdam, **2018**. Chapter 27.
146. O. T. Ujam, O. E. Offie, P. O. Ukoha, A. G. Oliver, J. I. Ume, R. L. Stoddard, J. S. McIndoe, *J. Coord. Chem.* **2016**, 69, 2807.
147. [A. Abdallah, S. Freslon, X. Fan, A. Rojo, C. Daignebonne, Y. Suffren, K. Bernot, G. Calvez, T. Roisnel, O. Guillou, *Inorg. Chem.* **2019**, 58, 462.
148. M. S. McCready, R. J. Puddephatt, *ACS Omega* **2018**, 3, 13621.
149. T. Hashemzadeh, M. A. Haghighatbin, J. Agugiaro, D. J. D. Wilson, C. F. Hogan, P. J. Barnard, *Dalt. Trans.* **2020**, 49, 11361.
150. N. Gómez-Blanco, J. J. Fernández, A. Fernández, D. Vázquez-García, M. López-Torres, A. Rodríguez, J. M. Vila, *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 3597.
151. G. Fang, H. Wang, Z. Bian, J. Sun, A. Liu, H. Fang, B. Liu, Q. Yao, Z. Wu, *RSC Adv.* **2018**, 8, 29400.
152. S. Zhang, T. E. Glass, *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 112.
153. T. Zhang, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2007**, 9, 1627.
154. T. Zhang, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2006**, 8, 1649.
155. A. R. Lippert, T. Gschneidner, C. J. Chang, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 7510.
156. S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, D. B. Cordes, M. M. Olmstead, R. A. Wessling, B. Singaram, *Tetrahedron* **2006**, 62, 6321.
157. R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 113.
158. A. Dorazco-González, M. F. Alamo, C. Godoy-Alcántar, H. Höpfl, A. K. Yatsimirsky, *RSC Adv.* **2014**, 4, 455.
159. S. W. Oh, J. W. E. Weiss, P. A. Kerneghan, I. Korobkov, K. E. Maly, D. L. Bryce, *Magn. Reson. Chem.* **2012**, 50, 388.
160. J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, 268, 1.
161. R. Hosseinzadeh, M. Mohadjerani, M. Pooryousef, A. Eslami, S. Emami, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, 144, 53.
162. T. D. James, K. R. A. Samankumara Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1910.
163. S. L. Wiskur, J. J. Lavigne, H. Ait-Haddou, V. Lynch, Y. H. Chiu, J. W. Canary, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2001**, 3, 1311.
164. R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Talanta* **2005**, 65, 762.
165. K. S. Hettie, X. Liu, K. D. Gillis, T. E. Glass, *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, 4, 918.
166. Z. Guo, I. Shin, J. Yoon, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5956.
167. E. J. Jun, H. Liub, J. Y. Choi, J. Y. Lee, J. Yoon, *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, 176, 611.
168. A. Chaicham, S. Sahasithiwat, T. Tuntulani, B. Tomapatnaget, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 9287.

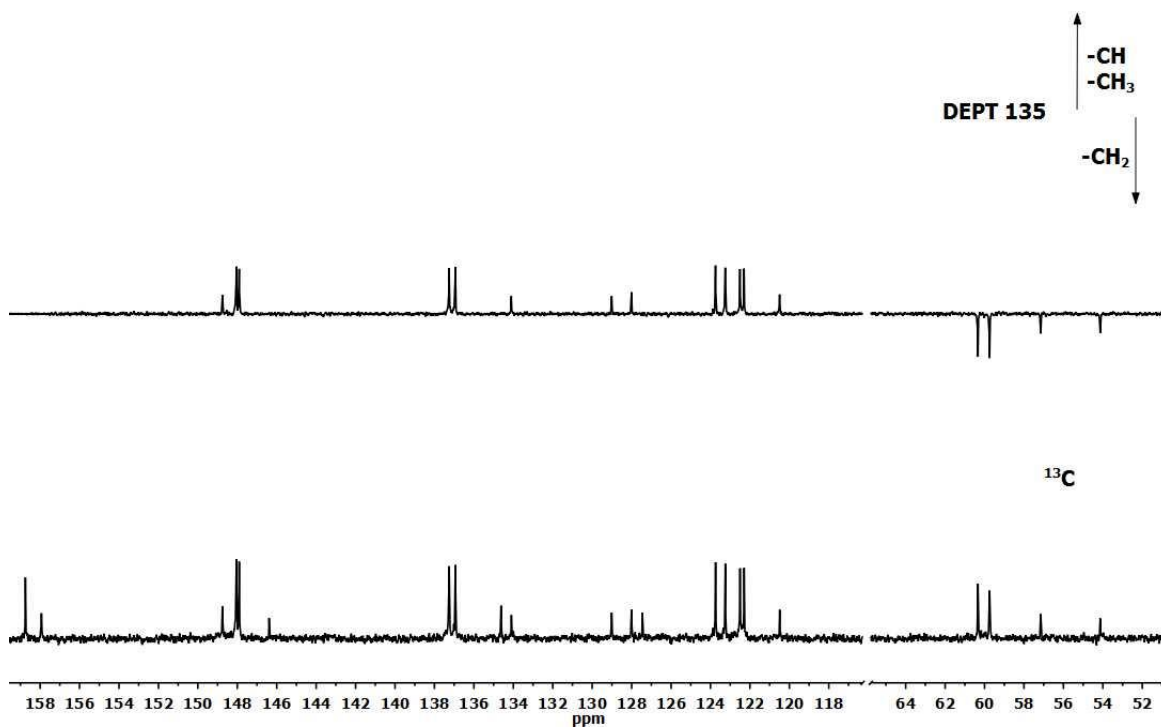
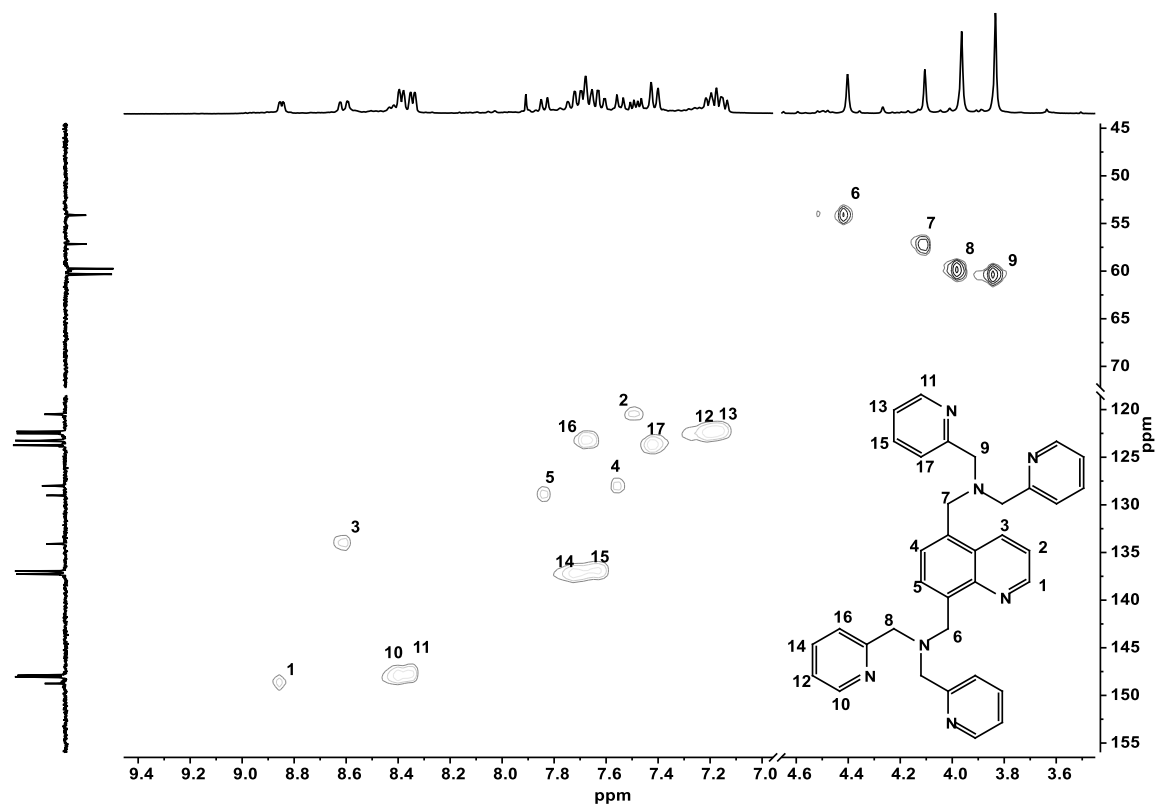
169. J. S. Anjali Devi, B. Aswathy, S. Asha, S. George, *J. Anal. Chem.* **2017**, *72*, 445.
170. C. F. Chow, H. K. Kong, S. W. Leung, B. K. W. Chiu, C. K. Koo, E. N. Y. Lei, M. H. W. Lam, W. T. Wong, W. Y. Wong, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 289.
171. J. Ruta, S. Perrier, C. Ravelet, J. Fize, E. Peyrin, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7468.
172. Y. Guo, J. Yang, X. Wu, H. Mao, *Talanta* **2007**, *73*, 227.
173. H. L. Kwong, W. L. Wong, C. S. Lee, C. T. Yeung, P. F. Teng, *Inorg. Chem. Commun.* **2009**, *12*, 815.
174. G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291.
175. S. L. Diemer, M. Kristensen, B. Rasmussen, S. R. Beeren, M. Pittelkow, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 21858.
176. X. Chen, S. L. Chew, F. M. Kerton, N. Yan, *Green Chem.* **2014**, *16*, 2204.
177. H. Nöth, B. Wrackmeyer, *J. Magn. Reson.* **1978**, *12*, III.
178. M. M. Rhaman, M. H. Hasan, A. Alamgir, L. Xu, D. R. Powell, B. M. Wong, R. Tandon, M. A. Hossain, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1.
179. R. Kaushik, R. Sakla, A. Ghosh, S. Dama, A. Mittal, D. A. Jose, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 47587.
180. P. P. Neelakandan, M. Hariharan, D. Ramaiah, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11334.
181. C. B. Hübschle, G. M. Sheldrick, B. Dittrich, *J. Appl. Crystallogr.* **2011**, *44*, 1281.
182. G.M. Sheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement; University of Göttingen, Germany, 1997.*
183. C. F. Macrae, I. Sovago, S. J. Cottrell, P. T. A. Galek, P. McCabe, E. Pidcock, M. Platings, G. P. Shields, J. S. Stevens, M. Towler, P. A. Wood, *J. Appl. Crystallogr.* **2020**, *53*, 226.
184. H. Ait-Haddou, S. L. Wiskur, V. M. Lynch, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11296.
185. Gaussian 09, Revision E.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.*
186. NBO Version 3.1, E. D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold.
187. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* **2015**, *71*, 3.
188. M. B. Gzaïel, A. Queslati, I. Chaabane, M. Gargouri, *J. Mol. Struct.* **2016**, *1122*, 280.
189. S. M. Wagoner, M. Deconada, K. L. Cumpian, R. Ortiz, S. Chinthala, L. A. Angel, *J. Mass Spectrom.* **2016**, *51*, 1120.
190. A. Heil, C. M. Marian, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *36*, 19857.
191. P. L. A. Popelier, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *197*, 169.
192. A. T. Baryshnikova, B. F. Minaev, G.V. Baryshnikov, W. H. Sun, *Russ. J. Inorg. Chem.* **2015**, *60*, 1560.
193. M. Valiev, E. J. Bylaska, N. Govind, K. Kowalski, T. P. Straatsma, H. J. J. V. Dam, D. Wang, J. Nieplocha, E. Apra, T. L. Windus, W. A. de Jong, *Comput. Phys. Commun.* **2010**, *181*, 1477.

1. $^1\text{H}$ RMN de <b>A</b> DMSO- $d_6$ .....	113
2. $^1\text{H}$ RMN de <b>B</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	113
3. $^1\text{H}$ RMN de <b>L1</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	114
4. $^{13}\text{C}$ RMN de <b>L1</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	114
5. HSQC de <b>L1</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	115
6. DEPT de <b>L1</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	115
7. IR (ATR) <b>L1</b> .....	116
8. EM (DART <sup>+</sup> ) de <b>L1</b> .....	116
9. $^1\text{H}$ RMN de $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	117
10. $^{13}\text{C}$ RMN de $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	117
11. $^{19}\text{F}$ RMN de $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	118
12. HSQC de $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	118
13. DEPT de $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	119
14. IR (ATR) de $[\text{Zn}_{29}\text{L1}][\text{OTf}]_4$ .....	119
15. EM (ESI <sup>+</sup> ) ion monocatiónico: $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 3\text{OTf}\}^+$ en MeOH.....	120
16. EM (ESI <sup>+</sup> ) ion dicatiónico: $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 2\text{OTf}\}^{2+}$ en MeOH.....	120
17. EM (ESI <sup>+</sup> ) ion dicatiónico del complejo 1:1 $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + \text{GTP}^{4-} + 2\text{Na}^+ + 3\text{H}_2\text{O}\}^{2+}$ .....	121
18. EM (ESI <sup>+</sup> ) ion dicatiónico del complejo 2:2 $\{2[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 2\text{GTP}^{3-} + \text{Na}^+ + \text{OTf}\}^{2+}$ .....	121
19. $^1\text{H}$ RMN de <b>C</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	122
20. $^{13}\text{C}$ RMN de <b>C</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	122
21. EM (EI) de <b>C</b> .....	123
22. $^1\text{H}$ RMN de <b>L2</b> en DMSO- $d_6$ .....	123
23. $^{13}\text{C}$ RMN de <b>L2</b> en DMSO- $d_6$ .....	124
24. $^{11}\text{B}$ RMN de <b>L2</b> en DMSO- $d_6$ .....	124
25. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L2</b> .....	124
26. IR (ATR) de <b>L2</b> .....	125
27. $^1\text{H}$ RMN de <b>L3</b> en DMSO- $d_6$ .....	125
28. $^{13}\text{C}$ RMN de <b>L3</b> en DMSO- $d_6$ .....	126
29. $^{11}\text{B}$ RMN de <b>L3</b> en DMSO- $d_6$ .....	126
30. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L3</b> .....	126

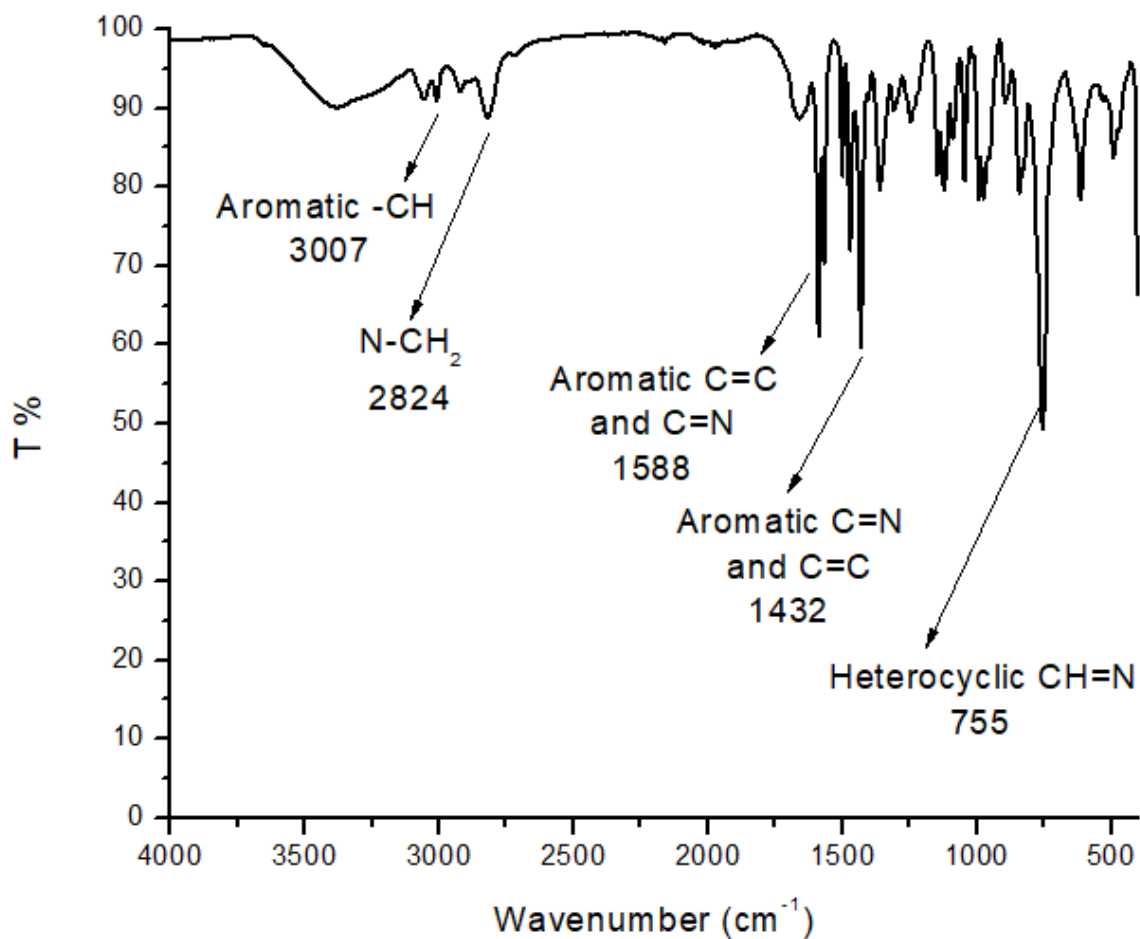
31. IR (ATR) de <b>L3</b> .....	127
32. <sup>1</sup> H RMN de <b>L4</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	127
33. <sup>13</sup> C RMN de <b>L4</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	128
34. <sup>11</sup> B RMN de <b>L4</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	128
35. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L4</b> .....	128
36. IR (ATR) de <b>L4</b> .....	129
37. <sup>1</sup> H RMN de <b>L5</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	129
38. <sup>13</sup> C RMN de <b>L5</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	130
39. APCI (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L5</b> .....	130
40. IR (ATR) de <b>L5</b> .....	131
41. <sup>1</sup> H RMN de <b>L2.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	131
42. <sup>13</sup> C RMN de <b>L2.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	132
43. <sup>11</sup> B RMN de <b>L2.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	132
44. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L2.Zn</b> .....	132
45. <sup>1</sup> H RMN de <b>L3.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	133
46. <sup>13</sup> C RMN de <b>L3.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	133
47. <sup>11</sup> B RMN de <b>L3.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	134
48. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L3.Zn</b> .....	134
49. <sup>1</sup> H RMN de <b>L4.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	134
50. <sup>13</sup> C RMN de <b>L4.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	135
51. <sup>11</sup> B RMN de <b>L4.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	135
52. EM (ESI <sup>+</sup> ) de <b>L4.Zn</b> .....	135
53. <sup>1</sup> H RMN de <b>L5.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	136
54. <sup>13</sup> C RMN de <b>L5.Zn</b> en DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	136
55. Datos cristalográficos para <b>L4.Zn</b> Y <b>L5.Zn</b> .....	137
56. Enlaces de hidrógeno para <b>L4.Zn</b> [Å y °].....	137



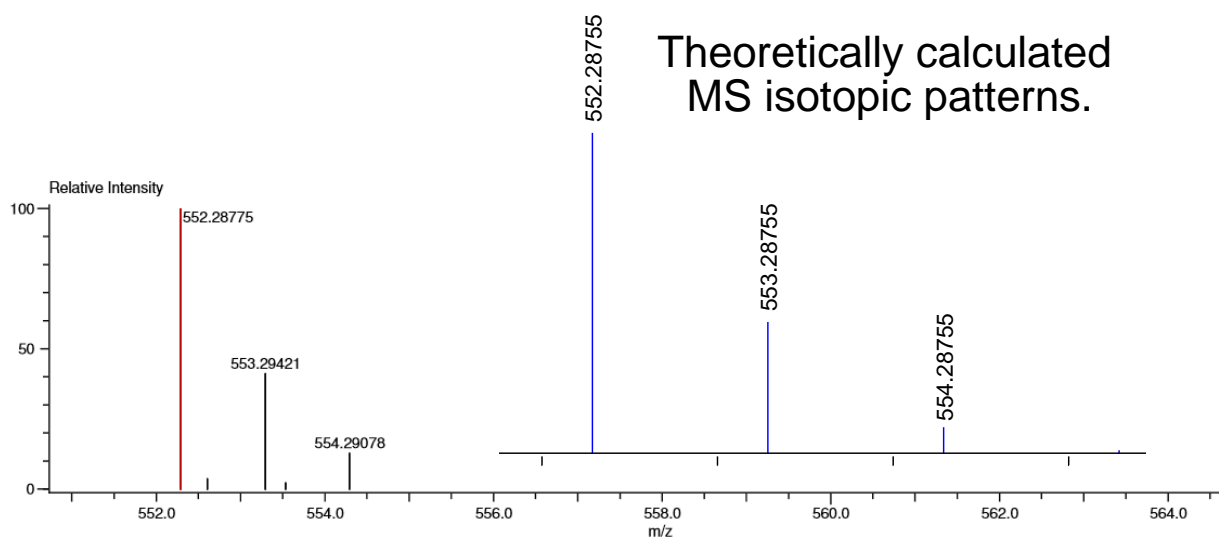
3. <sup>1</sup>H RMN de L1 en CD<sub>3</sub>OD.4. <sup>13</sup>C RMN de L1 en CD<sub>3</sub>OD.





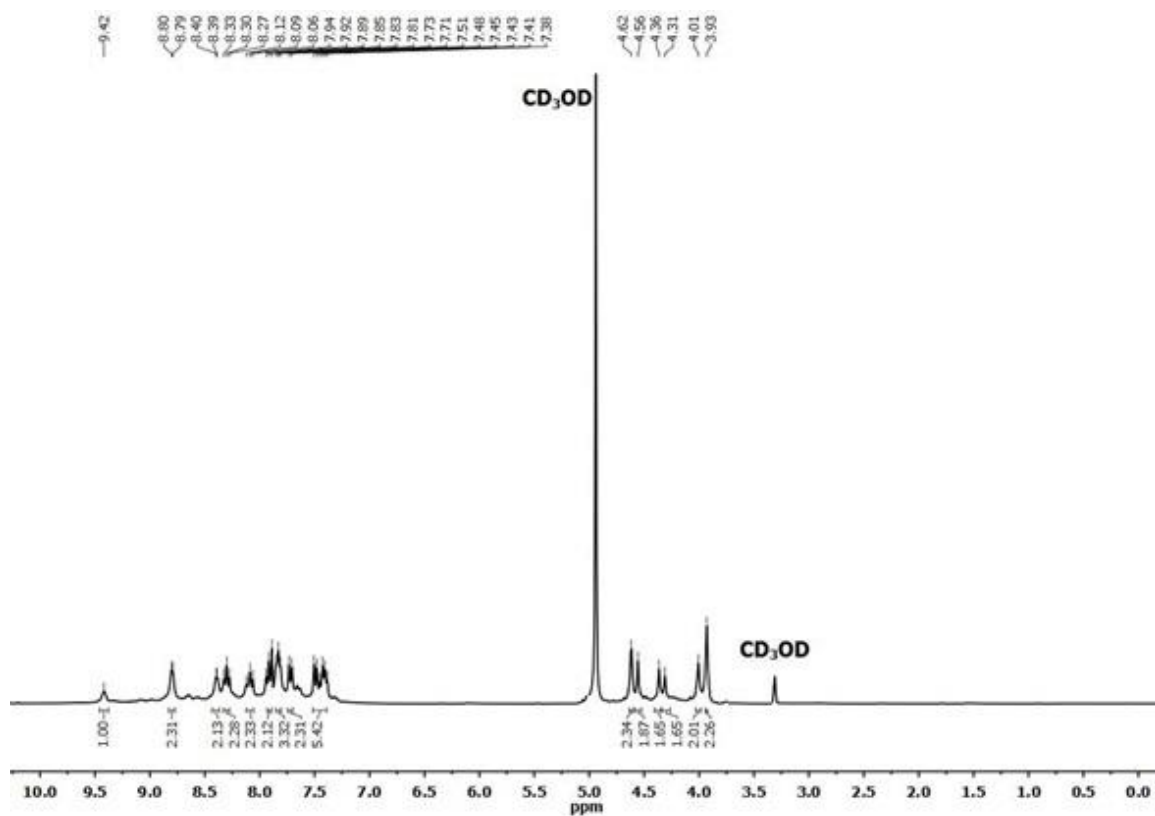
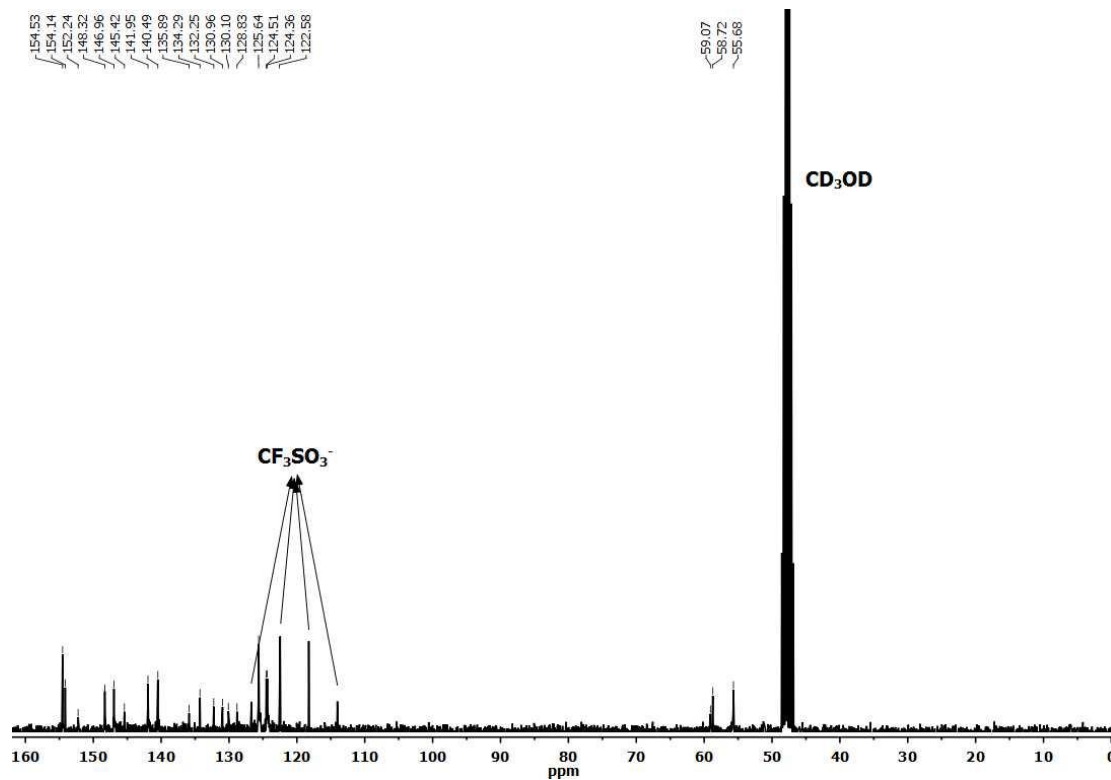


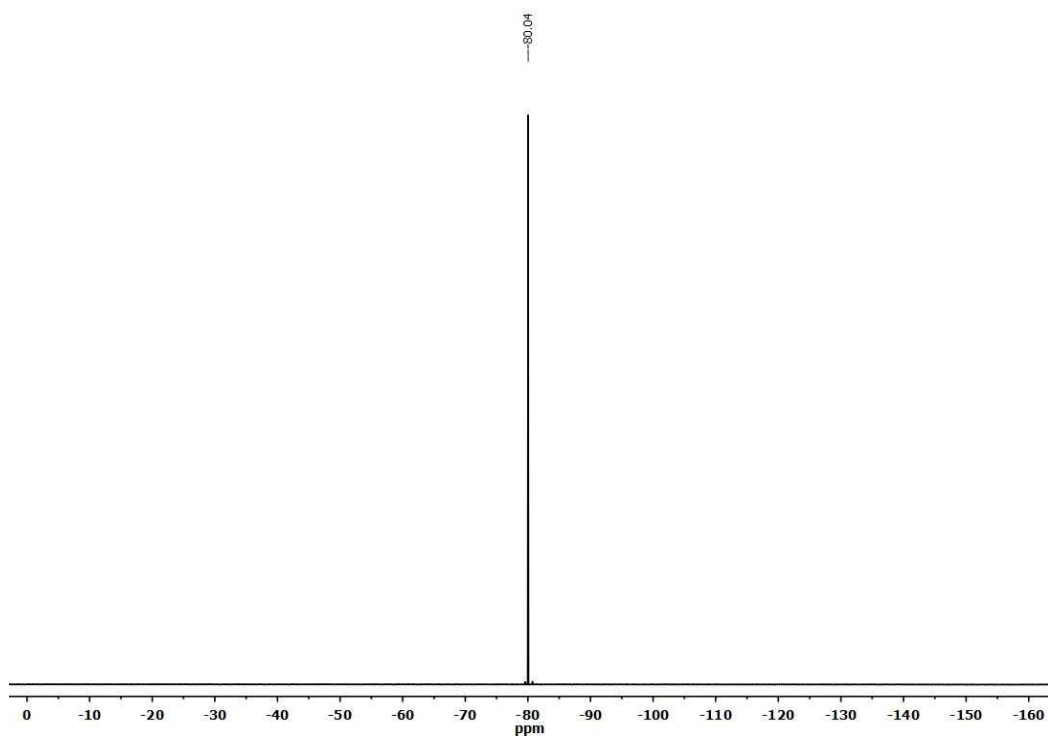
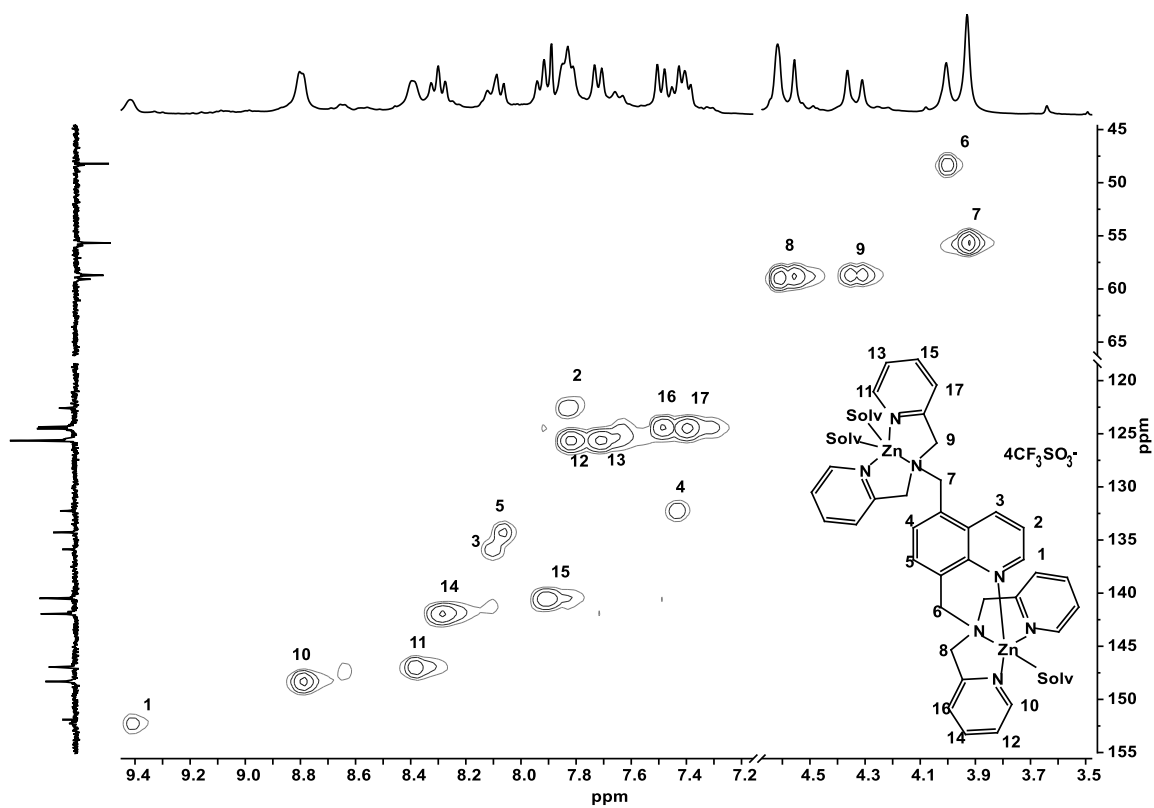
## 7. IR (ATR) L1.

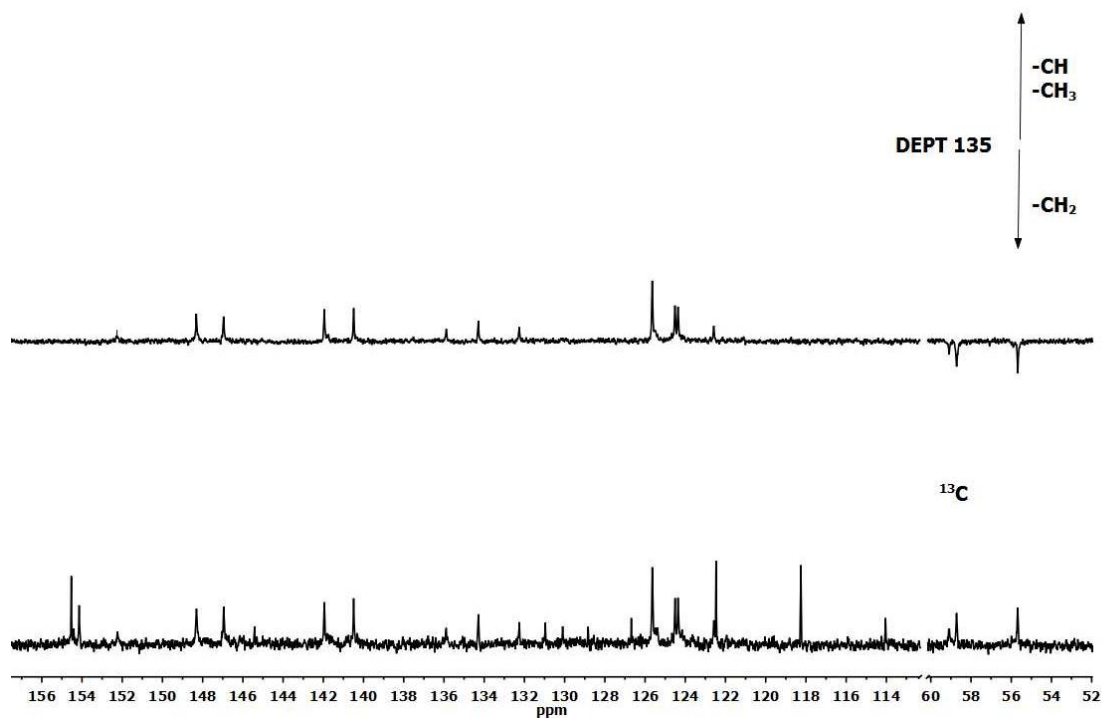
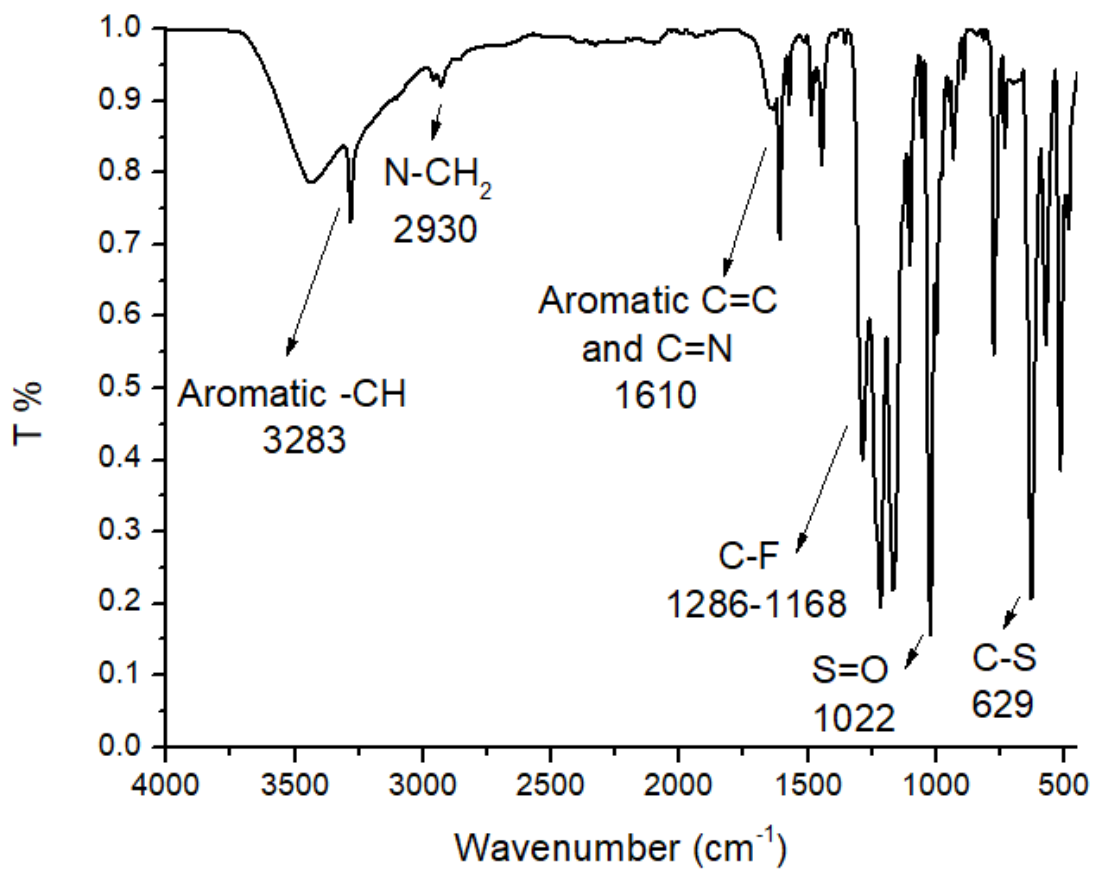


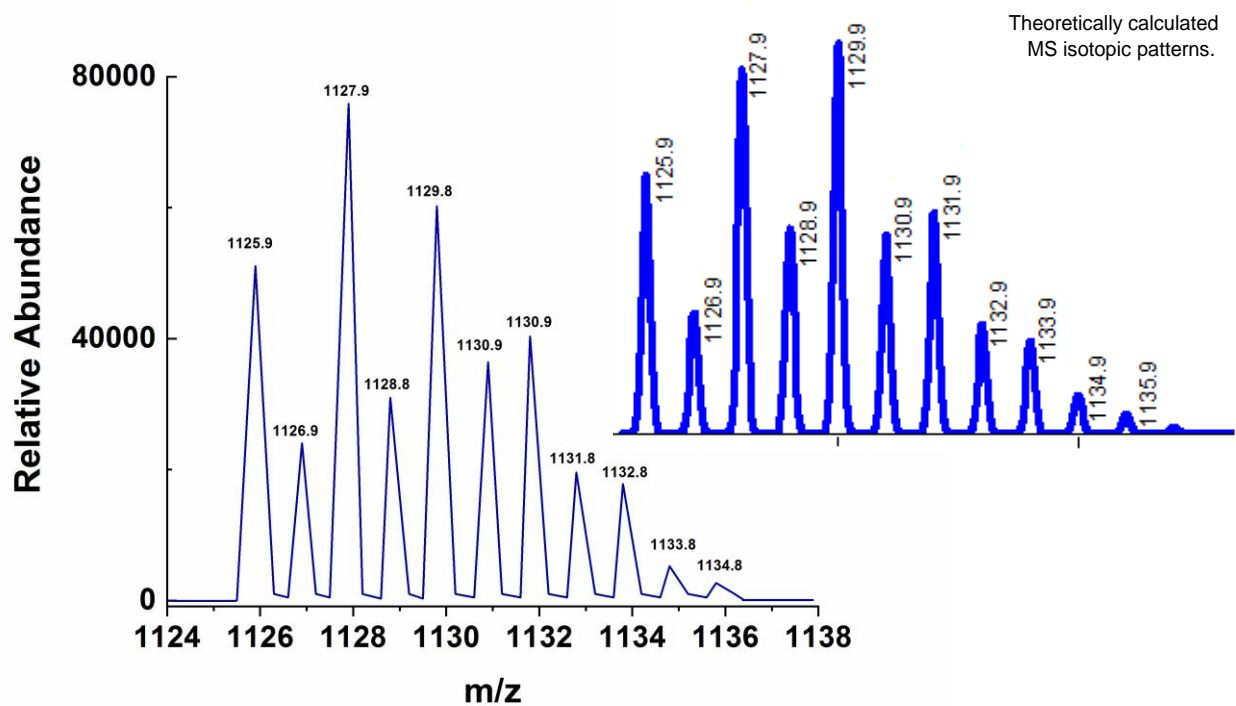
Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
552.28775	10415.78	552.28757	0.18	0.33	<sup>12</sup> C <sub>35</sub> <sup>1</sup> H <sub>34</sub> <sup>14</sup> N <sub>7</sub>	22.5

8. EM (DART<sup>+</sup>) de L1.

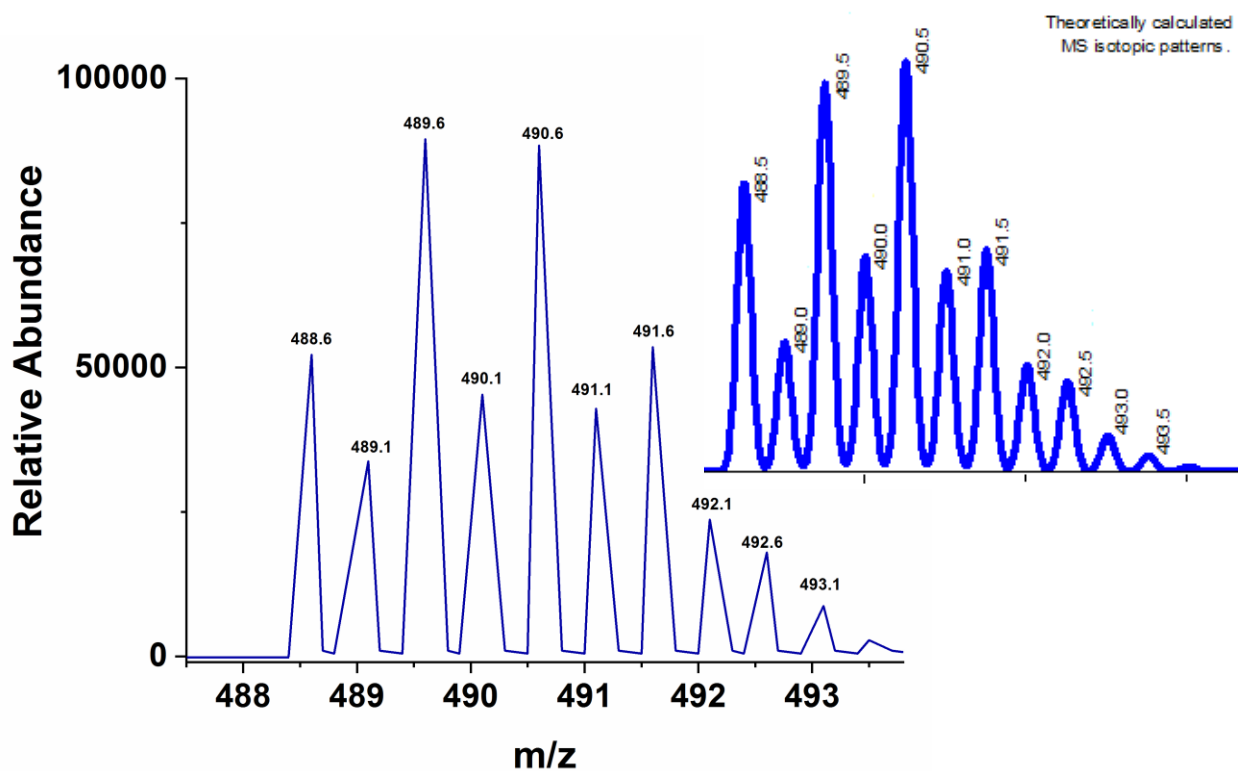
9. <sup>1</sup>H RMN de [Zn<sub>2</sub>L1][OTf]<sub>4</sub> en CD<sub>3</sub>OD.10. <sup>13</sup>C RMN de [Zn<sub>2</sub>L1][OTf]<sub>4</sub> en CD<sub>3</sub>OD.

11.  $^{19}\text{F}$  RMN de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .12. HSQC de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

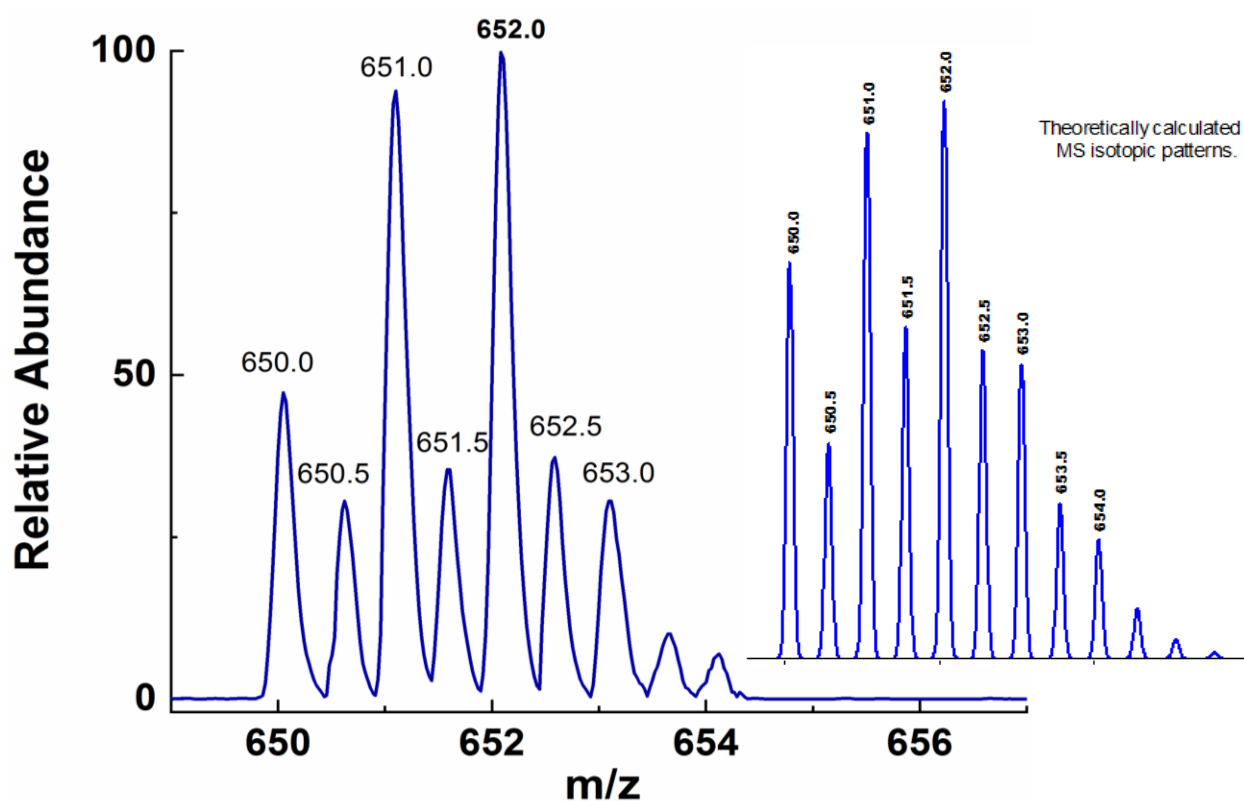
13. DEPT de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .14. IR (ATR) de  $[\text{Zn}_2\text{L1}][\text{OTf}]_4$ .



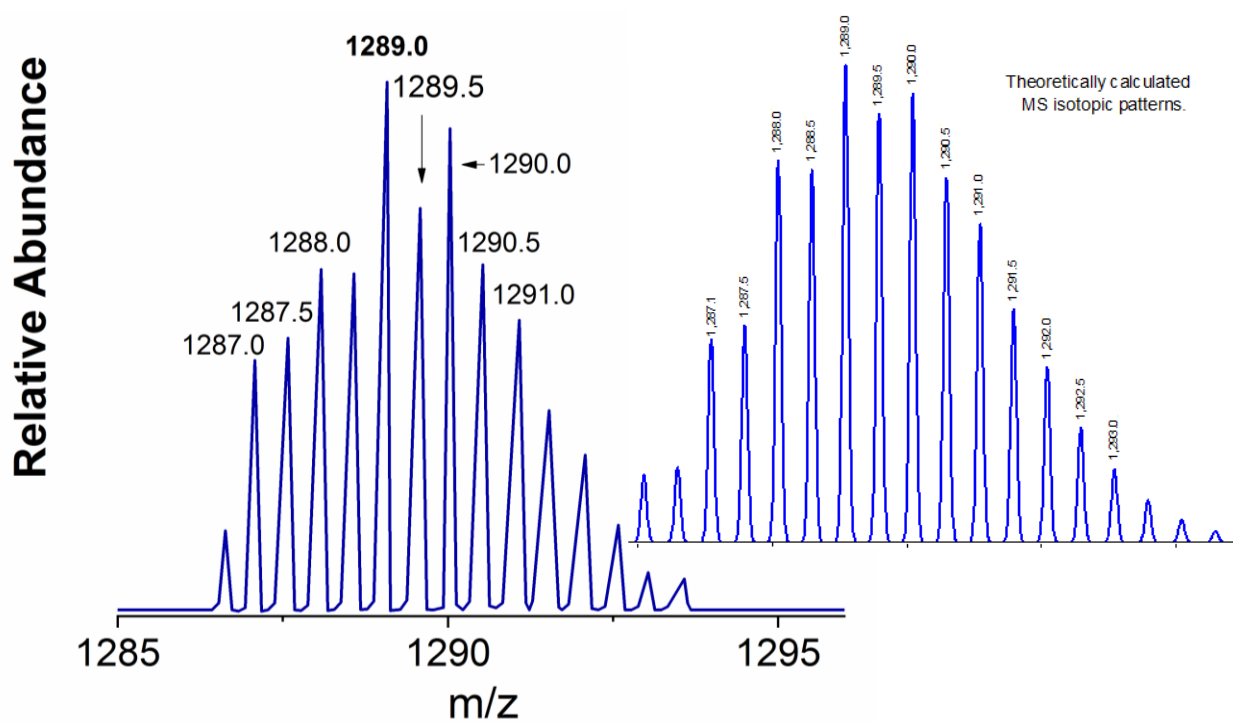
15. EM (ESI<sup>+</sup>) ion monocatiónico:  $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 3\text{OTf}\}^+$  en MeOH.



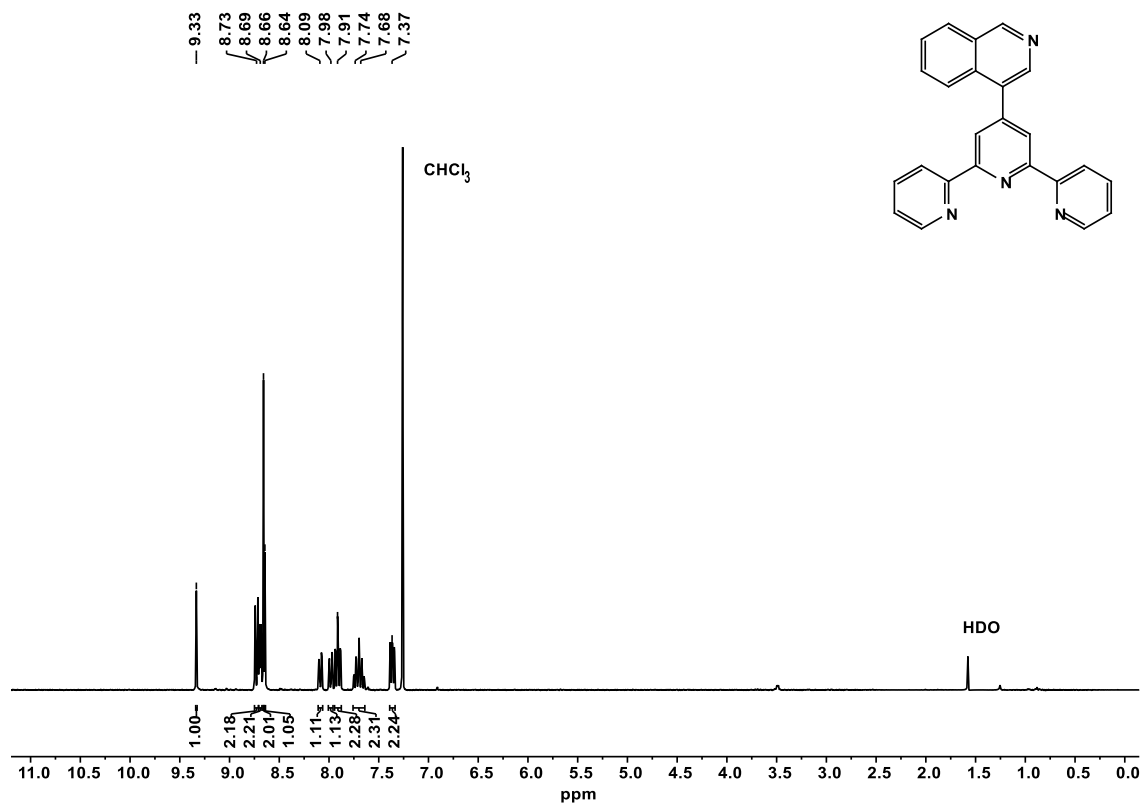
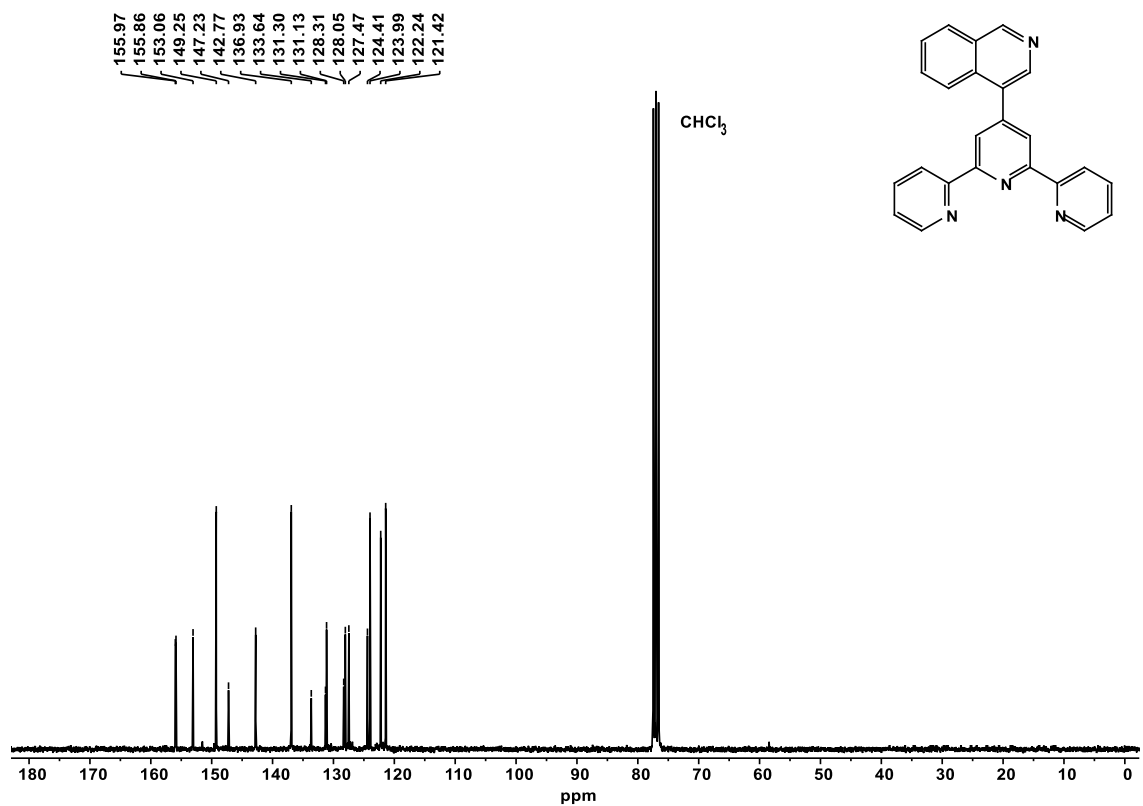
16. EM (ESI<sup>+</sup>) ion dicatiónico:  $\{[\text{Zn}_2\text{L1}]^{4+} + 2\text{OTf}\}^{2+}$  en MeOH.

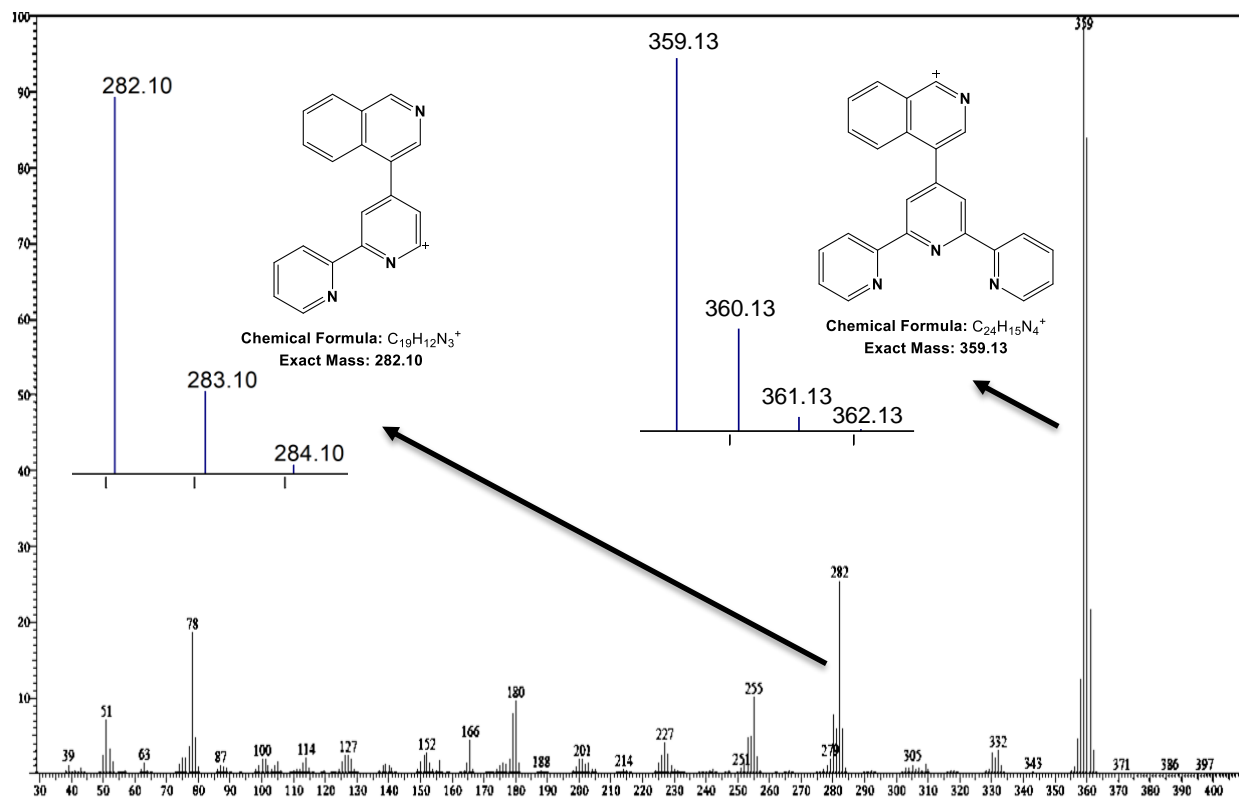


17. EM (ESI<sup>+</sup>) ion dicatiónico del complejo 1:1 {[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> + GTP<sup>4-</sup> + 2Na<sup>+</sup> + 3H<sub>2</sub>O)<sup>2+</sup>}.

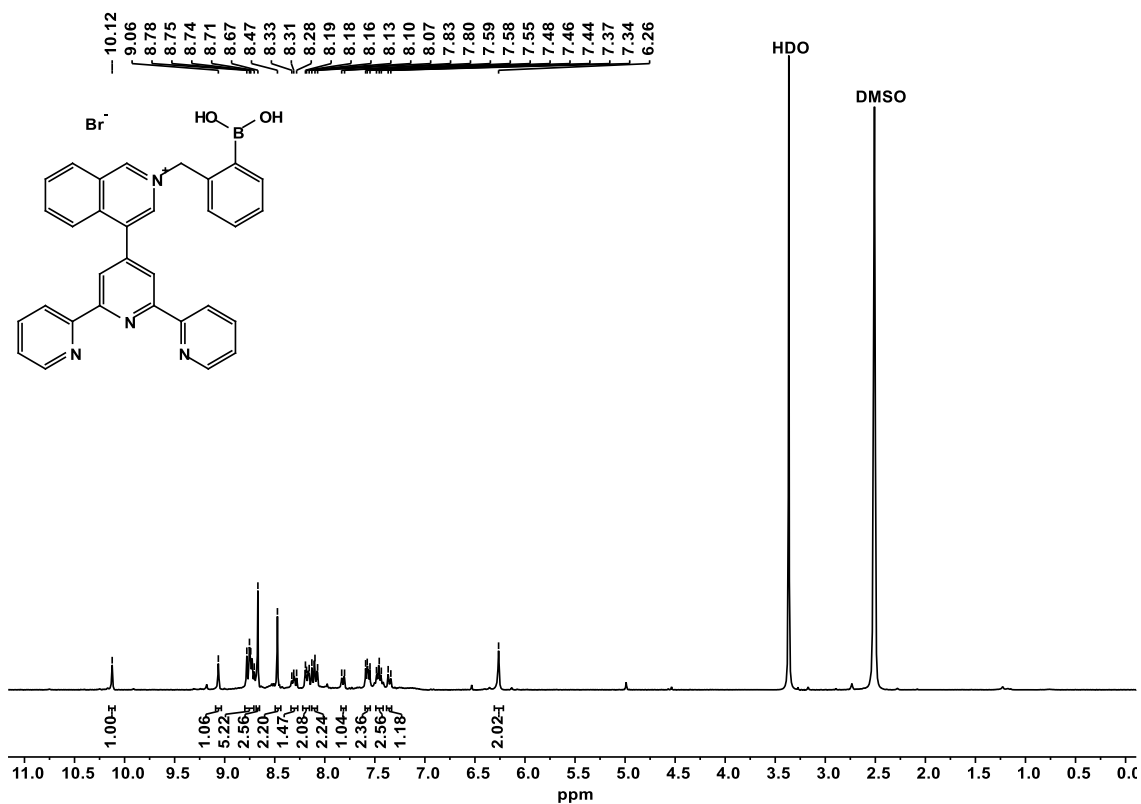


18. EM (ESI<sup>+</sup>) ion dicatiónico del complejo 2:2 {2[Zn<sub>2</sub>L1]<sup>4+</sup> + 2GTP<sup>3-</sup> + Na<sup>+</sup> + OTf)<sup>2+</sup>}.

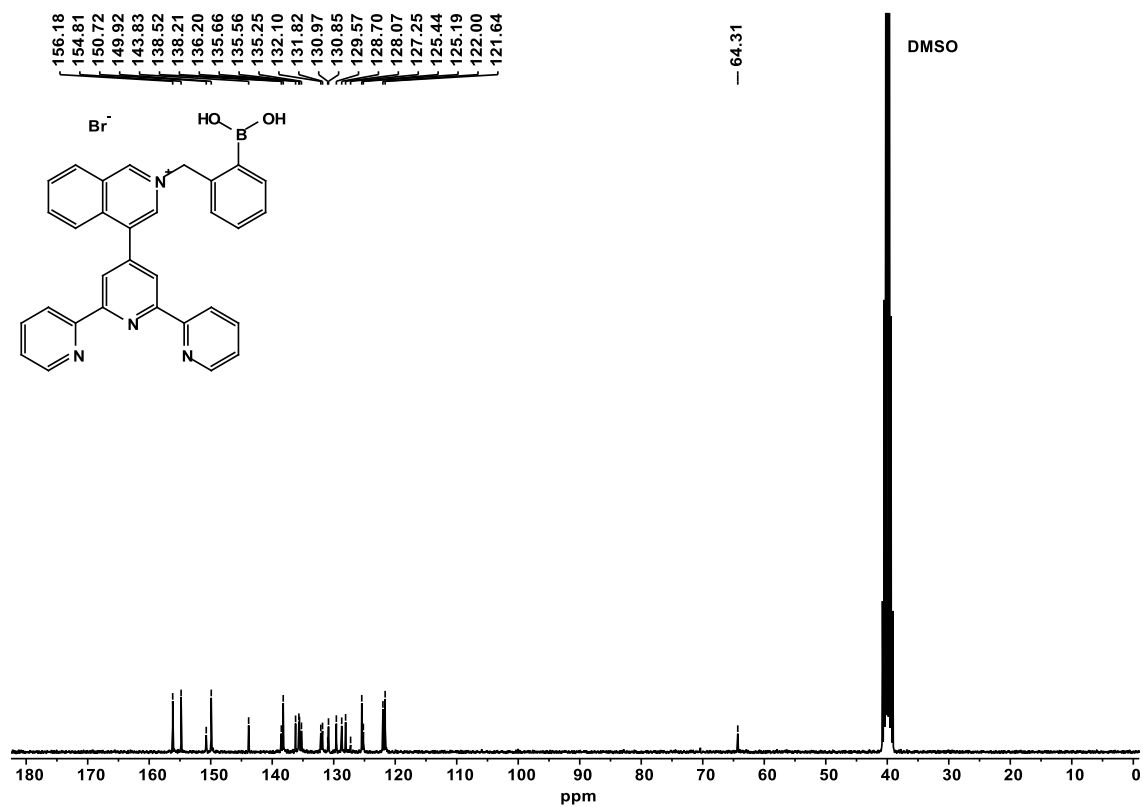
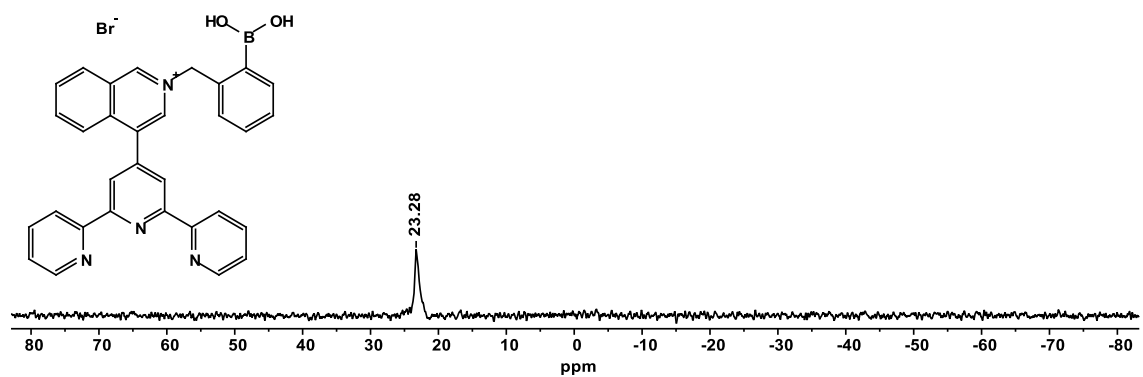
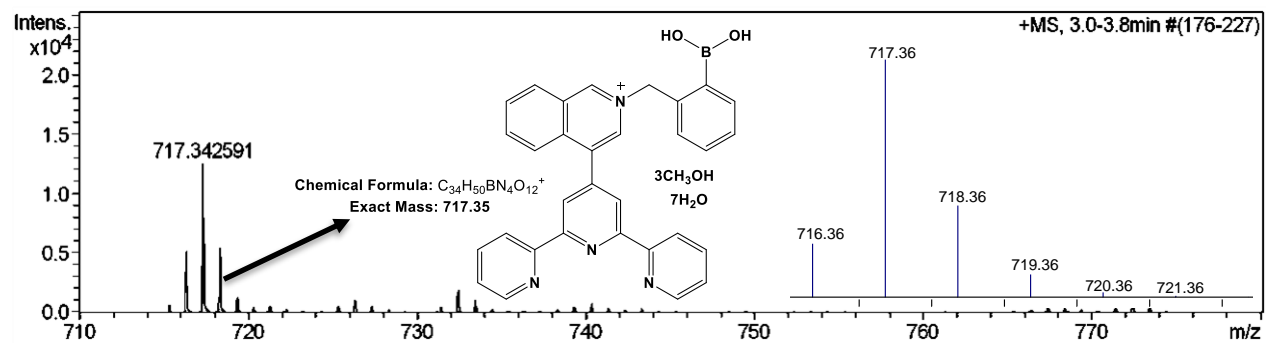
19. <sup>1</sup>H RMN de **C** en CDCl<sub>3</sub>.20. <sup>13</sup>C RMN de **C** en CDCl<sub>3</sub>.

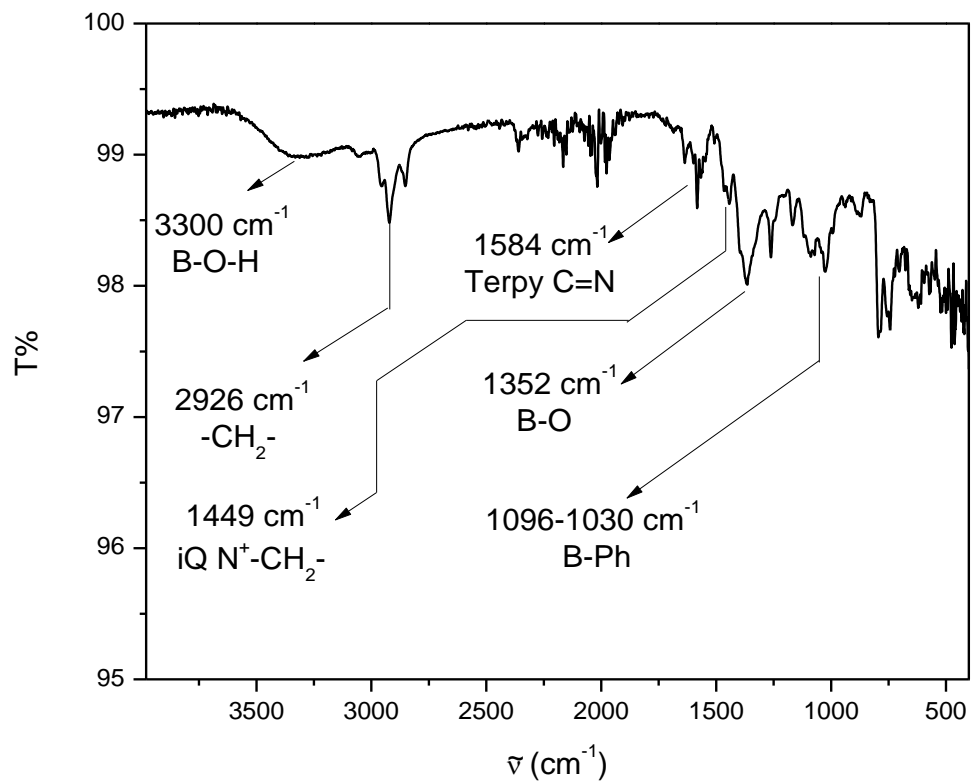


21. EM (EI) de C.

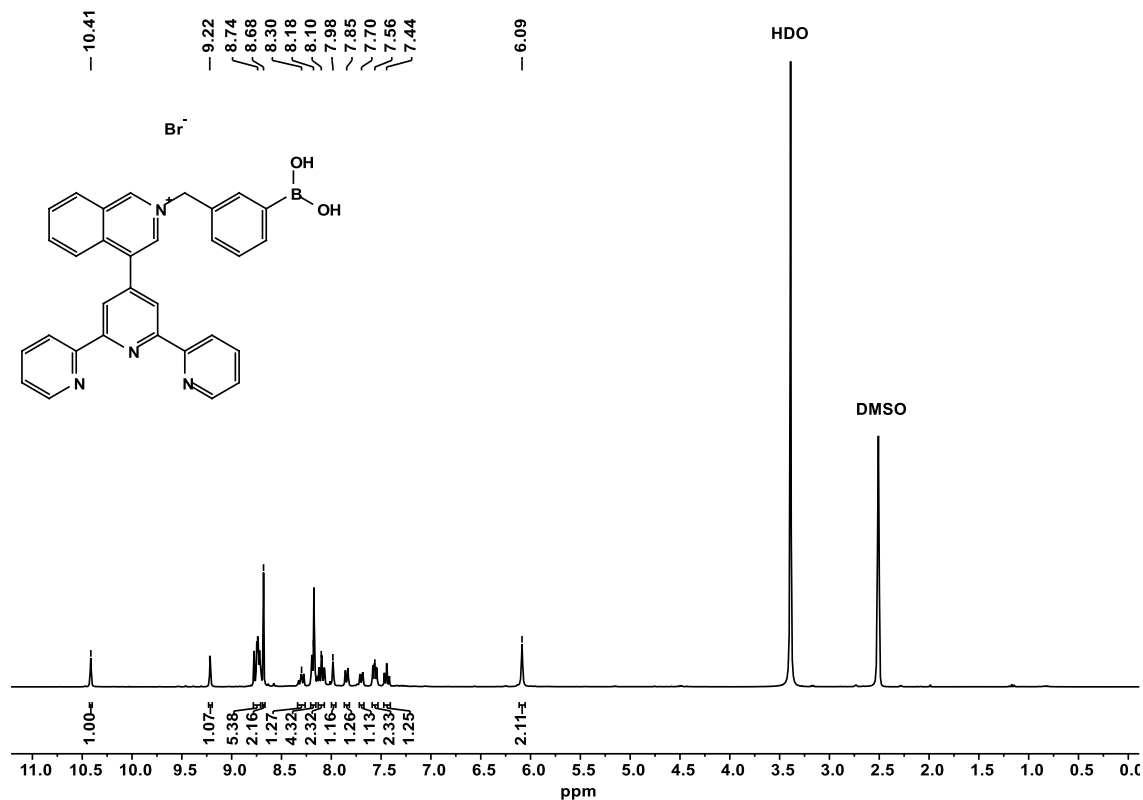
22.  $^1H$  RMN de L2 en  $DMSO-d_6$ .

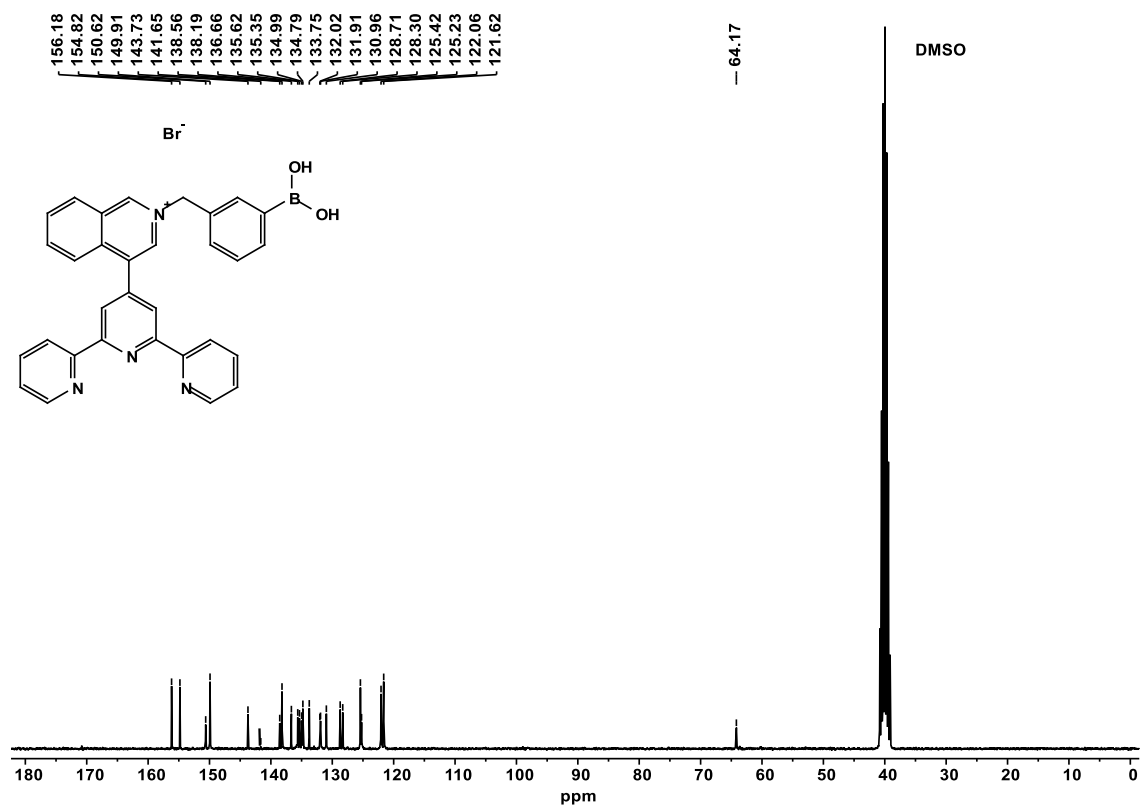
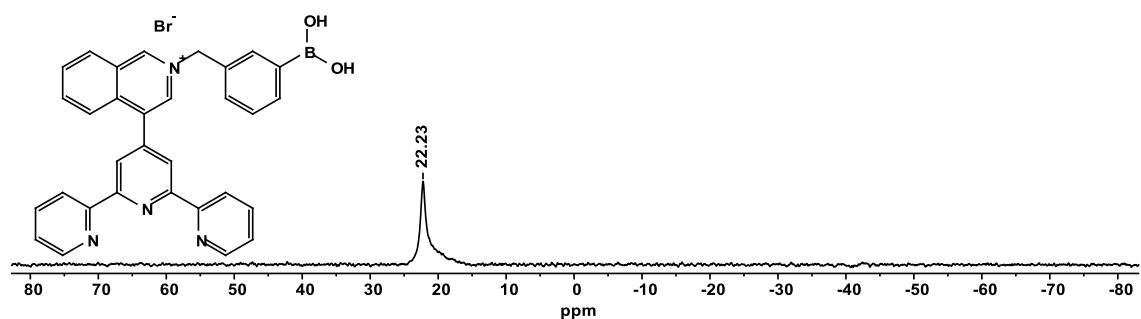
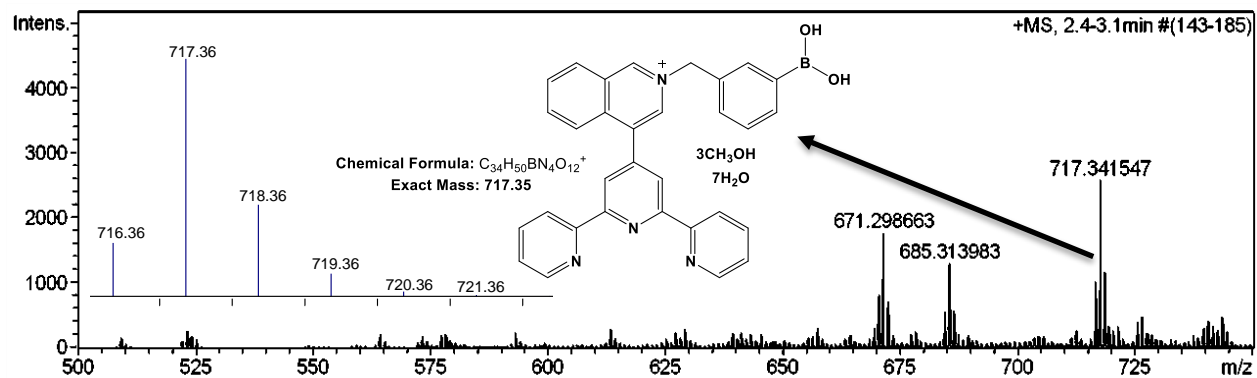


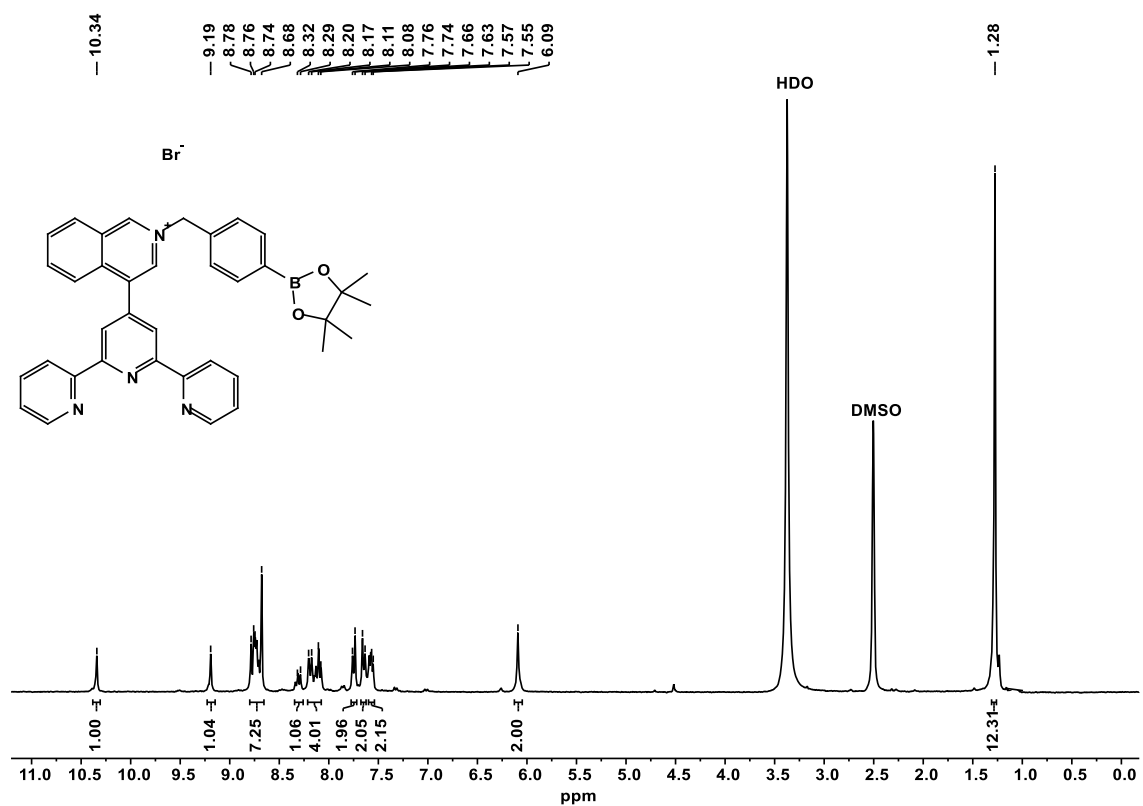
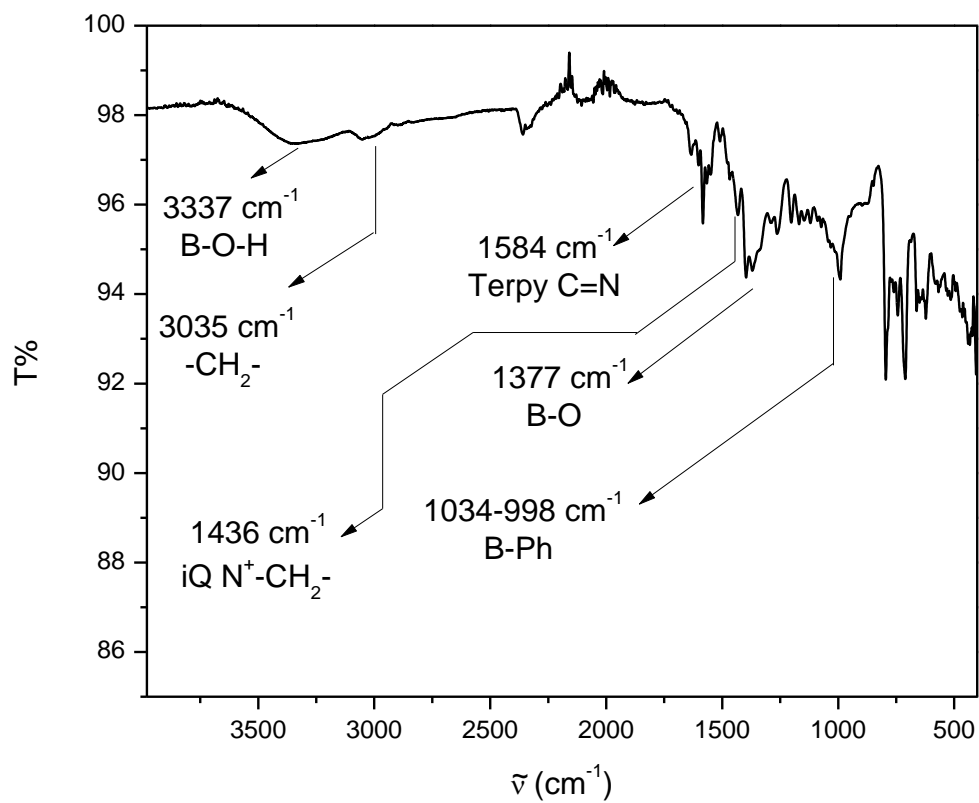
23. <sup>13</sup>C RMN de L2 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.24. <sup>11</sup>B RMN de L2 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.25. EM (ESI<sup>+</sup>) de L2.

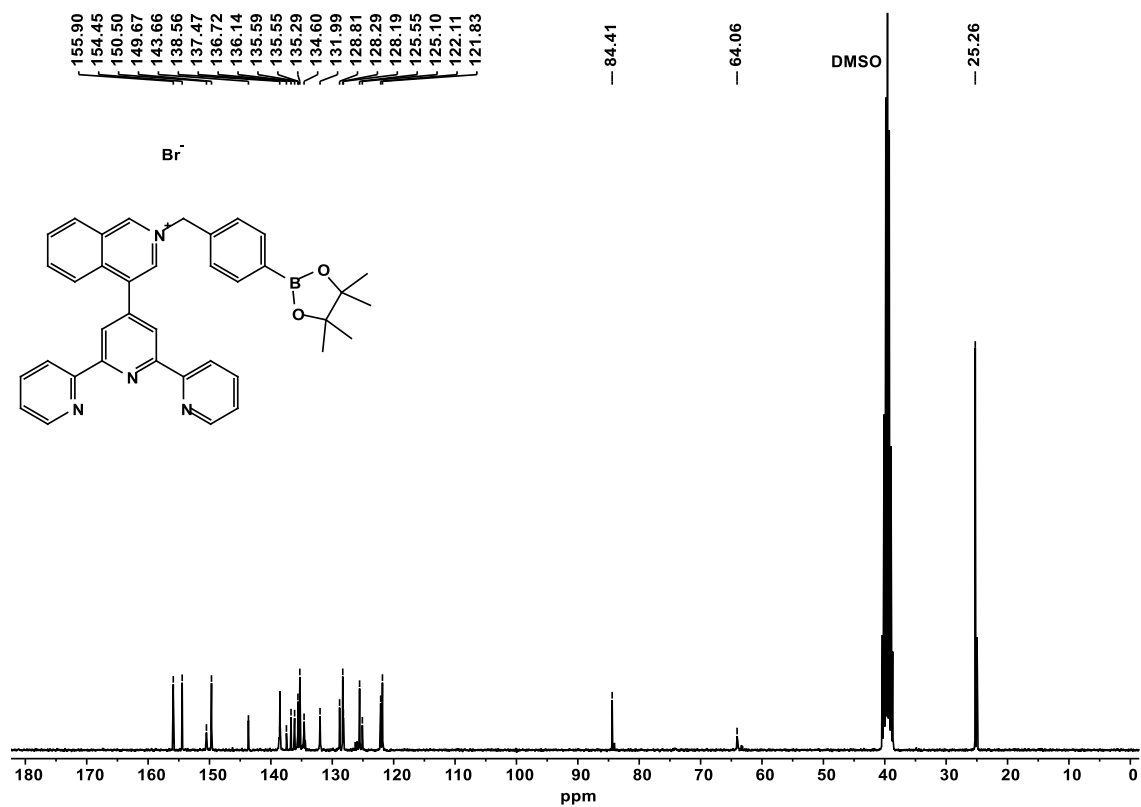
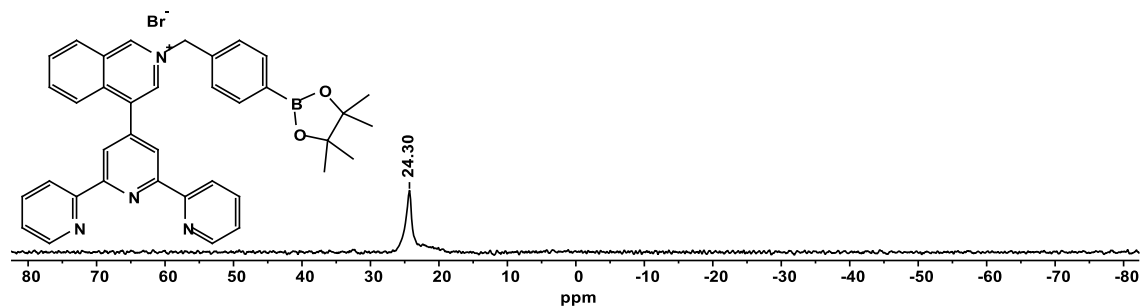
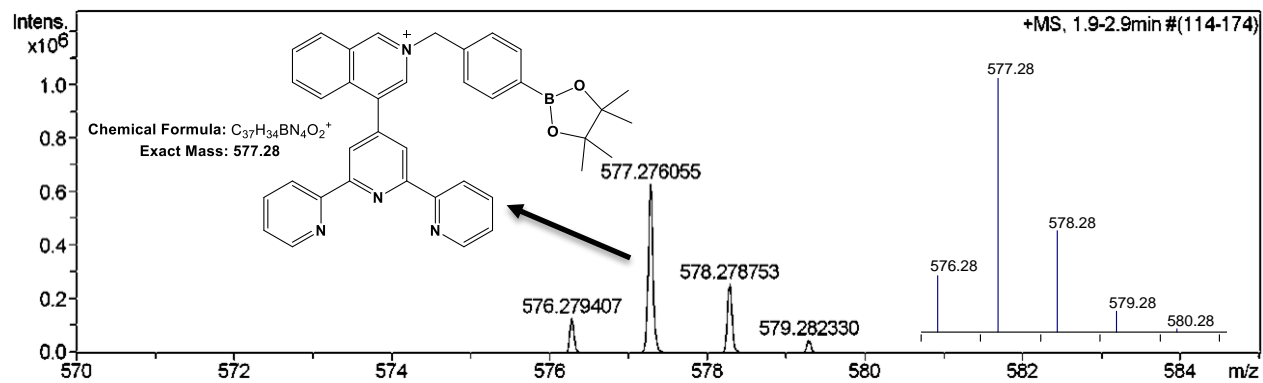


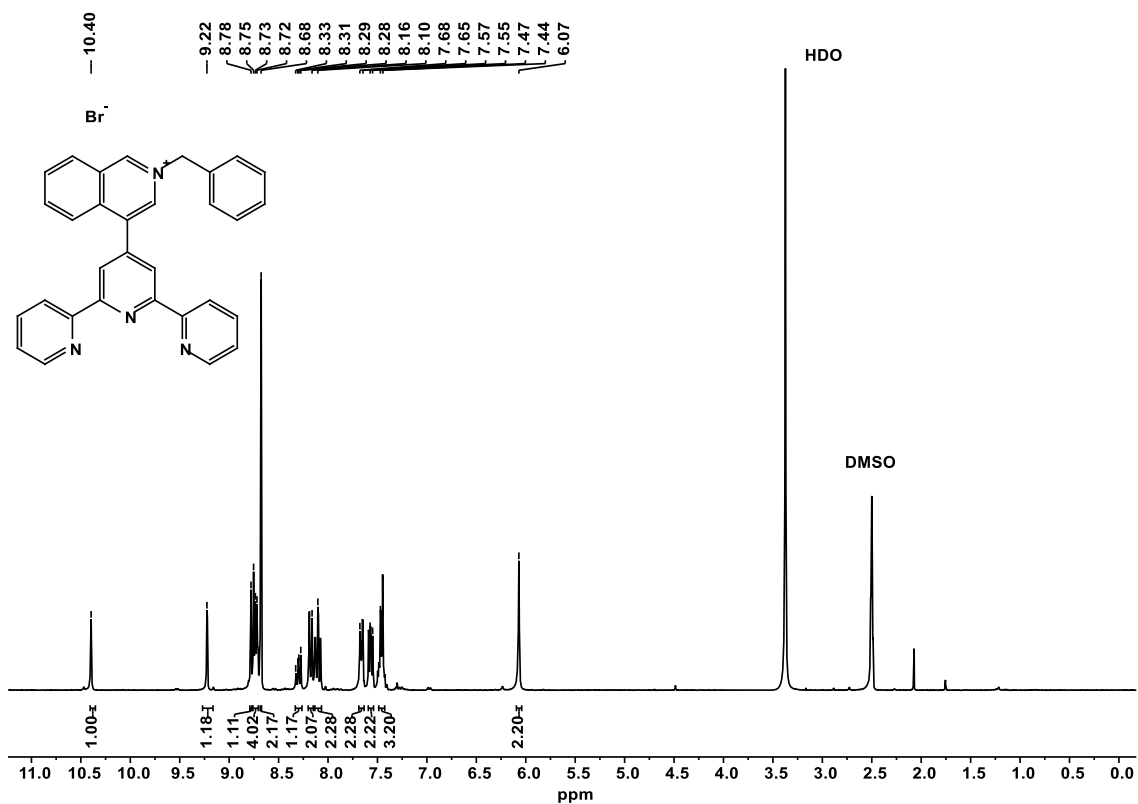
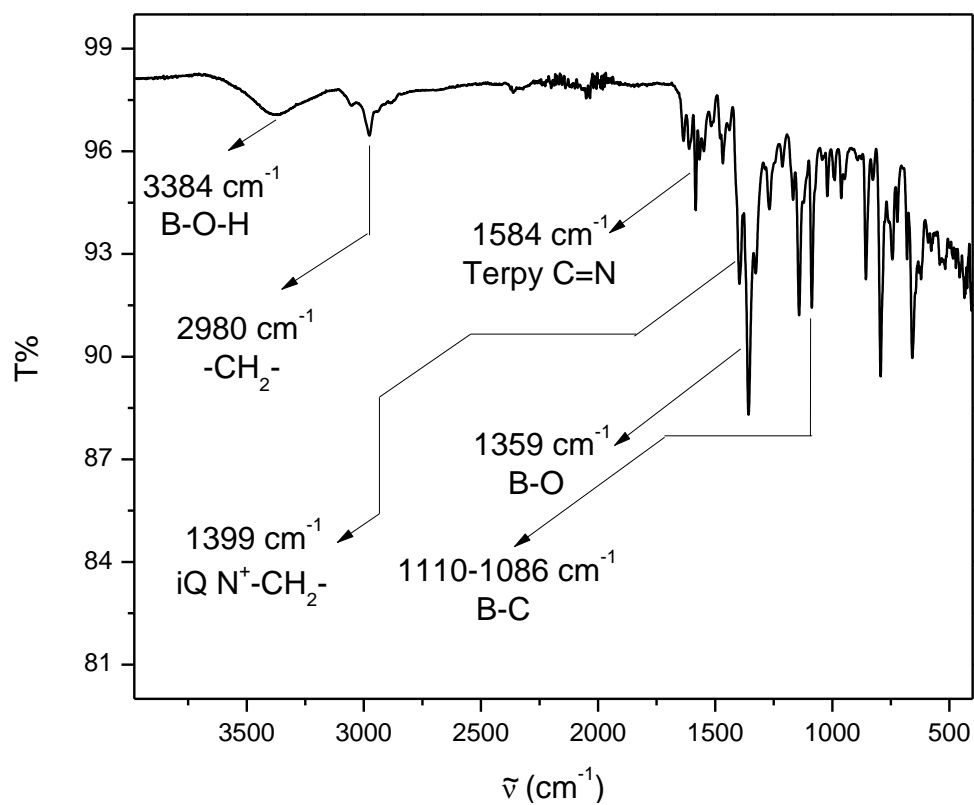
26. IR (ATR) de L2.

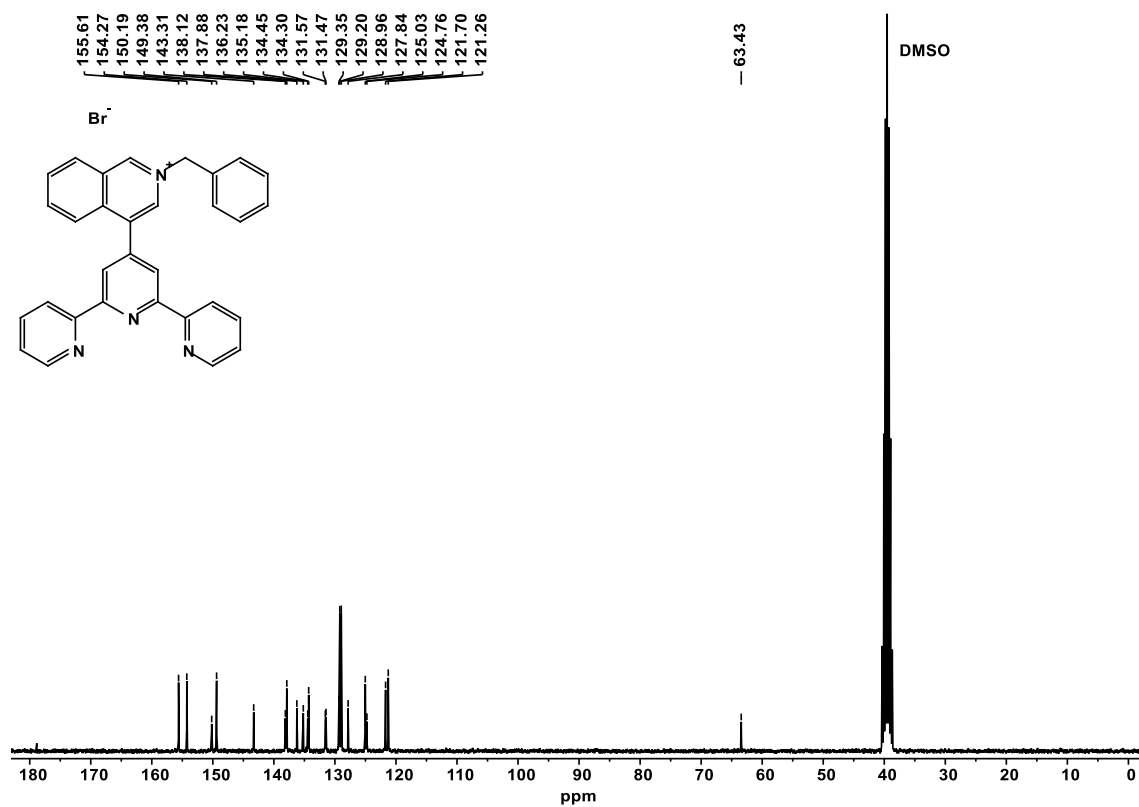
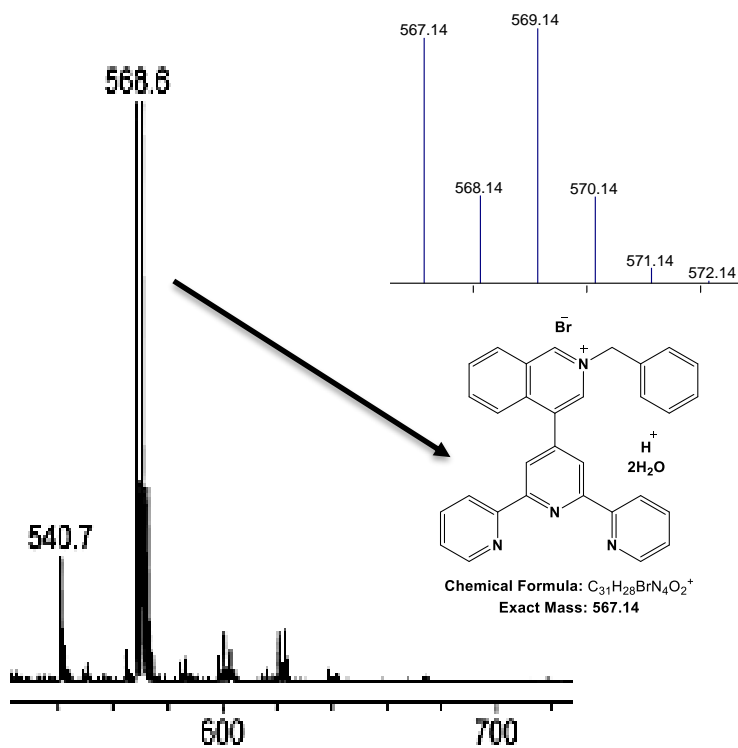
27.  $^1\text{H}$  RMN de L3 en  $\text{DMSO}-d_6$ .

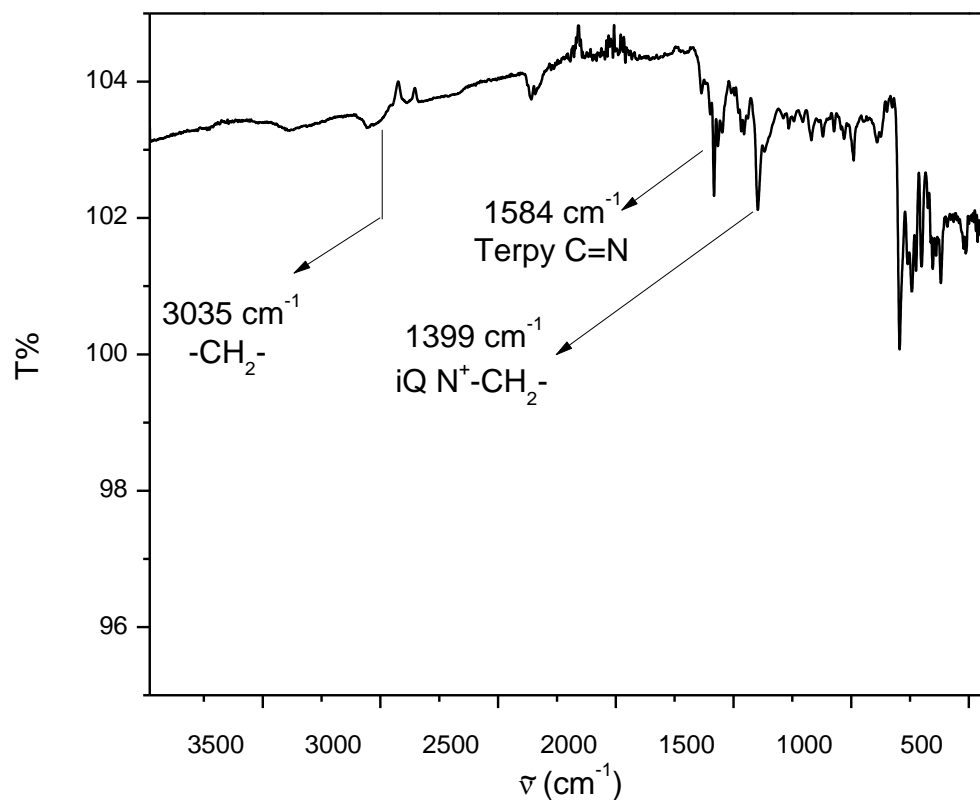
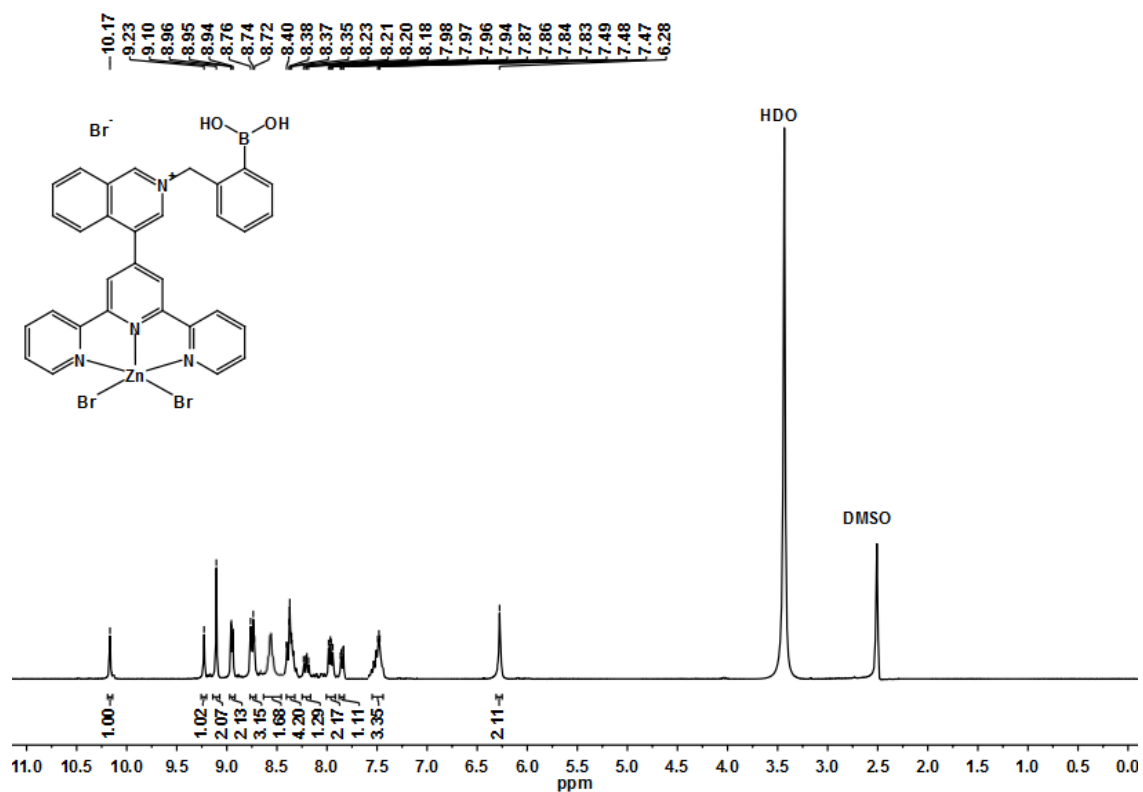
28. <sup>13</sup>C RMN de L3 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.29. <sup>11</sup>B RMN de L3 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.30. EM (ESI<sup>+</sup>) de L3.



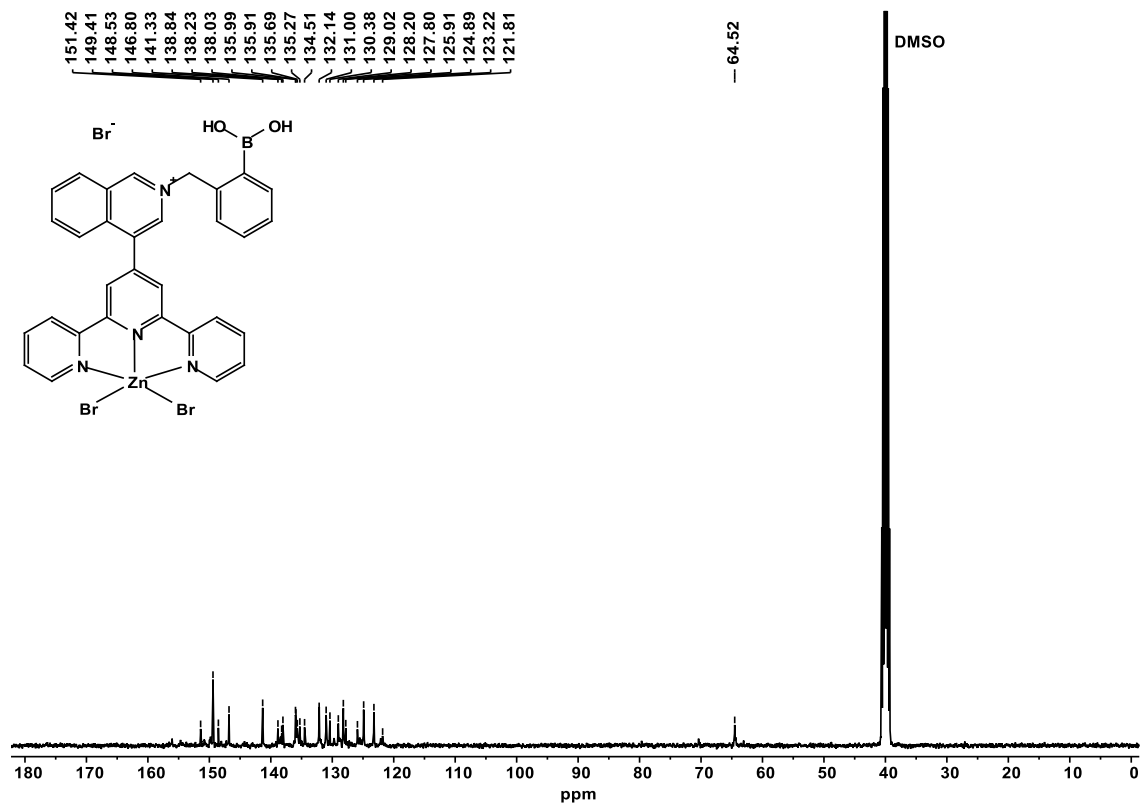
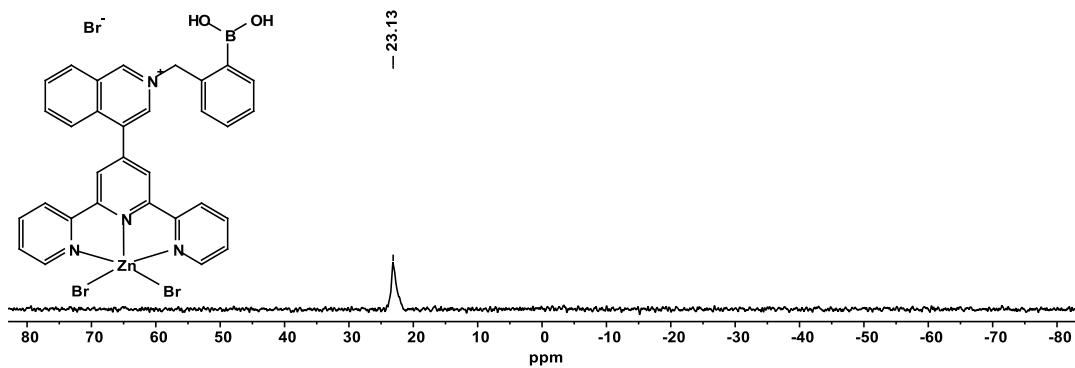
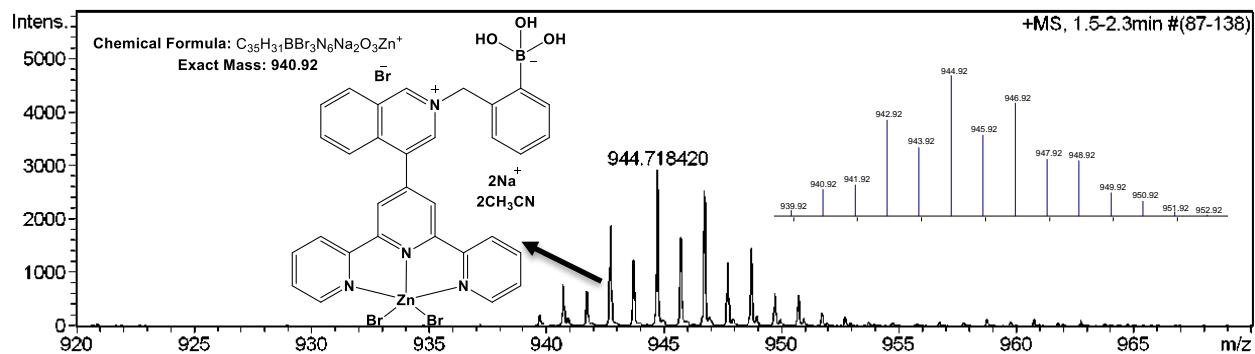
33. <sup>13</sup>C RMN de L4 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.34. <sup>11</sup>B RMN de L4 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.35. EM (ESI<sup>+</sup>) de L4.

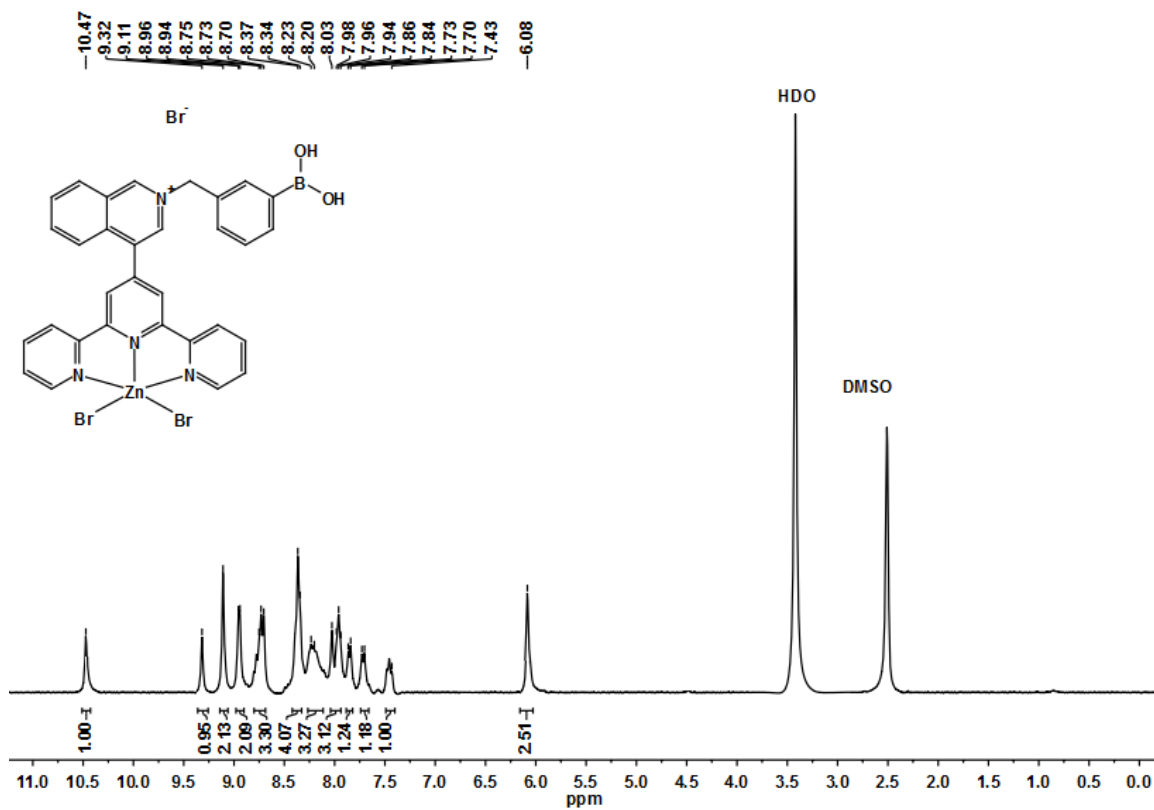
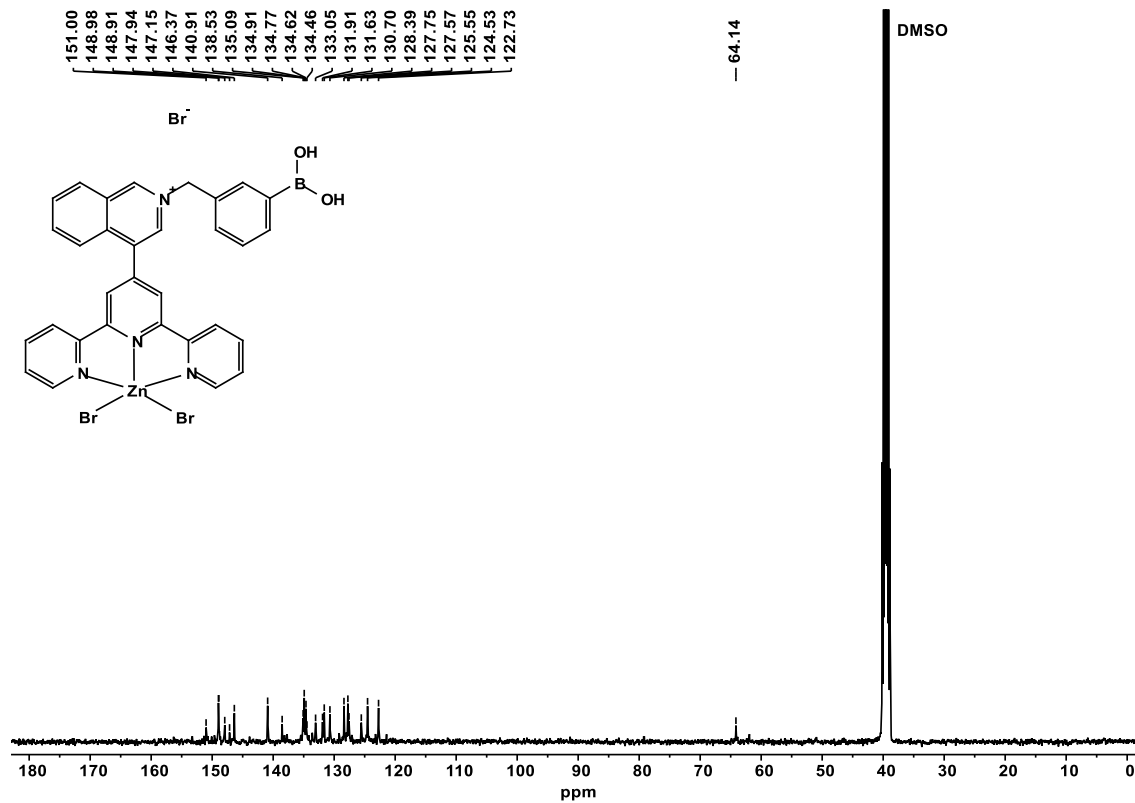


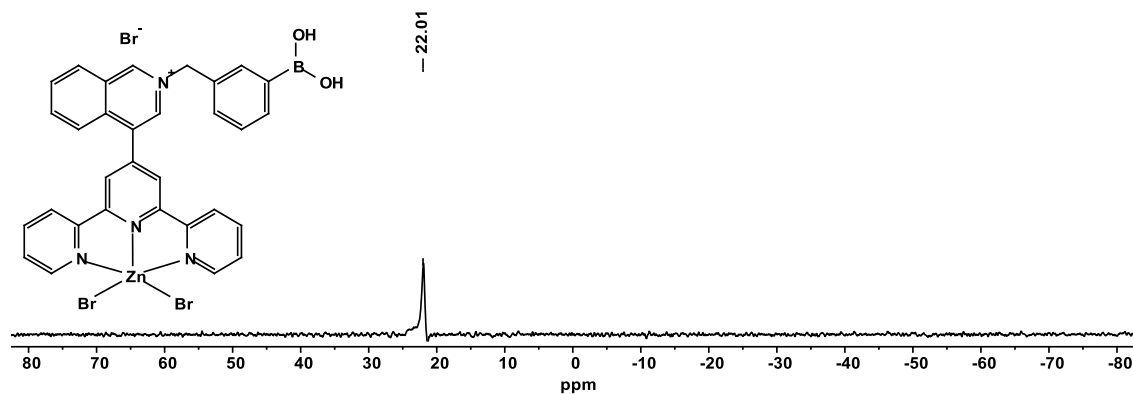
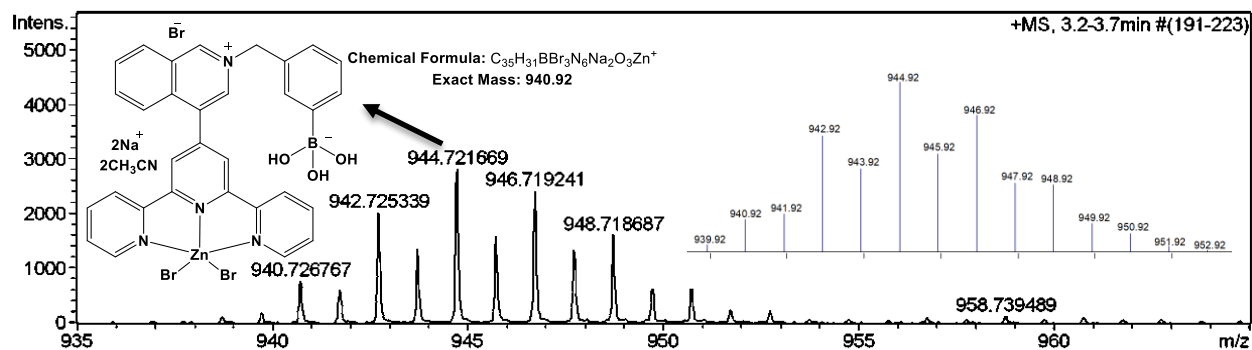
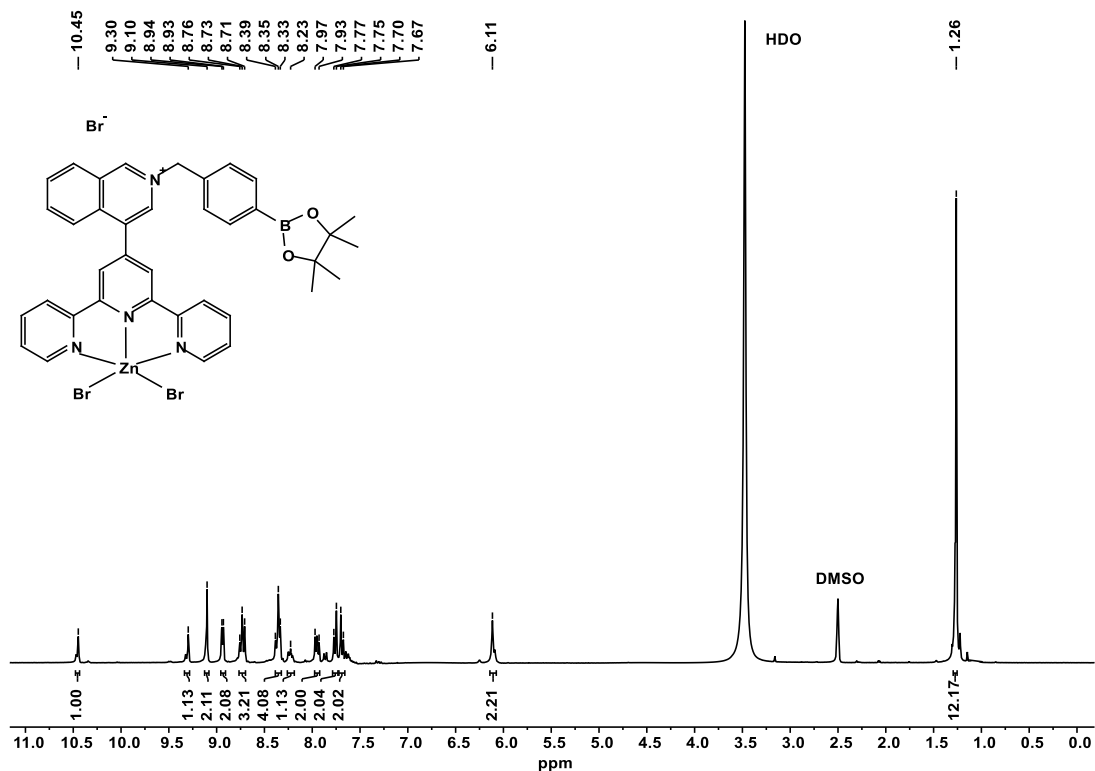
38. <sup>13</sup>C RMN de L5 en DMSO-*d*<sub>6</sub>.39. APCI (ESI<sup>+</sup>) de L5.

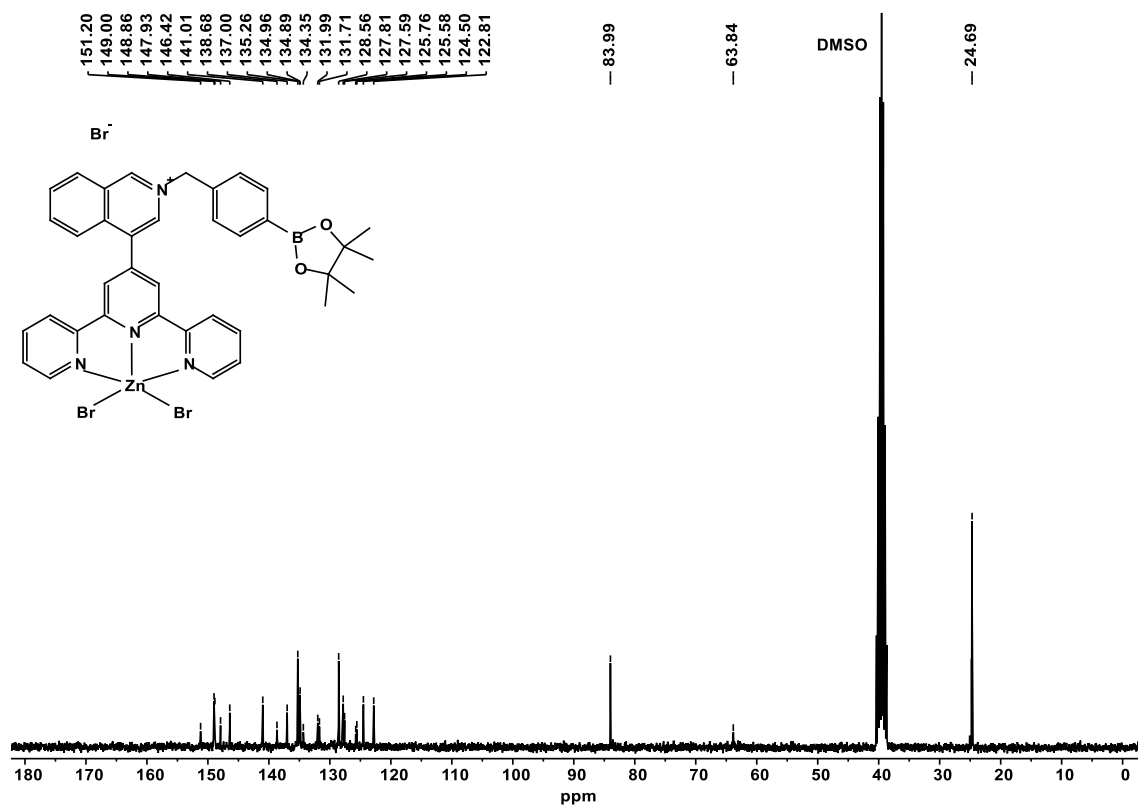
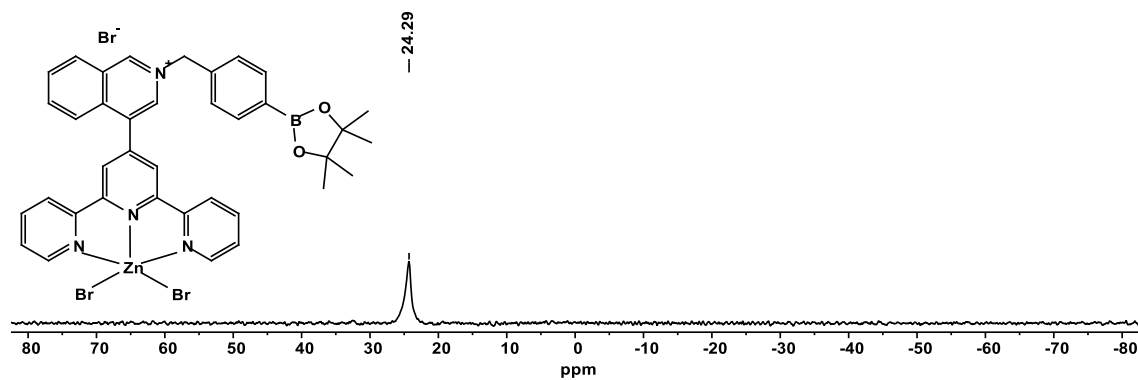
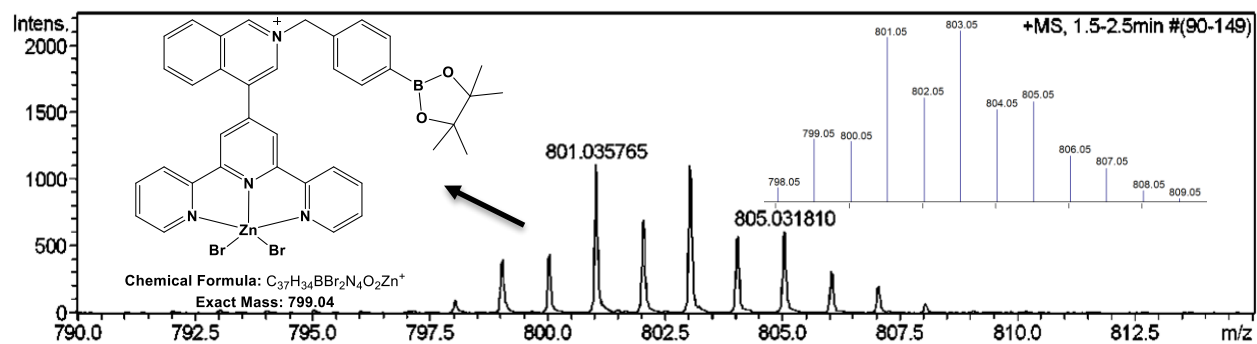
40. IR (ATR) de **L5**.41.  $^1\text{H}$  RMN de **L2.Zn** en  $\text{DMSO}-d_6$ .

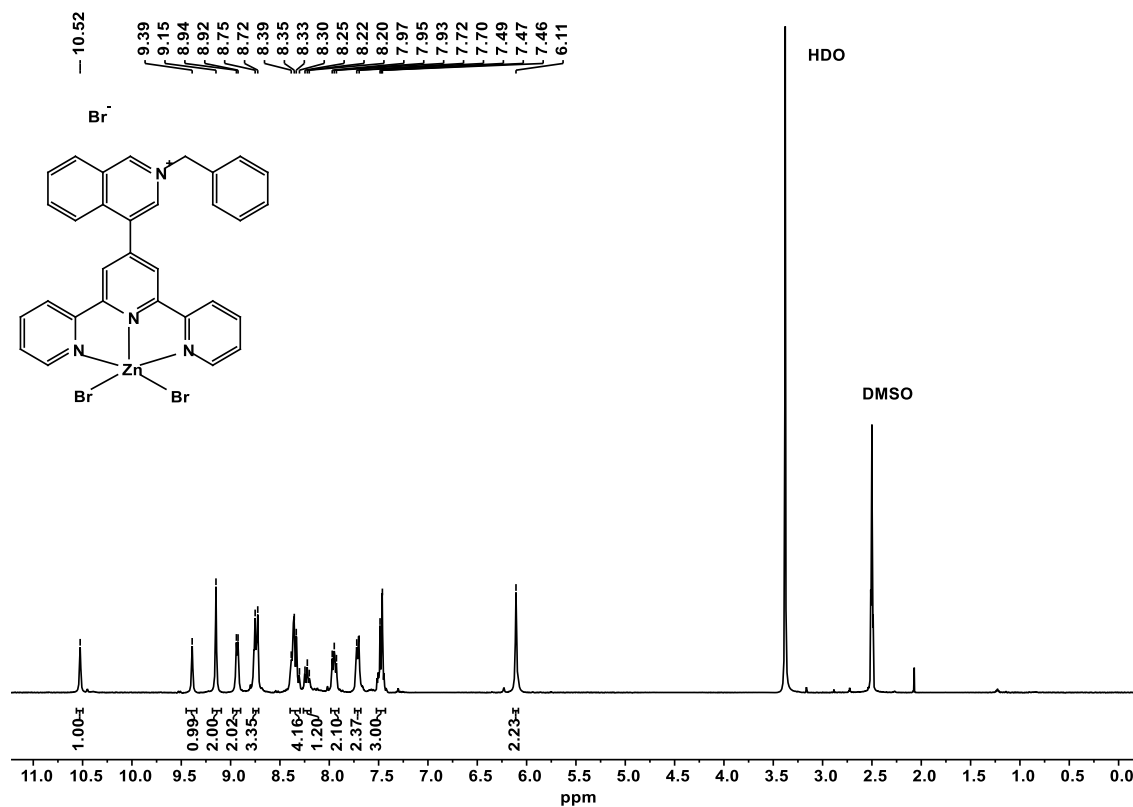
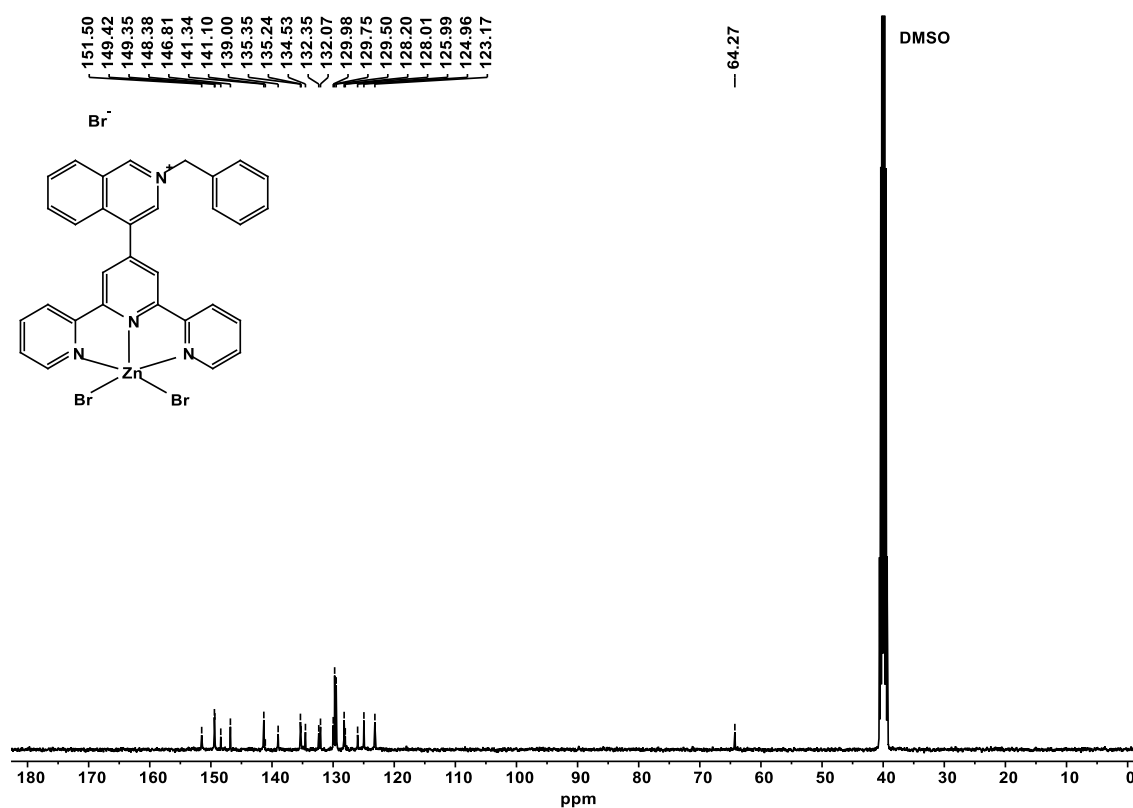


42.  $^{13}\text{C}$  RMN de **L2.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .43.  $^{11}\text{B}$  RMN de **L2.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .44. EM (ESI<sup>+</sup>) de **L2.Zn**.

45. <sup>1</sup>H RMN de L3.Zn en DMSO-*d*<sub>6</sub>.46. <sup>13</sup>C RMN de L3.Zn en DMSO-*d*<sub>6</sub>.

47.  $^{11}\text{B}$  RMN de **L3.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .48. EM (ESI<sup>+</sup>) de **L3.Zn**.49.  $^1\text{H}$  RMN de **L4.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .

50.  $^{13}\text{C}$  RMN de **L4.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .51.  $^{11}\text{B}$  RMN de **L4.Zn** en  $\text{DMSO-}d_6$ .52. EM (ESI<sup>+</sup>) de **L4.Zn**.

53. <sup>1</sup>H RMN de L5.Zn en DMSO-d<sub>6</sub>.54. <sup>13</sup>C RMN de L5.Zn en DMSO-d<sub>6</sub>.

55. Datos cristalográficos para **L4.Zn** Y **L5.Zn**.

Crystal data <sup>[a]</sup>	4.Zn	5.Zn
Formula	C <sub>31</sub> H <sub>23.81</sub> Br <sub>0.81</sub> N <sub>4</sub> O <sub>1.63</sub> Zn	C <sub>33</sub> H <sub>29</sub> Br <sub>5</sub> N <sub>4</sub> OSZn <sub>2</sub>
MM (g mol <sup>-1</sup> )	792.27	1059.95
Temperatura (K)	100(2)	100(2)
Sistema Cristalino	Monoclinic	Monoclinic
Grupo espacial	P2 <sub>1</sub> /c	P2 <sub>1</sub> /n
<i>a</i> (Å)	14.9965(3)	11.8967(3)
<i>b</i> (Å)	13.1054(2)	13.6816(3)
<i>c</i> (Å)	17.7644(3)	22.4595(5)
$\alpha$ (°)	90°	90°
$\beta$ (°)	109.7882(7)°	98.2926(10)°
$\gamma$ (°)	$\gamma = 90^\circ$	90°
V(Å <sup>3</sup> )	3285.17(10)	3617.42(15)
Z	4	4
<i>P</i> <sub>calcd</sub> (g cm <sup>-3</sup> )	1.602	1.946
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	5.566	8.905
R [I>2 $\sigma$ (I)] <sup>[b]</sup>	0.0747	0.0446
R <sub>w</sub> <sup>[d]</sup>	0.2299	0.1175

[a]  $\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1.54178 \text{ \AA}$ ; [b]  $F_o > 4\sigma(F_o)$ . [c]  $R = \sum |F_o| - |F_c| / \sum |F_o|$  [d] todos los datos.

56. Enlaces de hidrógeno para **L4.Zn** [Å y °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(1)...Br(3)	0.84	2.61	3.269(8)	136.7
O(2)-H(2A)...Br(3)	0.84	2.45	3.230(8)	153.9

# Chemosensing of Guanosine Triphosphate Based on a Fluorescent Dinuclear Zn(II)-Dipicolylamine Complex in Water

Iván J. Bazany-Rodríguez, María K. Salomón-Flores, Joanatan M. Bautista-Renedo, Nelly González-Rivas, and Alejandro Dorazco-González\*

Cite This: *Inorg. Chem.* 2020, 59, 7739–7751

Read Online

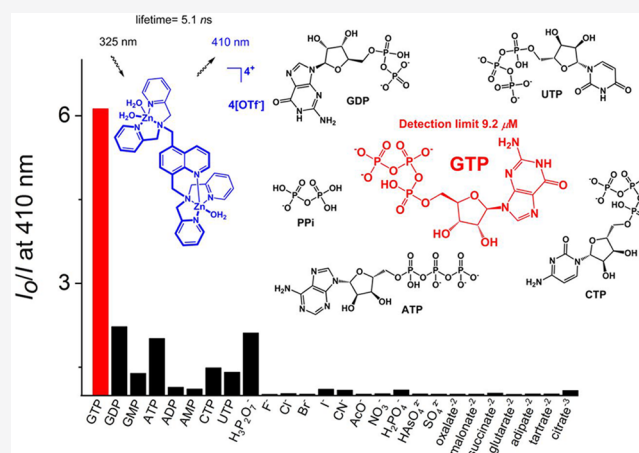
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

**ABSTRACT:** Guanosine triphosphate (GTP) is a key biomarker of multiple cellular processes and human diseases. The new fluorescent dinuclear complex  $[Zn_2(L)(S)][OTf]_4$ , **1** (asymmetric ligand, L = 5,8-Bis{[bis(2-pyridylmethyl)amino] methyl}quinoline, S = solvent, and OTf = triflate anion) was synthesized and studied in-depth as a chemosensor for nucleoside polyphosphates and inorganic anions in pure water. Additions at neutral pH of nucleoside triphosphates, guanosine diphosphate, guanosine monophosphate, and pyrophosphate (PPI) to **1** quench its blue emission ( $\lambda_{em} = 410$  nm) with a pronounced selectivity toward GTP over other anions, including adenosine triphosphate (ATP), uridine triphosphate (UTP), and cytidine triphosphate (CTP). The efficient quenching response by the addition of GTP was observed in the presence of coexisting species in blood plasma and urine with a detection limit of  $9.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ . GTP also shows much tighter binding to the receptor **1** on a submicromolar level. On the basis of multiple spectroscopic tools ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR, UV–vis, and fluorescence) and DFT calculations, the binding mode is proposed through three-point recognition involving the simultaneous coordination of the  $\text{N}^7$  atom of the guanosine motif and two phosphate groups to the two Zn(II) atoms. Spectroscopic studies, MS-ESI, and DFT suggested that GTP bound to **1** in 1:1 and 2:2 models with high overall binding constants of  $\log \beta_1(1:1) = 6.05 \pm 0.01$  and  $\log \beta_2 = 10.91 \pm 0.03$ , respectively. The optical change and selectivity are attributed to the efficient binding of GTP to **1** by the combination of a strong electrostatic contribution and synergic effects of coordination bonds. Such GTP selectivity of an asymmetric metal-based receptor in water is still rare.



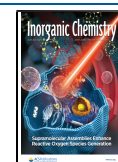
## INTRODUCTION

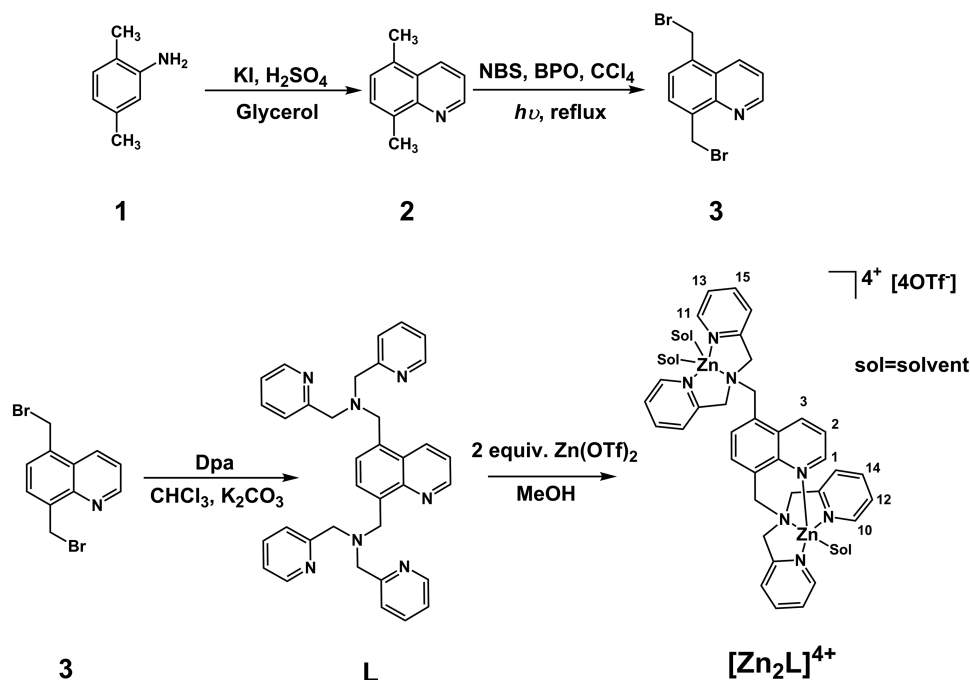
Selective recognition and sensing of nucleoside polyphosphates (NPPs) by artificial chemosensors remains an active and important area in supramolecular chemistry and analytical sciences.<sup>1–7</sup> Guanosine triphosphate (GTP) recognition has been dominated by use of the artificial receptors containing arrays of hydrogen bond donors as association sites<sup>8–14</sup> and recently by optical nanomaterials.<sup>15,16</sup> However, many of these receptors required an organic cosolvent to operate, which seriously limits the intended applications.<sup>8</sup> Furthermore, many of these sensors are not particularly selective, and interference from other NPPs, pyrophosphate (PPI), and flavin adenine dinucleotide (FAD) can be a problem.<sup>6,8,17–20</sup> In principle, it should be possible to overcome these limitations by using an optical molecular sensor with specific and high-affinity binding sites for GTP. However, the creation of a potent, direct, and selective receptor for GTP in 100% aqueous solution is an ongoing challenge. The optical detection of GTP in pure water can be achieved with organic fluorescent dyes,<sup>9,10</sup> fluorophore-labeled peptides,<sup>21</sup> fluorescent proteins,<sup>22</sup> metal nanoclusters,<sup>15</sup>

and luminescent Tb(III) and Zn(II) complexes<sup>16,23</sup> which undergo a complexation-induced quenching or a fluorescence enhancement in the presence of GTP. Typically, the artificial biomimetic receptors or luminescent dyes show apparent binding constants between  $10^3$  and  $10^6 \text{ M}^{-1}$ . Consequently, they are suitable to sense in the micromolar concentration range, but not significantly lower, which is highly desired for sensing GTP in extracellular fluids such as blood plasma ( $0.4\text{--}24 \mu\text{M}$ ).<sup>24,25</sup> GTP regulates a large variety of cellular processes ranging from energy sources for protein synthesis, RNA synthesis, the citric acid cycle, and activation of G-proteins.<sup>26</sup> The concentration of GTP is a chemical indicator of a variety of human diseases, most markedly cancer.<sup>27</sup> While the need for

Received: March 13, 2020

Published: May 11, 2020



Scheme 1. Synthesis of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$ 

efficient and highly selective optical chemosensors for GTP is evident, so far, very few sensory systems have been described compared to adenosine triphosphate (ATP) or PPI. Reports in the context of anion recognition have displayed that a Zn(II) polymeric complex,  $[\text{Zn}(1,4\text{-bis}(\text{imidazol})\text{benzene})]^{2+}$ , is able to bind GTP in water with discrimination over other structurally similar anions including ATP and PPI.<sup>23</sup> It is well-known that symmetric Zn(II)-Dpa complexes (Dpa = (di(2-picoyl)amine)) act as effective binding motifs for phosphate anion derivatives for a flexible coordination number and strong Lewis acidity, which overcome the high hydration energies of these anions.<sup>25</sup> This work is based on the idea that the capture and sensing of GTP is possible with a polycationic transition-metal-based receptor with a high affinity for this nucleotide. In this context, dinuclear Zn(II) complexes containing available coordination sites occupied by a solvent molecule or a noncoordinating anion are potential chemosensors for GTP. The results obtained for a fluorescent asymmetric tetracationic,  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ , complex including synthesis, multiple spectroscopic studies, and theoretical DFT calculations are summarized below.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Design and Synthesis.** Artificial receptors containing Zn(II)-Dpa and Zn(II)-polyamino-phenolic motifs as binding sites and organic fluorophores such as anthracene, acridine, and xanthene are often highly fluorescent, and these have been used as chemosensors mainly for phosphate,<sup>28,29</sup> PPI,<sup>30</sup> ATP,<sup>29,31</sup> and phosphorylated molecule derivatives.<sup>32,33</sup>

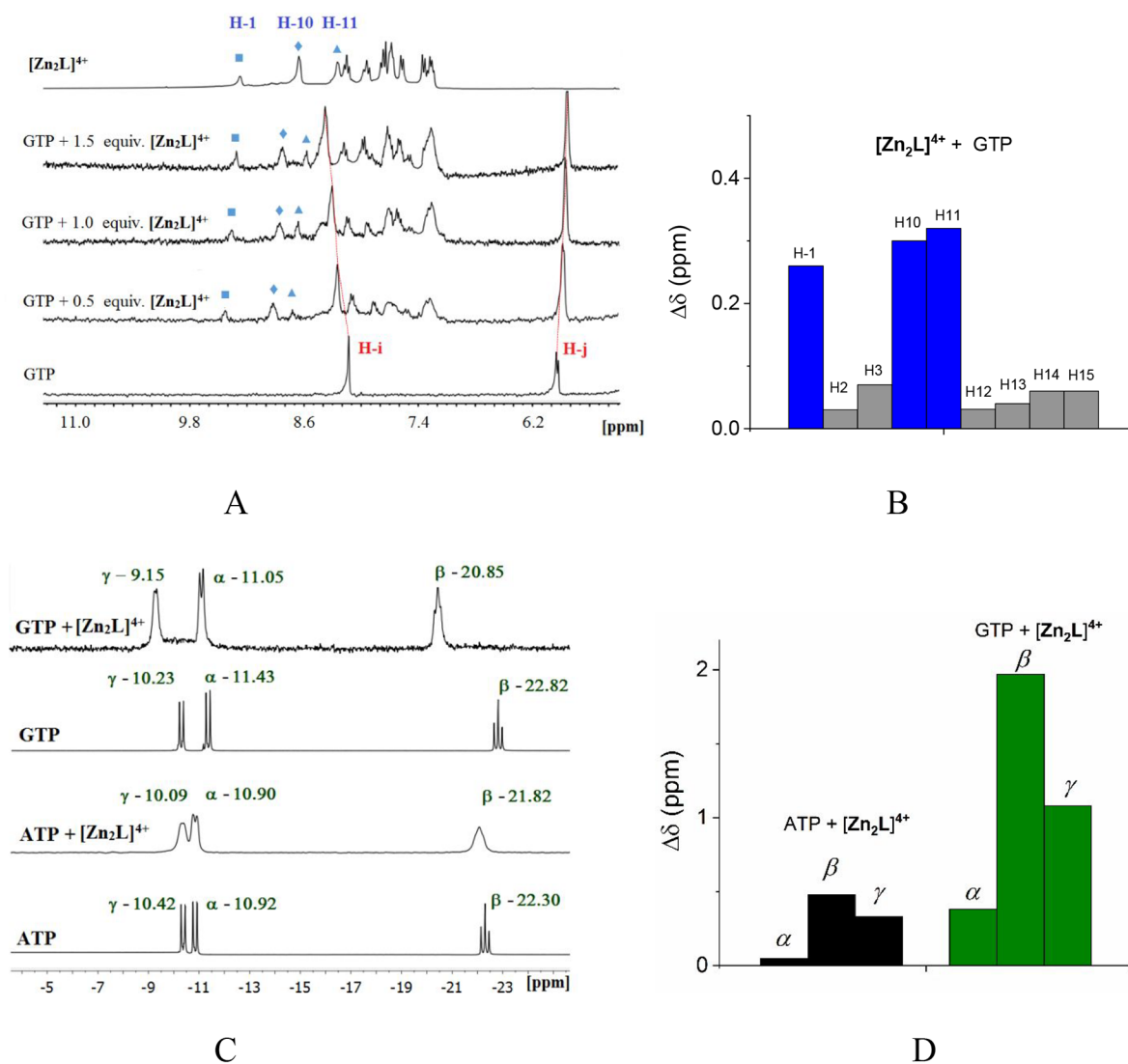
Additionally, they are effective to recognize phosphorylated proteins and as optical disruptors of the protein–protein interactions.<sup>25</sup> However, GTP recognition by metal-based receptors still remains largely unexplored. In this line, the literature features very few examples, such as the aqua complex,  $[\text{Zn}_2\text{L}^2(\text{H}_2\text{O})_x][\text{Cl}^-]_4$  ( $\text{L}^2 = 1,8\text{-bis}[(2,2'\text{-dipicolylamino})\text{-methyl}]-6\text{-hydroxy-3H-xanthen-3-one}$ ),<sup>34</sup> and the dinuclear complex,  $\text{Zn}_2\text{-Dpa}$  bearing a coumarin,<sup>35</sup> which were shown

to bind GTP in water with apparent binding constants of  $K_{\text{app}} \approx 10^6 \text{ M}^{-1}$ . However, these Zn(II) chemosensors are not selective between nucleotides, PPI, and inositol-1,3,4-triphosphate.<sup>34,35</sup> These reports suggest that polycationic  $[\text{Zn}_2\text{L}(\text{sol})][\text{X}^-]_4$  ( $\text{L}$  = fluorescent ligand containing Dpa and  $\text{X}$  = noncoordinating anion) complexes could be used as potent receptor units for GTP sensors. It therefore appears possible to obtain a fluorescent dinuclear Zn(II) complex with interesting structural properties, for instance, asymmetric binding sites with strong Lewis acidity without the need for an additional signaling unit. For these investigations, the tetracationic  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  complex was successfully synthesized following the four-step procedure described in Scheme 1. The use of noncoordinating anions such as triflate can result in a water-soluble polycationic complex,  $[\text{Zn}_2\text{L}(\text{sol})_x]^{4+}[\text{OTf}]_4$  ( $\text{sol}$  = solvent), with strong affinity for anionic species as a result of a strong electrostatic contribution. Complex  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  is structurally closely related to other Zn(II)-Dpa complexes reported by Hamachi et al.,<sup>25</sup> where the main difference is that our ligand **L** has asymmetric coordination sites.

The synthesis of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  was accomplished by coordination of 1,5-bis[(2,2'-dipicolylamine)methyl]-quinoline with  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  in methanol. Complex  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  was isolated in good yield as a white crystalline powder, pure according to  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ , DEPT, and HSQC NMR spectroscopy (Figures S1–S14). Two charged states for the Zn(II) complex at  $m/z = 1127.9$ , monocationic  $\{[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + 3[\text{OTf}^-]\}^+$ , and 489.6, dicationic complex  $\{[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + 2[\text{OTf}^-]\}^{2+}$ , are clearly seen and isotopically resolved by positive scan ionization of ESI. The peaks also match very well the theoretical distribution (Figures S15 and S16). Elemental analysis (C, N, H) was consistent with the methanolic adduct of the triflate salt of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ .

The  $^{19}\text{F}$  NMR spectrum of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  showed only one signal at  $-80$  ppm (Figure S11), which can be assigned to a noncoordinated triflate anion<sup>36</sup> by comparison with the spectrum of  $\text{NaOTf}$ . Unfortunately, we have been unable to



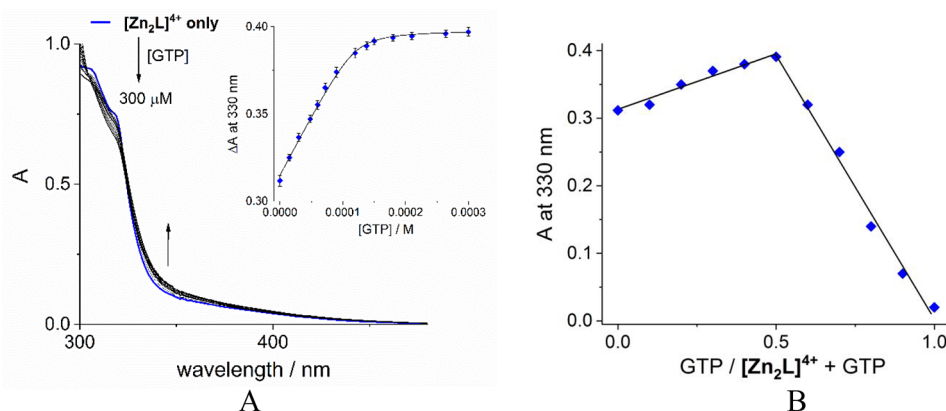
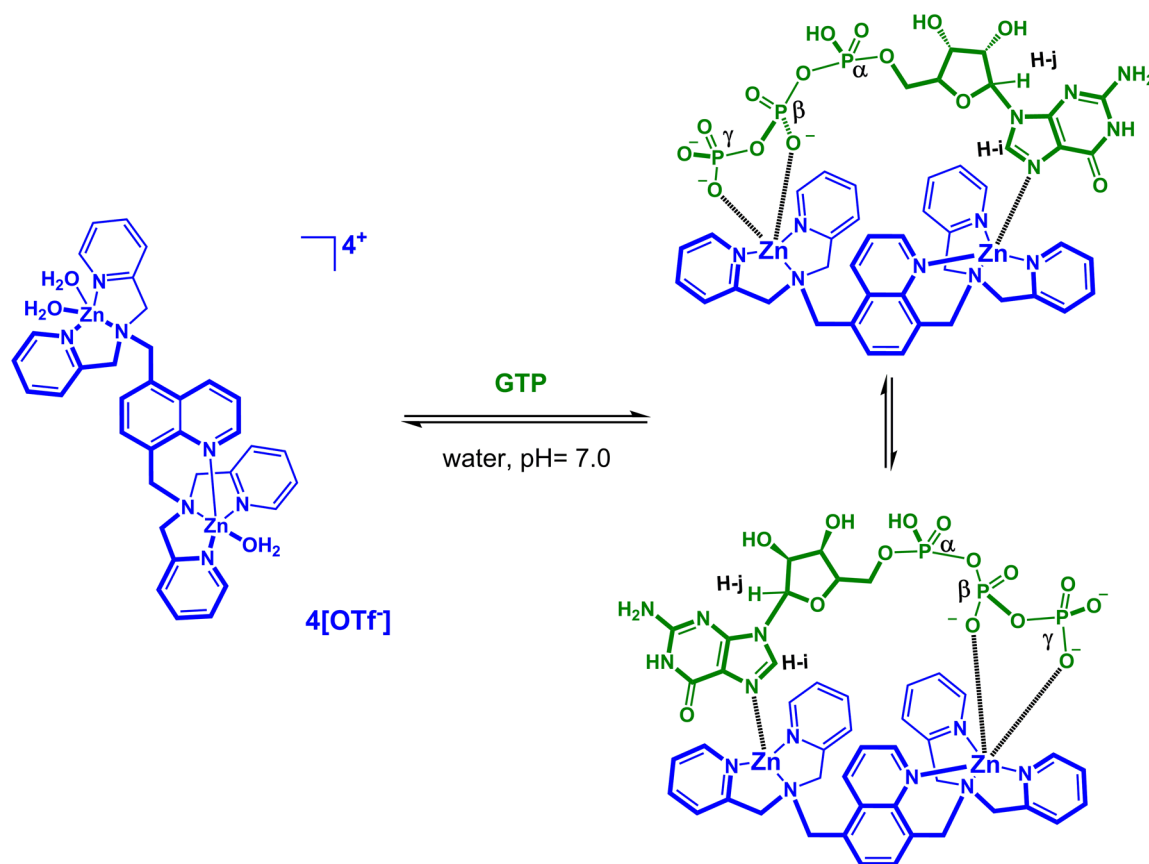


**Figure 1.** (A) Partial  $^1H$  NMR spectra of GTP +  $[Zn_2L]^{4+}$  (0.50, 1.0, and 1.5 equiv) and spectrum of  $[Zn_2L]^{4+}$  alone in  $D_2O$  at pH = 7.0. (B) Shifts in positions of  $^1H$  NMR signals of  $[Zn_2L]^{4+}$  induced by complexation with 1.0 equiv of GTP. (C) Partial  $^{31}P$  NMR spectra of GTP and ATP (4.0 mM) in the presence of 1.0 equiv of  $[Zn_2L]^{4+}$  in  $D_2O$  at pH = 7.0. (D) Shifts in positions of  $^{31}P$  NMR of GTP and ATP induced by binding with  $[Zn_2L]^{4+}$ .

obtain single crystals of  $[Zn_2L][OTf]_4$ , possibly due to the electrostatic repulsion between the highly charged monomeric units, which cannot be stabilized with anions with very poor basicity, such as triflate, and a high degree of ligand flexibility.

**Anion Binding and Sensing Studies.** The first evidence for the high affinity of a tetracationic  $[Zn_2L]^{4+}$  complex for GTP was obtained by  $^1H$  and  $^{31}P$  NMR spectroscopic measurements (Figure 1). Aqueous solutions of  $[Zn_2L]^{4+}$  in  $D_2O$  in the millimolar concentration range were stable over a prolonged period of time. Figure 1 illustrates a titration experiment of GTP by  $[Zn_2L]^{4+}$  monitored by  $^1H$  and  $^{31}P$  NMR spectroscopic measurements in  $D_2O$  at pH = 7.0 (40 mM, MOPS). The addition of  $[Zn_2L]^{4+}$  (0–1.5 equiv) to a solution of GTP induces a notable downfield shift ( $\Delta\delta = 0.29$  ppm at saturation) of the H-i proton (red label) corresponding to the five membered ring in the purine moiety (see Schemes 1 and 2 for the numbering of the structure). This downfield shift can be attributed to effective coordination of the guanine motif to a Zn(II) atom. The metal binding to the heterocyclic part of the nucleobase is not unexpected because the  $N^7$  atom of

purines is undoubtedly the strongest bonding donor atom of the nucleobases and nucleic acids due to its high basicity and a favorable electrostatic potential at this nitrogen atom.<sup>37</sup> Reports in the context of bioinorganic chemistry have shown that the large dipole moment of guanine and the orientation of the  $N^7$  atom can stabilize any positively charged metal entity generating a notable downfield shift of the guanine proton.<sup>12,38,39</sup> An upfield shift of the H-j proton of the ribose moiety is also observed ( $\Delta\delta = 0.15$  ppm, red label), which can be attributed to potential  $CH\cdots\pi$  interactions with the aromatic rings of the complex  $[Zn_2L]^{4+}$ .<sup>12</sup> On the other hand, the complexation-induced shifts of the signals of protons of the receptor  $[Zn_2L]^{4+}$  upon addition of 1.0 equiv of sodium salt of guanine are shown in Figure 1B. All aromatic protons of the moieties  $[Zn(Dpa)]^{2+}$ , specifically H10 and H11 of the pyridine rings (blue labels) and H1 of the quinoline ring, showed a notable broadening and downfield shifts ( $\Delta\delta = 0.4$ – $0.3$  ppm) which support the formation of the Zn– $N^7$  bond with a fluxional behavior;<sup>40</sup> this fact indicates that the two Zn(II) atoms participate as binding sites. All protons were

Scheme 2. Proposed Complexes of GTP with  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  in Dynamic Equilibrium

**Figure 2.** (A) Spectrophotometric titration of neutral aqueous solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  ( $100 \mu\text{M}$ ) by GTP at  $\text{pH} = 7.0$ . The arrows show the direction of the spectral changes. The inset shows the profile of absorbance at  $330 \text{ nm}$  for increasing amounts of GTP (average of triplicate experiments). The line was obtained by fitting the data to a 1:1 binding model using eq 1. (B) Stoichiometric analysis of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  by Job plot with GTP at  $330 \text{ nm}$ .

assigned by HSQC NMR spectroscopic experiments (Figures S5 and S12).

The phosphate binding modes of sodium salts of GTP and ATP with  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  were also investigated by  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopic measurements (Figure 1C). The free GTP have signals at  $-10.23$  ( $\gamma\text{-P}$ ),  $-11.43$  ( $\alpha\text{-P}$ ), and  $-22.82$  ( $\beta\text{-P}$ ). The addition of 1.0 equiv of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  to a solution of GTP showed a considerable broadening of  $\beta\text{-P}$  and  $\gamma\text{-P}$  signals with evident downfield shifts (Figure 1D), suggesting a dynamic process exists at room temperature, which can be assigned to dynamic equilibrium between the two isomeric supramolecular

complexes proposed in Scheme 2. Thus,  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopic results strongly suggest the simultaneous coordination of the two  $\beta/\gamma$ -phosphates and the  $\text{N}^7$  atom of the guanosine fragment to the  $\text{Zn}(\text{II})$  atoms.  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$  NMR signals of GTP are shifted and broadened, which can be attributed to the potential formation of the two isomeric supramolecular complexes represented as two rotamers in dynamic equilibrium in Scheme 2. There are several examples of bimetallic-based receptors for  $\text{PPi}^{18,29,30,41,42}$  and  $\text{ATP}^{31-34,43}$  operating through two binding points. A bent conformation of triphosphate nucleotides with  $\beta$ - and  $\gamma$ -

phosphates positioned near the nucleobase for these binding modes have been found in some crystals of ATP/GTP–protein complexes.<sup>44,45</sup> Also, similar NMR spectroscopic features, specifically the downfield shift of <sup>31</sup>P-signals (~2.0 ppm), have been observed with organic polycations<sup>46</sup> and Zn-based artificial receptors, and they are assigned to the formation of strong hydrogen bonding interactions or Zn-phosphate bonds, respectively.<sup>28</sup> In the case of ATP, all phosphate groups showed smaller downfield shifts ( $\Delta\delta \leq 0.5$  ppm) compared to that observed for GTP, indicating a weaker association to  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ .

Figure 2A illustrates the family of UV–vis spectra obtained when a neutral aqueous solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  (100  $\mu\text{M}$ ) is titrated with GTP (0–3.0 equiv). The inset in Figure 2 shows the increase of absorbance at 330 nm ( $\Delta A = 0.08$ ) on progressive addition of GTP. The profile curve of the absorbance at 330 nm remained unchanged when the  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}/\text{GTP}$  ratio reached 1 equiv, suggesting 1:1 stoichiometry. The titration profile could be well fitted to a 1:1 binding model using a nonlinear least-squares treatment with eq 1 to give an apparent binding constant of  $\log K_{(1:1)} = 5.54 \pm 0.02$ , where  $A_{\text{obs}}$  is the observed absorbance,  $A_{\text{H}}$  is the absorbance of the free receptor,  $\Delta A_{\infty}$  is the maximum absorbance change induced by the presence of a given GTP at saturation,  $[G]_{\text{T}}$  is the total concentration of the guest, and  $K_{(1:1)}$  is the binding constant.

$$A_{\text{obs}} = A_{\text{H}} + \left[ \Delta A_{\infty} \left\{ \frac{[H]_{\text{T}} + [G]_{\text{T}} + \frac{1}{K_{(1:1)}}}{\left( [H]_{\text{T}} + [G]_{\text{T}} + \frac{1}{K_{(1:1)}} \right)^2 - 4[H]_{\text{T}}[G]_{\text{T}} \right\} \right]^{1/2} \quad (1)$$

Only one isosbestic point at 325 nm was observed, and a Job plot confirmed this stoichiometry (Figure 2B). The mass spectrum of  $[\text{Zn}_2\text{L}](\text{OTf})_4$  in the presence of 1.0 equiv of GTP disodium salt by positive electrospray ionization showed practically one species at 652.06  $m/z$  (Figure 3), which was isotopically resolved, and it can be ascribed to the dicationic supramolecular complex 1:1,  $\{[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + \text{GTP}^{-4} + 2\text{Na}^+ + 3\text{H}_2\text{O}\}^{2+}$  (652.05  $m/z$ ).

The experimental peaks, separated by 0.5, match well the theoretical isotopic distribution for a 1:1 complex as is shown in Figure 3. These experiments unambiguously confirm the coordination of GTP with  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  in neutral water.

To obtain a more sensitive optical response, we explored anion sensing by fluorescence spectroscopy. It is known that, when phosphate derivatives are bound to a Zn(II)-based receptors, the photophysical properties of receptors such as fluorescence intensity and emission wavelength are modified through a different mechanism and such a change provides a signal indicating anion binding.

Indeed, several signaling mechanisms such as photoinduced electron transfer (PET),<sup>41,46,47</sup> fluorescence resonance energy transfer (FRET),<sup>22</sup> metal-to-ligand charge transfer (MLCT),<sup>12</sup> chelation-enhanced fluorescence (CHEF),<sup>25</sup> binding-induced fluorescence recovery,<sup>34</sup> and intermolecular charge transfer (ICT)<sup>48</sup> have been developed for Zn-based chemosensors.

Buffered aqueous solutions (40.0 mM MOPS, pH = 7.0) of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  followed very well the Lambert–Beer law up to 25.0  $\mu\text{M}$  (Figure S19); thus these conditions and a concentration within this range were used for further studies. Addition of GTP to a solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) induces a strong

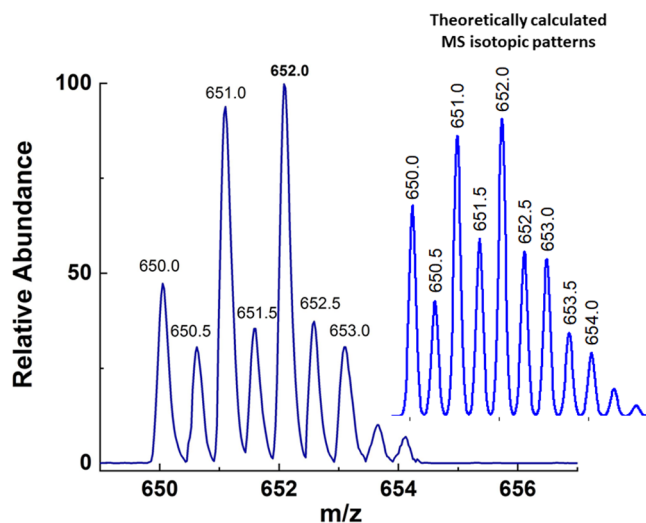
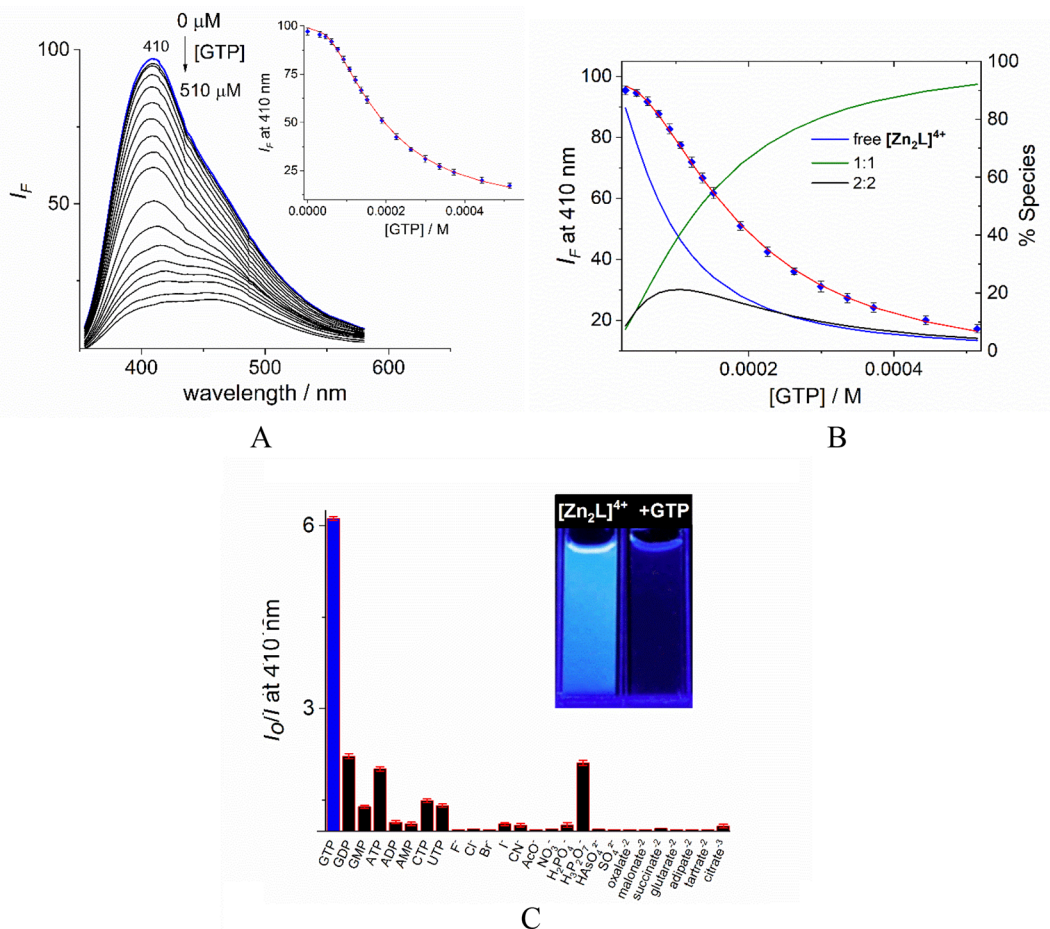


Figure 3. Positive scan ESI mass spectrum of an aqueous solution containing  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  + 1.0 equiv of GTP. Inset: calculated isotopic distribution for dicationic 1:1 complex.

quenching with a red-shift of the emission band at  $\lambda_{\text{em}} = 410$  nm, as is shown in Figure 4A. Unexpectedly, the fluorimetric titration profile showed a clear sigmoidal curve, which can be perfectly fitted to a combination of assembled complexes with 1:1 and 2:2 models (1:1 model:  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + \text{GTP} \rightleftharpoons [\text{Zn}_2\text{L}] \cdot \text{GTP}$ ,  $\log \beta_1$ ; and 2:2 model:  $2[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + 2\text{GTP} \rightleftharpoons [\text{Zn}_2\text{L}]_2^{4+} \cdot 2\text{GTP}$ ) as is shown in Figure 4B.

The estimated overall binding constants ( $\log \beta_n$ , where  $\beta_1 = K_{(1:1)}$  corresponding to stepwise formation constant for the model 1:1 and  $\beta_2 = K_{(2:2)}\beta_1$  corresponding to an overall formation constant for 1:1 and 2:2 models) are interestingly high,  $\log \beta_1 = 6.05 \pm 0.01$  and  $\log \beta_2 = 10.91 \pm 0.03$ , probably due to synergistic effects between the Zn– $\beta$ -phosphate bond, Zn–N<sup>7</sup>(guanine) bond, and C–H<sub>ribose</sub>... $\pi$  (complex) interactions as observed in the NMR spectroscopic experiments. The binding constant for the 1:1 model ( $\log K_{(1:1)} = 6.05 \pm 0.01$ ) calculated from fluorescence data is slightly greater compared to that estimated by UV–vis ( $\log K_{(1:1)} = 5.54 \pm 0.02$ ) probably due to the exciplex formation.<sup>46,47</sup> Similar synergic effects and cooperativity between coordination bonds and  $\pi$ -stacking interactions has been observed for several Zn(II) complexes with nucleosides, triphosphates, and PPI.<sup>11,19,23,39,49</sup> The overall binding constants were calculated by the HypSpec – Hyperquad program,<sup>50</sup> and they are tabulated in Table 1. As noted in previous works, tripodal tetra-amine-based dinuclear Zn(II) complex is able to bind PPI forming stable 1:1 and 2:2 macrocycles with high affinity.<sup>40</sup> From the speciation diagrams (Figure 4B) it is noted that the 2:2 complex is formed in a maximum abundance of 22% at 92  $\mu\text{M}$  of GTP. Interestingly, this 2:2 complex was detected by positive scan MS-ESI at a low concentration of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  (~5  $\mu\text{M}$ ) with 1.0 equiv of sodium salt of GTP in a mixture of H<sub>2</sub>O–CH<sub>3</sub>OH, 8:2 v/v (see Figure S18). The peaks at 1289.0  $m/z$ , separated by 0.5, were isotopically resolved and match well the theoretical isotopic distribution for the dicationic supramolecular complex  $\{2[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + 2\text{GTP}^{-3} + \text{Na}^+ + \text{OTf}^- \}^{+2}$ . At a higher concentration of GTP (>300  $\mu\text{M}$ ), the 1:1 complex is formed in 92% abundance, which is more stable than the 2:2 complex. The presence of the two coexisting supramolecular complexes (1:1 and 2:2) observed from fluorescence data is supported by ESI measurements. The





**Figure 4.** (A) Changes of emission spectra ( $\lambda_{\text{ex}} = 325 \text{ nm}$ ) of buffered aqueous solutions at pH 7.0 of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ) upon the addition of increasing amounts of GTP (0–0.51 mM). Inset: Curve-fitting analysis of the fluorescence emission change at 410 nm (average of triplicate experiments). The solid line was obtained by fitting the experimental data ( $\blacklozenge$ ) to 1:1 and 2:2 models. (B) Concentration profiles of the species present at equilibrium where % is referred to as the total concentration of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ . (C) The fluorescence quenching at 410 nm of aqueous solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  upon additions of different anions as sodium salts (0.50 mM).

**Table 1. Overall Binding Constants ( $\log \beta_n$ )<sup>a</sup> and Intrinsic Median Binding Concentration ( $\text{BC}_{50}^\circ$ ,  $\mu\text{M}$ )<sup>b</sup> for  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  with GTP, ATP, and GDP**

	$\log \beta_1^c$ (stoichiometry)	$\log \beta_2^d$	$\text{BC}_{50}^\circ$ ( $\mu\text{M}$ )	$I_0/I^e$	pH
GTP	$6.05 \pm 0.01$ (1:1)	$10.91 \pm 0.03$	$0.9 \pm 0.2$	6.12	7.0
	$5.26 \pm 0.01$ (1:1)	$9.66 \pm 0.02$	NC <sup>b</sup>	2.25	6.0
	$5.14 \pm 0.01$ (1:1)	$9.87 \pm 0.02$	NC <sup>b</sup>	1.82	8.0
GDP	$5.01 \pm 0.04$ (1:1)	$9.42 \pm 0.03$	$9.8 \pm 0.8$	2.22	7.0
ATP	$4.58 \pm 0.02$ (1:1)	$8.50 \pm 0.02$	$26.0 \pm 1.0$	1.98	7.0

<sup>a</sup>Overall formation constants ( $\log \beta_n$ ) directly obtained by the chemical equilibria 1:1 and 2:2 from sigmoidal fluorimetric profiles at 410 nm using HypSpec – Hyperquad<sup>50</sup> program [www.hyperquad.co.uk/HypSpec.htm](http://www.hyperquad.co.uk/HypSpec.htm). <sup>b</sup>Calculated from the  $\log \beta_1$  values at pH = 7.0 using the “BC<sub>50</sub> Calculator” free program.<sup>81,82</sup> NC = not calculated. <sup>c</sup> $\beta_1$  is a stepwise formation constant for the model 1:1;  $[\text{Zn}_2\text{L}] \cdot \text{GTP} = \beta_1 [\text{Zn}_2\text{L}] [\text{GTP}]$ .  $\beta_1 = K_{1,1}$ . <sup>d</sup> $\beta_2$  is an overall formation constant for 1:1 and 2:2 models.  $\beta_2 = K_{2,2} \beta_1$  where  $K_{2,2}$  is a stepwise constant for the 2:2 model,  $[\text{Zn}_2\text{L}]_2 \cdot 2\text{GTP} = K_{2,2} [\text{Zn}_2\text{L}]^2 [\text{GTP}]^2$ . <sup>e</sup> $I_0/I$  indicates the relative quenching parameter of the fluorescence intensity at 410 nm of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  in the presence of 0.5 mM of the corresponding nucleoside polyphosphate.

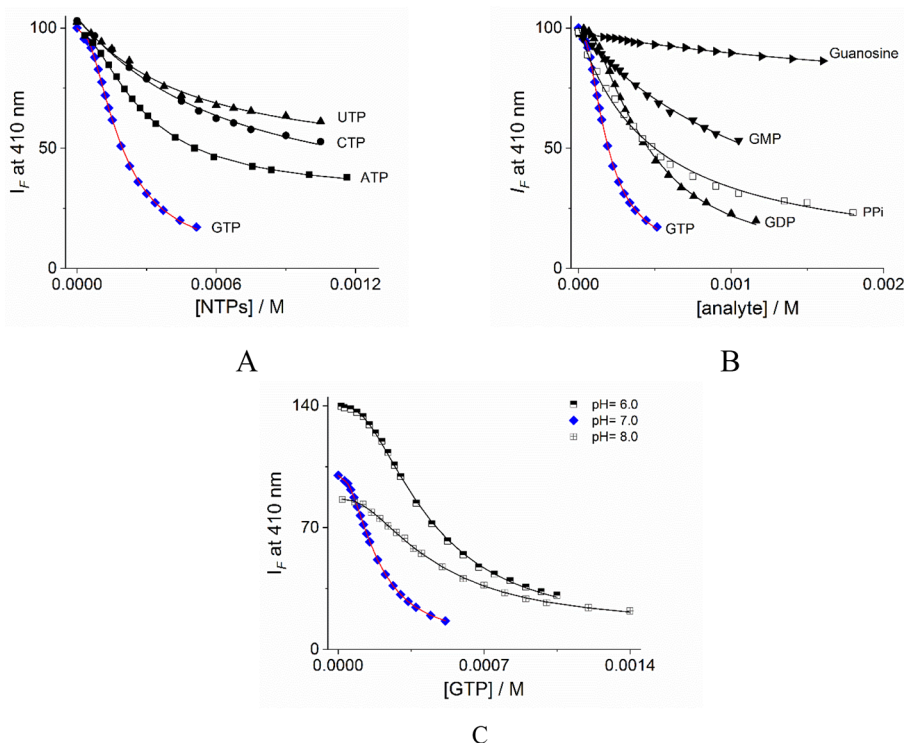
formation of the 2:2 complex at high concentration is practically null; for this reason, this species is not observed in the spectrophotometric titration experiment.

Next, the anion selectivity of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  was analyzed. Sodium salts of an extensive series of anions—GTP, GDP, GMP, ATP, ADP, CTP, UTP, halides,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{AcO}^-$ ,  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , oxalate, malonate, succinate, glutarate, adipate, tartrate, and citrate ( $[\text{X}]_{\text{final}} = 300 \mu\text{M}$ )—were added to a buffered aqueous solution of complex  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  (15  $\mu\text{M}$ ), and the emission intensity decrease at 410 nm was recorded (Figure 4C).

All halides,  $\text{CN}^-$ , oxoanions, di/tricarboxylates, GMP, UTP, and CTP gave very low responses.

The addition of ATP, GDP and PPI resulted in a modest decrease in emission intensities, but they were still significantly lower than that observed for GTP. The interference of the polyphosphate nucleosides for GTP sensing/recognition is common, especially ATP and GDP. In this sense, it is remarkable that the sensor  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  is selective for GTP over ATP because ATP has a lower hydration energy and because ATP has been shown to form more stable complexes with symmetric Zn(II)-based receptors.<sup>7,17,39,51–54</sup>

It is clear that complex  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  recognized GTP with excellent sensitivity and selectivity over other NPPs and PPI. The binding constants with ATP, GDP, UTP, CTP, PPI, and



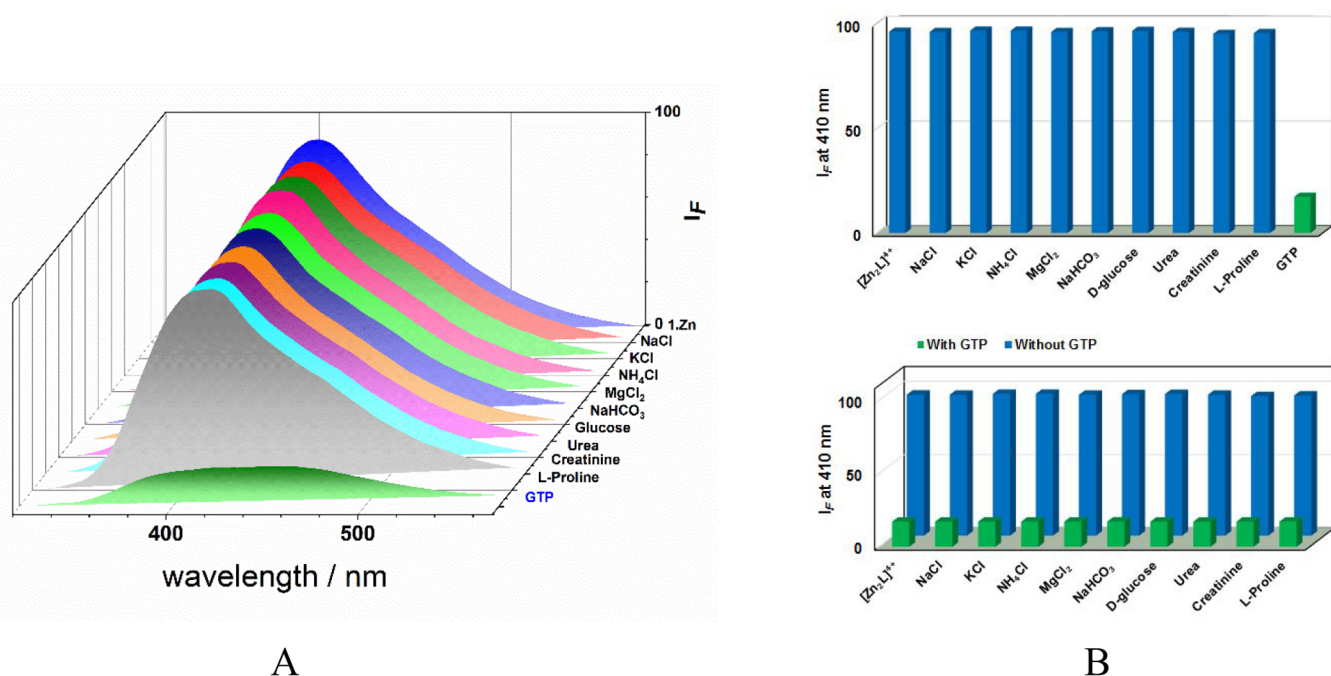
**Figure 5.** (A) Fluorimetric titration of aqueous solutions of  $[Zn_2L]^{4+}$  (15  $\mu M$ ,  $\lambda_{ex} = 325$  nm) with a series of nucleoside triphosphates at pH 7.0 (40.0 mM, MOPS) and (B) with GDP, GMP, PPI, and guanosine. In all experiments, the ionic strength was adjusted to 0.05 M of NaCl. The solid lines were obtained by fitting to corresponding equations. (C) Emission profiles of quenching effects upon addition of GTP at different pH values for buffered aqueous solutions of  $[Zn_2L]^{4+}$ .

guanosine were calculated under the same conditions as Figure 4A. For ATP and GDP, the fluorimetric profiles at 410 nm also showed sigmoidal curves (Figure 5A, see Figures S21–S24 for fluorescence titration experiments and speciation diagrams). The resulting values of overall formation constants,  $\log \beta_{1(1:1)} = 4.58 \pm 0.02$  and  $\log \beta_2 = 8.50 \pm 0.02$  for ATP and  $\log \beta_{1(1:1)} = 5.01 \pm 0.04$  and  $\log \beta_2 = 9.42 \pm 0.03$  for GDP, are 2 orders of magnitude lower than those estimated for GTP (Table 1). In contrast, CTP, UTP, GMP, PPI, and guanosine showed a common profile that can be fitted to a 1:1 binding model with values of  $\log K_{(1:1)}(\text{CTP}) = 3.25 \pm 0.02$ ,  $\log K_{(1:1)}(\text{UTP}) = 3.42 \pm 0.05$ ,  $\log K_{(1:1)}(\text{GMP}) = 2.82 \pm 0.05$ ,  $\log K_{(1:1)}(\text{PPI}) = 3.32 \pm 0.04$ , and  $\log K_{(1:1)}(\text{Guanosine}) = 2.07 \pm 0.08$  (Table S1). The fluorimetric profiles at 410 nm for these analytes are shown in Figure 5A,B. In general, these quantitative observations denote that the presence of  $\beta$  and  $\gamma$ -P centers in GTP and GDP increases affinity toward  $[Zn_2L]^{4+}$  by comparison with GMP and guanosine. At a low concentration, the presence of  $\beta$  and  $\gamma$ -P centers favors the formation of a 2:2 ensemble by comparison with the fluorescence profiles with GMP and guanosine, which lack these metal binding sites.

On the other hand, the direct comparison of stability constants with complexes of different stoichiometries can be a misleading interpretation. For a reliable comparison, the  $BC_{50}^0$  parameter proposed recently by Roelens can be used.<sup>81,82</sup> The intrinsic median binding concentration ( $BC_{50}^0$ ,  $\mu M$ ) parameter is a generalized affinity descriptor univocally defining the binding ability of a receptor in chemical systems involving multiple complex species. The lower the value of this parameter, the greater the affinity. Conceptually, for 1:1 binding equilibria,  $BC_{50}^0$  coincides with the dissociation constant,  $K_d$ .<sup>80</sup>  $BC_{50}^0$  values, calculated from the measured

binding constants at pH = 7.0, are also compiled in Table 1. From this parameter, it is clearly observed that chemosensor  $[Zn_2L]^{4+}$  exhibits an outstanding affinity for GTP with a  $BC_{50}^0$  value of  $0.9 \pm 0.2$   $\mu M$ , while the affinity of this complex toward GDP and ATP is 1 order of magnitude lower. This parameter,  $BC_{50}^0$ , was also calculated including the 2:2 complex ( $\log \beta_2$ ) for GTP, GDP, and ATP, and interestingly, the  $BC_{50}^0$  parameter is insensitive to the presence of the 2:2 complex. The reason for this is that, due to the higher stoichiometry, the 2:2 complex begins to contribute to the overall affinity only for values higher than double the value of the  $\log \beta_1$ , for the 1:1 complex; in addition, their contribution is attenuated by a higher stoichiometry. Notably, there was linear dependence of the fluorescence intensity on the GTP concentration in the range of 50–180  $\mu M$  ( $R^2 = 0.998$ ) with a detection limit of  $9.2 \times 10^{-6}$  M. The detection limit is defined as  $LOD = 3\sigma/s$ , where  $\sigma$  is the standard deviation of the blank and  $s$  is the slope of the calibration curve or Stern–Volmer constant ( $K_{SV} = 3.2 (\pm 0.08) \times 10^4$ ). We also explored the effect of pH on quenching by the GTP of  $[Zn_2L]^{4+}$  in the range 6.0–8.0. The fluorimetric profiles at 410 nm and corresponding affinity parameters, by fitting to a combination of 1:1 and 2:2 models, are shown in Figure 5C and Table 1. In general, a pH-dependent quenching effect is observed. At pH = 6.0 and 8.0, a lower affinity of GTP toward the  $Zn_2$  complex was observed compared to the neutral pH; this fact can be the result of the decrease of negative charge of GTP ( $HGTP^{-3} \rightleftharpoons H_2GTP^{-2}$ ,  $pK_a = 7.04$ )<sup>55</sup> and by the possible formation of hydroxides, respectively.<sup>39</sup>

For practical applications, the chemosensors are required to have not only a good optical response and affinity but also selectivity in the presence of coexistent potential interferences.

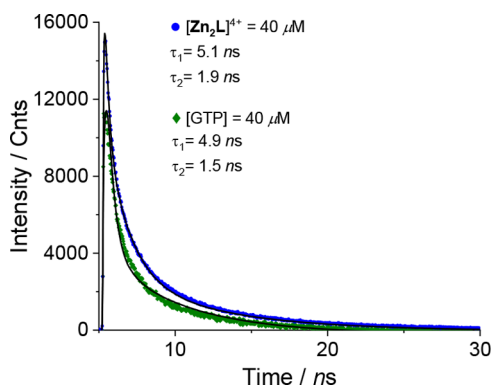


**Figure 6.** (A) Fluorescence spectra and (B) intensities at 410 nm of aqueous solutions  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) at  $\text{pH} = 7.0$  with several blood plasma components (top) and fluorescence responses of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  toward GTP in the presence of a background of several blood plasmas, 1.0 mM (bottom).

Therefore, a selectivity experiment of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  toward interfering biological substances in blood plasma and urine, such as urea, creatinine, L-proline, D-glucose, NaCl, KCl,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{MgCl}_2$ , and  $\text{NaHCO}_3$ , was carried out at  $\text{pH} = 7.0$ . Additions of these biological components to an aqueous solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  produce a negligible change of its emission (Figure 6A,B). Figure 6B (bottom) shows that the quenching response at 410 nm induced by GTP is not affected by the background ingredients of the blood plasma and urine. As a result, only GTP induces a strong quenching with color change from blue to colorless under UV light (Figures 4C and 6B). This finding is interesting because  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  can act as a visually selective chemosensor for detecting GTP in a biological fluid such as urine. In order to study the fluorescence quenching process, the lifetimes of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  in the absence and presence of 1.0 equiv GTP were measured. An aqueous solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  upon excitation with a 354 nm laser exhibited a biexponential decay with lifetimes  $\tau_1 = 5.1$  and  $\tau_2 = 1.9$  ns (Figure 7).

The complex  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  with 1.0 equiv of GTP showed nearly identical biexponential lifetimes,  $\tau_1 = 4.9$  and  $\tau_2 = 1.5$  ns, thus suggesting that the transition energy is virtually the same in the two complexes and that the emission is from the singlet state, which can be attributed to quinoline coordination, supported by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopic measurements.<sup>56</sup> Similar photophysical properties with blue emission and fluorescence lifetime in the nanosecond range have been reported previously for several (*iso*)quinoline-based Zn(II) complexes.<sup>30,57–68</sup>

This blue emission is usually attributed to the partial charge transfer from the excited state quinoline to the Zn(II) atom<sup>69</sup> and the increase of the rigidity of the aromatic ligand in the complex, resulting in a chelation-enhanced fluorescence and a reduction of the loss of energy through nonradiative processes.<sup>70,71</sup> It is known that static (complexation)



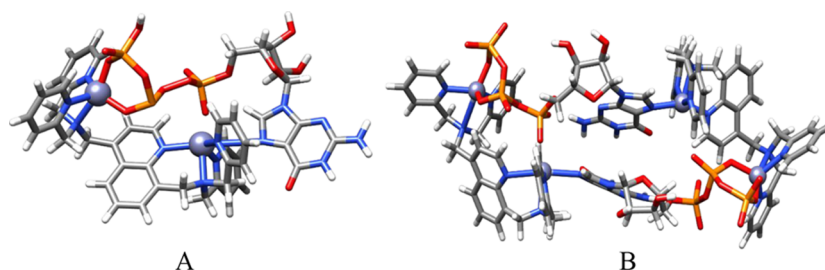
**Figure 7.** Fluorescence decay profiles of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  in the absence and presence of 1.0 equiv of GTP.

quenching does not generate considerable change in values of lifetimes on addition of a quencher, whereas a change in lifetimes is assigned to a dynamic quenching.<sup>72,73</sup> These fluorescence-lifetime measurements support the quenching corresponding to a static (complexation) process with chemical stability of the Zn–quinoline bond.

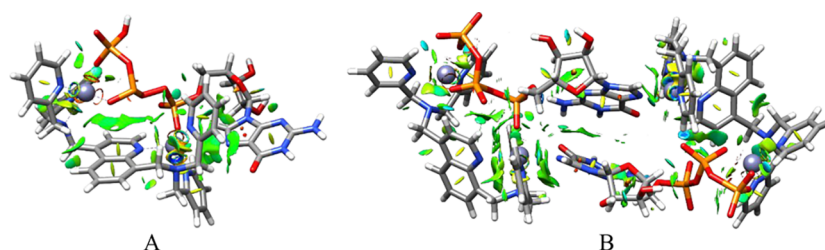
**DFT Studies.** In order to gain a better understanding of the possible binding modes of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  with GTP, two complexes in the 1:1 model,  $[\text{Zn}_2\text{L}\cdot\text{GTP}]$ , and 2:2 model,  $[(\text{Zn}_2\text{L})_2\cdot\text{GTP}_2]$ , were constructed and optimized at the B3LYP/cc-pVDZ-DK/LANL2DZ level. Figure 8 shows the optimized geometry for both complexes.

Atoms-in-molecules analysis of intra- and intermolecular bonding in the 1:1 complex is fully described in the SI; it shows a five-coordinated arrangement with three nitrogen atoms of Dpa in one plan with  $\beta$  and  $\gamma$  phosphates with one Zn atom; at the same time, guanine nitrogen is coordinated with the opposite metallic center (one quinoline nitrogen and three Dpa nitrogen atoms) completing the five-coordinated sphere.





**Figure 8.** Optimized structures of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  with GTP for 1:1 (A) and 2:2 (B) models.



**Figure 9.** Noncovalent interaction index of optimized  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ /GTP complexes, in green (weak interactions) and blue (strong interactions). The 1:1 model (A) and 2:2 model (B).

This conformation is supported by the displacements observed in NMR spectroscopic measurements and stabilized by intermolecular interactions. The 2:2 model adopts a similar arrangement to that of the 1:1 model. Nevertheless, when the binding energy is analyzed, the 2:2 model is favored by 53.9 kcal/mol against the formation of a 1:1 model; the superior stability is provided by additional intermolecular interactions, as can be observed in the Noncovalent Index shown in Figure 9. Intermolecular contacts shown as green surfaces are greater in the 2:2 than in the 1:1 model.

## CONCLUSIONS

The triflate salt of the cationic dinuclear Zn(II) complex,  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  can be used as an intrinsic fluorescent chemosensor for the detection of GTP in pure neutral water. Under these conditions, the addition of a sodium salt of GTP exhibits an efficient and real-time response with strong quenching ( $K_{\text{SV}} = 3.2 (\pm 0.08) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) of  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$ . A particularly high affinity with very good selectivity over other common NPPs and inorganic common anions such as halides, pyrophosphate, ATP, GDP, CTP, and UTP was found in buffered aqueous solutions. This optical change allows for the detection of GTP in the micromolar concentration range even in the presence of coexisting species in the plasma and urine. The quenching process could be explained by a static anion-complexation PET mechanism possibly in both the excited and the ground state. NMR spectroscopic experiments and DFT calculations show that GTP is bound to  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  through three points involving the simultaneous coordination of the  $\text{N}^7$  atom of the guanosine motif and two phosphate groups to the two Zn(II) atoms. On the basis of fluorescence studies, mass spectrometry, and theoretical calculations, the binding mode of GTP to  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}$  was a combination of coexistent 1:1 and 2:2 complexes. GTP shows a very rich coordination chemistry with the asymmetric dinuclear Zn(II) complex used, which presents an exciting topic of research. Overall, these results further highlight the utility of a new nonsymmetric and polycationic transition-metal-based receptor for analytical applications in pure water.

## EXPERIMENTAL SECTION

**General Considerations.** Chemicals, solvents, and instrumentations are listed in the Supporting Information.

**Synthesis of 5,8-Dimethylquinoline, 2.** To a solution of potassium iodide (0.2 g, 1.2 mmol) and 80% sulfuric acid (40 mL), 2,5-dimethylaniline (12.5 mL, 0.1 mol) was added dropwise while the mixture was cooled in a crushed ice and cold water bath. Then, the mixture was heated to 140 °C. Glycerol (12 mL, 0.16 mol) was added dropwise over 1.5 h, and it was stirred under reflux for 4 h. The mixture was cooled to room temperature and neutralized with a solution of 40% sodium hydroxide to pH = 7, and then it was distilled and extracted with dichloromethane. After drying over anhydrous magnesium sulfate, the extracts were filtered and concentrated under a vacuum to give **2** (10.5 mL, 76.8%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8.93 (m, 1H), 8.40 (m, 1H), 7.57–7.47 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.61 (s, 3H).

**Synthesis of 5,8-Bis(bromomethyl)quinoline, 3.** A mixture of **2** (3.10 mL, 19.74 mmol), *N*-bromosuccinimide (NBS, 7.48 g, 42 mmol), and benzoyl peroxide (BPO, 0.70 g, 2.9 mmol) in carbon tetrachloride (100 mL) was irradiated by a 1000 W tungsten lamp and was under reflux for 48 h. After the mixture was cooled to 50 °C, it was filtered, and the solution was washed with saturated sodium sulfite solution (25 mL), sodium carbonate solution (25 mL), and distilled water (25 mL) successively. The organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate, and it was concentrated under a vacuum. The residue was recrystallized from THF and dried under a vacuum; **3** (5.18 g, 82.3%) was obtained as a beige solid with a melting point (mp) of 153–154 °C.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.05 (m, 1H), 8.49 (m, 1H), 7.78–7.75 (m, 1H), 7.59–7.54 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 4.89 (s, 2H).

**Synthesis of 5,8-Bis[bis(2-pyridylmethyl)amino]methylquinoline, L.** A mixture of 5,8-bis(bromomethyl)quinoline **3** (0.4 g, 1.27 mmol) with  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.554 g, 4.0 mmol) in  $\text{CHCl}_3$  (20 mL) was added to Dpa (di(2-picolyl)amine, 0.46 mL, 2.5 mmol) and stirred under reflux for 24 h. Then, the solvent was evaporated under a vacuum. The crude product was purified by alumina column chromatography using ethyl acetate, MeOH, and *n*-hexane (2:2:6) as an eluent to give **L** (0.45, 76.2%) as a red brown oil.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 25 °C):  $\delta$  8.86 (m, 1H), 8.62–8.59 (m, 1H), 8.40–8.35 (m, 4H), 7.85–7.82 (m, 1H), 7.75–7.61 (m, 6H), 7.56–7.53 (m, 1H), 7.51–7.47 (m, 1H), 7.43–7.40 (m, 2H), 7.22–7.14 (m, 4H), 4.42 (s, 2H), 4.09 (s, 2H), 3.98 (s, 4H), 3.83 (s, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 25 °C):  $\delta$  158.74 (4C), 157.93, 148.75, 148.04 (2C), 147.90 (2C), 146.39, 137.25 (2C), 136.94 (2C), 134.62, 134.10, 129.01, 128.01, 127.45, 123.74 (2C), 123.25 (2C), 122.50 (2C), 122.29 (2C), 120.49, 60.33 (2C), 59.74 (2C), 57.15, 54.13.

HR-MS (DART<sup>+</sup>):  $m/z$  552.28775  $[\text{L} + \text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{N}_7$ .

IR (ATR): 3007(w), 2824(w), 1588(m), 1432(m), 755(s)  $\text{cm}^{-1}$ .

Anal. Calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_7$ : C, 76.20; H, 6.03; N, 17.77. Found: C, 76.48; H, 6.26; N, 17.57.

**Synthesis of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$ .** A mixture of L (100 mg, 0.25 mmol) and zinc triflate (70 mg, 0.27 mmol) in  $\text{CH}_3\text{OH}$  was stirred at room temperature overnight. Subsequently, the reaction mixture was filtered through Celite 540, and the solvent was removed under reduced pressure to give a white crystalline powder. Yield: 97%. This product was examined carefully by mass spectrometry, IR-ATR, elemental analysis, and NMR spectroscopy.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 25 °C):  $\delta$  9.42 (s, 1H), 8.80–8.79 (m, 2H), 8.40–8.39 (m, 2H), 8.33–8.27 (m, 2H), 8.12–8.06 (m, 2H), 7.94–7.89 (m, 2H), 7.85–8.1 (m, 3H), 7.73–7.71 (m, 2H), 7.51–7.38 (m, 5H), 4.62 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.93 (s, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{MeOD}$ , 25 °C):  $\delta$  154.53 (2C), 154.14 (2C), 152.24, 148.32 (2C), 146.96 (2C), 145.42, 141.95 (2C), 140.49 (2C), 135.89, 134.29, 132.25, 130.96, 130.10, 128.83, 125.64 (4C), 124.51 (2C), 124.36 (2C), 122.58, 59.07 (2C), 58.72 (2C), 55.68, 48.33.

$^{19}\text{F}$ -NMR (282 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 25 °C):  $\delta$  -80.04 ppm.

MS (ESI<sup>-</sup>):  $m/z$  1127.9  $[\text{Zn}_2\text{L} + 3(\text{OTf})]^+$  and 489.6 dicationic complex  $[\text{Zn}_2\text{L} + 2(\text{OTf})]^{2+}$ .

IR (ATR): 3441(w), 3283(w), 2930(w), 1610(w), 1446(w), 1286(m), 1217(s), 1168(s), 1022(s), 629(s).

Anal. Calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_7 \cdot 2[\text{Zn}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2] \cdot 3(\text{CH}_3\text{OH})$ :  $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{F}_{12}\text{N}_7\text{O}_{15}\text{S}_4\text{Zn}_2$ : C, 36.69; H, 3.30; N, 7.13. Found: C, 36.89; H, 3.38; N, 7.07.

**Spectrophotometric and  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$  NMR Titration Experiments.** The absorption spectra were recorded after additions of aliquots of GTP stock solution to buffered (40 mM, MOPS at pH = 7.0 and ionic strength of 0.05 M NaCl) aqueous solutions of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  (150  $\mu\text{M}$ ) in a quartz cuvette placed in a compartment of a Cary 100 Agilent spectrophotometer thermostated at  $25 \pm 0.1$  °C with a recirculating water bath.

NMR titration experiments were performed on a 300 MHz spectrometer with more concentrated stock solutions of ATP and GTP in  $\text{D}_2\text{O}$ , adding aliquots of them to  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  solutions directly in NMR tubes. In the cases of  $^{31}\text{P}$  titration experiments, the spectra were recorded at 121.5 MHz using  $\text{H}_3\text{PO}_4$  as an external standard. Aliquots of concentrated stock solution of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  were added to ATP and GTP (4.0 mM) solutions directly in NMR tubes.

**Fluorimetric Titration Experiments.** Titration experiments were performed by adding aliquots of stock solutions of anions and guanosine to a buffered aqueous solution containing MOPS (40 mM at pH = 7.0) of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  (15  $\mu\text{M}$ ). In all of these experiments, the ionic strength was adjusted to 0.05 M with NaCl.

After the addition of anions, the solution was equilibrated for 1 min at room temperature before recording the emission spectrum (excitation at 325 nm, 650 V) using a 10 mm quartz cuvette. The experimental data were fitted to the corresponding eqs 1 and 2 using nonlinear least-squares regression with Microcal Origin 8.1 for the 1:1 model and the HypSpec–Hyperquad program for more complex models.<sup>50</sup>

The selectivity experiments were performed by adding aliquots of stock solutions of the respective sodium salts of all anions, at a final concentration of  $[\text{X}] = 300 \mu\text{M}$ , to buffered aqueous solutions containing MOPS (40 mM at pH = 7.0) of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  (15  $\mu\text{M}$ ), and the emission intensities at 410 nm (excited at 325 nm) were recorded. All spectrophotometric experiments were performed in triplicate, and the mean values are reported.

**Fluorescence Lifetime Measurements.** A Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) system coupled to a custom-built confocal microscope was used to acquire the fluorescence lifetimes. A

354 nm picosecond laser pulsed at 10 MHz (LDH-DC-405, PicoQuant) was focused into a 1 cm quartz cell with a 0.85 NA microscope objective. The fluorescence collected with the same objective passed through a 366 nm long-pass dichroic mirror (Chroma T510lpxrt), a 364 nm notch filter (Chroma ZET405nf), and a 425 nm long pass emission filter (Chroma ET425lp) and was focused to an avalanche photodiode (PD-050-CTE, MPD). The laser controller (PDL-800-D, PicoQuant) and the APD were connected to a TCSPC card (PicoHarp 300, PicoQuant). The power of irradiation was controlled to obtain less than 1% of the detection events in order to avoid pile-up effects on the recorded histogram. Allura Red (analytical standard Sigma-Aldrich) was used to obtain the IRF under the same conditions of irradiation. All data were obtained and treated in SymphoTime 64 software (PicoQuant).<sup>72</sup>

**Computational Details.** The geometry optimizations of 1:1 and 2:2  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+}/\text{GTP}$  complexes were carried out with the three-parameter exchange-correlation functional of Becke–Lee–Yang–Parr (B3LYP) and the LANL2DZ basis set, that takes into consideration relativistic effects.<sup>74,75</sup> Additionally, the contribution due to the electronic dispersion was considered by the Grimme-D3 correction.<sup>76</sup> This level of theory is known as B3LYP-D3/LANL2DZ. A no imaginary frequencies criterion was considered in the geometry optimization. Finally, the electron density was analyzed through the Laplacian of the electron density ( $-\nabla^2\rho$ )<sup>77</sup> and Atoms in Molecules (AIM) analysis proposed by Bader.<sup>78</sup> All presented calculations were carried out with NWChem 6.6,<sup>79</sup> while the topological results were obtained with the wave function analyzer Multiwfn 3.3.7.<sup>80</sup>

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.inorgchem.0c00777>.

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ , HSQC, and DEPT NMR spectra of **2** and **3**, L, and  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$ ; MS-DART of L; MS-ESI of  $[\text{Zn}_2\text{L}][\text{OTf}]_4$  and  $[\text{Zn}_2\text{L}]^{4+} + \text{GTP}$ ; and Atoms in Molecules analysis (PDF)

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

Alejandro Dorazco-González – Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria México 04510, Distrito Federal de México, México; [orcid.org/0000-0002-7056-4237](https://orcid.org/0000-0002-7056-4237); Phone: +52-55-56224514; Email: [adg@unam.mx](mailto:adg@unam.mx)

### Authors

Iván J. Bazany-Rodríguez – Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria México 04510, Distrito Federal de México, México

María K. Salomón-Flores – Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria México 04510, Distrito Federal de México, México

Joanatan M. Bautista-Renedo – Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, 50200 Toluca de Lerdo, Estado de México, México

Nelly, González-Rivas – Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, 50200 Toluca de Lerdo, Estado de México, México

Complete contact information is available at:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.inorgchem.0c00777>

### Notes

The authors declare no competing financial interest.



## ACKNOWLEDGMENTS

We thank M. Sc. María de la Nieves Zavala Segovia, Chem. Eréndira García Ríos, Ph.D. María del Carmen García González, M. Sc. Lucero Mayra Ríos Ruiz, Chem. María de los Angeles Peña González, Chem. María del Rocío Patiño Maya, M. Sc. Lucía del Carmen Márquez Alonso, and M. Sc. Lizbeth Triana Cruz for technical assistance. We thank CONACyT (CB239648 and ID- 179 "Fronteras de la Ciencia") and PAPIIT-UNAM-216220 for financial support. We thank Professor Dr. Stefano Roelens for his invaluable comments about the  $BC_{50}$  parameter and the computer program "BC<sub>50</sub> calculator" and Professor Anatoly Yatsimirsky for his invaluable advice. M.K.S.-F. and I.J.B.-R. are grateful to CONACyT for scholarships 629475 and 577221, respectively. We thank the LANCAD and the Laboratory of Supercomputer at the Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa for access to its computer facilities.

## REFERENCES

- (1) Han, X. Y.; Fan, Q. X.; Chen, Z. H.; Deng, L. X.; Fang, Z. Q.; Shi, G.; Zhang, M. Coordination polymers of Tb<sup>3+</sup>/Nucleotide as smart chemical nose/tongue toward pattern-recognition-based and time-resolved fluorescence sensing. *Biosens. Bioelectron.* **2019**, *139*, 111335.
- (2) Kaur, H.; Singh, N.; Kaur, N.; Jang, D. O. Nano-aggregate-Fe<sup>3+</sup> complex based on benzimidazole-modified calix[4]arene for amplified fluorescence detection of ADP in aqueous media. *Sens. Actuators, B* **2019**, *284*, 193–201.
- (3) Liu, B.; Shen, H.; Liu, D.; Hao, Y.; Zhu, X.; Shen, Q.; Qu, P.; Xu, M. Citrate/Tb lanthanide coordination polymer nanoparticles: Preparation and sensing of guanosine-5-monophosphate. *Sens. Actuators, B* **2019**, *300*, 126879.
- (4) Li, S.; Zhao, X.; Yu, X.; Wan, Y.; Yin, M.; Zhang, W.; Cao, B.; Wang, H. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanozymes with Aptamer-Tuned Catalysis for Selective Colorimetric Analysis of ATP in Blood. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 14737–14742.
- (5) Oshchepkov, A. S.; Shumilova, T. A.; Zerson, M.; Magerle, R.; Khurstalev, V. N.; Kataev, E. A. Conformational Selection in Anion Recognition: cGMP-Selective Binding by a Naphthalimide-Functionalized Amido-Amine Macrocyclic. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 9034–9043.
- (6) Aulsebrook, M. L.; Starck, M.; Grace, M. R.; Graham, B.; Thordarson, P.; Pal, R.; Tuck, K. L. Interaction of Nucleotides with a Trinuclear Terbium(III)-Dizinc(II) Complex: Efficient Sensitization of Terbium Luminescence by Guanosine Monophosphate and Application to Real-Time Monitoring of Phosphodiesterase Activity. *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 495–505.
- (7) Plajer, A. J.; Percástegui, E. G.; Santella, M.; Rizzuto, F. J.; Gan, Q.; Laursen, B. W.; Nitschke, J. R. Fluorometric Recognition of Nucleotides within a Water-Soluble Tetrahedral Capsule. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, *58*, 4200–4204.
- (8) Mittal, L. S.; Sharma, P.; Kaur, N.; Singh, P. A Perylene diimide based 'On-Off' chemosensor for detection of nucleoside triphosphate: Efficient ensemble for alkaline phosphatase activity. *Anal. Methods* **2019**, *11*, 5320–5327.
- (9) Wu, N.; Lan, J.; Yan, L.; You, J. A sensitive colorimetric and fluorescent sensor based on imidazolium-functionalized squaraines for the detection of GTP and alkaline phosphatase in aqueous solution. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 4438–4441.
- (10) Ahmed, N.; Shirinfar, B.; Youn, I. S.; Yousuf, M.; Kim, K. S. Selective detection of guanosine-5'-triphosphate and iodide by fluorescent benzimidazolium-based cyclophanes. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 6407–6413.
- (11) Neelakandan, P. P.; Hariharan, M.; Ramaiah, D. A supra-molecular ON-OFF-ON fluorescence assay for selective recognition of GTP. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11334–11335.
- (12) Ahmed, N.; Shirinfar, B.; Youn, I. S.; Bist, A.; Suresh, V.; Kim, K. S. A highly selective fluorescent chemosensor for guanosine-5'-triphosphate via excimer formation in aqueous solution of physiological pH. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2662–2664.
- (13) Kim, S. K.; Moon, B. S.; Park, J. H.; Seo, Y. I.; Koh, H. S.; Yoon, Y. J.; Lee, K. D.; Yoon, J. A fluorescent cavitand for the recognition of GTP. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6617–6620.
- (14) Kwon, J. Y.; Singh, N. J.; Kim, H. N.; Kim, S. K.; Kim, K. S.; Yoon, J. Fluorescent GTP-sensing in aqueous solution of physiological pH. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8892–8893.
- (15) Zhao, X. J.; Huang, C. Z. Water-soluble luminescent copper nanoclusters reduced and protected by histidine for sensing of guanosine 5'-triphosphate. *New J. Chem.* **2014**, *38*, 3673–3677.
- (16) Lei, H.; Liu, J.; Yan, J.; Lu, S.; Fang, Y. Luminescent vesicular nanointerface: A highly selective and sensitive 'turn-on' sensor for guanosine triphosphate. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 13642–13647.
- (17) Sreenivasa Rao, A.; Kim, D.; Nam, H.; Jo, H.; Kim, K. H.; Ban, C.; Ahn, K. H. A turn-on two-photon fluorescent probe for ATP and ADP. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3206–3208.
- (18) Kim, S. K.; Lee, D. H.; Hong, J. I.; Yoon, J. Chemosensors for pyrophosphate. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42* (1), 23–31.
- (19) Zhou, Y.; Xu, Z.; Yoon, J. Fluorescent and colorimetric chemosensors for detection of nucleotides, FAD and NADH: Highlighted research during 2004–2010. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2222–2235.
- (20) Mondal, S.; Ghosh, K. Naphthalimide-linked bispyridinium clefts in selective aqueous sensing of triphosphate and triphosphate-based biomolecules. *Anal. Methods* **2019**, *11*, 5864.
- (21) Nakano, S.; Fukuda, M.; Tamura, T.; Sakaguchi, R.; Nakata, E.; Morii, T. Simultaneous detection of ATP and GTP by covalently linked fluorescent ribonucleopeptide sensors. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3465–3473.
- (22) Bianchi-Smiraglia, A.; Rana, M. S.; Foley, C. E.; Paul, L. M.; Lipchick, B. C.; Moparthy, S.; Moparthy, K.; Fink, E. E.; Bagati, A.; Hurley, E.; Affronti, H. C.; Bakin, A. V.; Kandel, E. S.; Smiraglia, D. J.; Feltri, M. L.; Sousa, R.; Nikiforov, M. A. Internally ratiometric fluorescent sensors for evaluation of intracellular GTP levels and distribution. *Nat. Methods* **2017**, *14*, 1003.
- (23) Liang, L. J.; Zhen, S. J.; Zhao, X. J.; Huang, C. Z. A ratiometric fluorescence recognition of guanosine triphosphate on the basis of Zn (II) complex of 1,4-bis(imidazol-1-ylmethyl) benzene. *Analyst* **2012**, *137*, 5291–5296.
- (24) Traut, T. W. Physiological concentrations of purines and pyrimidines. *Mol. Cell. Biochem.* **1994**, *140*, 1–22.
- (25) Sakamoto, T.; Ojida, A.; Hamachi, I. Molecular recognition, fluorescence sensing, and biological assay of phosphate anion derivatives using artificial Zn (II)-Dpa complexes. *Chem. Commun.* **2009**, *2*, 141–152.
- (26) Shoji, S.; Walker, S. E.; Fredrick, K. Ribosomal Translocation: One Step Closer to the Molecular Mechanism. *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 93–107.
- (27) Downward, J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 11–22.
- (28) Khatua, S.; Choi, S. H.; Lee, J.; Kim, K.; Do, Y.; Churchill, D. G. Aqueous fluorometric and colorimetric sensing of phosphate ions by a fluorescent dinuclear zinc complex. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 2993–2999.
- (29) Ambrosi, G.; Formica, M.; Fusi, V.; Giorgi, L.; Guerri, A.; Macedi, E.; Micheloni, M.; Paoli, P.; Pontellini, R.; Rossi, P. Phosphates sensing: Two polyamino-phenolic zinc receptors able to discriminate and signal phosphates in water. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 5901–5912.
- (30) Mesquita, L. M.; André, V.; Esteves, C. V.; Palmeira, T.; Berberan-Santos, M. N.; Mateus, P.; Delgado, R. Dinuclear Zinc (II) Macrocyclic Complex as Receptor for Selective Fluorescence Sensing of Pyrophosphate. *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 2212–2219.
- (31) Zhang, M.; Ma, W. J.; He, C. T.; Jiang, L.; Lu, T. B. Highly selective recognition and fluorescence imaging of adenosine polyphosphates in aqueous solution. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 4873–4879.

- (32) Hargrove, A. E.; Nieto, S.; Zhang, T.; Sessler, J. L.; Anslyn, E. V. Artificial Receptors for the Recognition of Phosphorylated Molecules. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6603–6782.
- (33) Kim, K.; Ha, Y.; Kaufman, L.; Churchill, D. G. Labile Zinc-Assisted Biological Phosphate Chemosensing and Related Molecular Logic Gating Interpretations. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 928–938.
- (34) Ojida, A.; Takashima, I.; Kohira, T.; Nonaka, H.; Hamachi, I. Turn-on fluorescence sensing of nucleoside polyphosphates using a xanthene-based Zn (II) complex chemosensor. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12095–12101.
- (35) Kurishita, Y.; Kohira, T.; Ojida, A.; Hamachi, I. Rational design of FRET-based ratiometric chemosensors for in vitro and in cell fluorescence analyses of nucleoside polyphosphates. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13290–13299.
- (36) Dorazco-Gonzalez, A. Chemosensing of chloride based on a luminescent platinum(II) NCN pincer complex in aqueous media. *Organometallics* **2014**, *33*, 868–875.
- (37) Lippert, B. Multiplicity of metal ion binding patterns to nucleobases. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200*, 487–516.
- (38) Šponer, J.; Leszczynski, J.; Hobza, P. Structures and energies of hydrogen-bonded DNA base pairs. A nonempirical study with inclusion of electron correlation. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1965–1974.
- (39) Bansal, D.; Gupta, R. Selective sensing of ATP by hydroxide-bridged dizinc (II) complexes offering a hydrogen bonding cavity. *Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 14737–14747.
- (40) Watchasit, S.; Suktanarak, P.; Suksai, C.; Ruangpornvisuti, V.; Tuntulani, T. Discriminate sensing of pyrophosphate using a new tripodal tetramine-based dinuclear Zn (II) complex under an indicator displacement assay approach. *Dalt. Trans.* **2014**, *43*, 14701–14709.
- (41) Lee, H. N.; Swamy, K. M. K.; Kim, S. K.; Kwon, J. Y.; Kim, Y.; Kim, S. J.; Yoon, Y. J.; Yoon, J. Simple but effective way to sense pyrophosphate and inorganic phosphate by fluorescence changes. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 243–246.
- (42) Ikotun, O. F.; Marino, N.; Kruger, P. E.; Julve, M.; Doyle, R. P. Coordination complexes incorporating pyrophosphate: Structural overview and exploration of their diverse magnetic, catalytic and biological properties. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 890–915.
- (43) Jang, H. H.; Yi, S.; Kim, M. H.; Kim, S.; Lee, N. H.; Han, M. S. A simple method for improving the optical properties of a dimetallic coordination fluorescent chemosensor for adenosine triphosphate. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6241–6243.
- (44) Simmons, C. R.; Stomel, J. M.; McConnell, M. D.; Smith, D. A.; Watkins, J. L.; Allen, J. P.; Chaput, J. C. A Synthetic Protein Selected for Ligand Binding Affinity Mediates ATP Hydrolysis. *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 649–658.
- (45) Guo, R. T.; Chong, Y. E.; Guo, M.; Yang, X. L. Crystal structures and biochemical analyses suggest a unique mechanism and role for human Glycyl-tRNA synthetase in Ap4A homeostasis. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 28968–28976.
- (46) Dorazco-González, A.; Alamo, M. F.; Godoy-Alcántar, C.; Höpfl, H.; Yatsimirsky, A. K. Fluorescent anion sensing by bisquinolinium pyridine-2,6-dicarboxamide receptors in water. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 455.
- (47) Bazany-Rodríguez, I. J.; Martínez-Otero, D.; Barroso-Flores, J.; Yatsimirsky, A. K.; Dorazco-González, A. Sensitive water-soluble fluorescent chemosensor for chloride based on a bisquinolinium pyridine-dicarboxamide compound. *Sens. Actuators, B* **2015**, *221*, 1348–1355.
- (48) Kowser, Z.; Tomiyasu, H.; Jiang, X.; Rayhan, U.; Redshaw, C.; Yamato, T. Solvent effect and fluorescence response of the 7-tert-butylpyrene-dipicolylamine linkage for the selective and sensitive response toward Zn (II) and Cd (II) ions. *New J. Chem.* **2015**, *39*, 4055–4062.
- (49) Lee, D. H.; Im, J. H.; Son, S. U.; Chung, Y. K.; Hong, J. I. An azophenol-based chromogenic pyrophosphate sensor in water. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7752–7753.
- (50) Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta* **1996**, *43*, 1739–1753.
- (51) Schwartz, S. C.; Pinto-Pacheco, B.; Pitteloud, J. P.; Buccella, D. Formation of ternary complexes with MgATP: Effects on the detection of Mg<sup>2+</sup> in biological samples by bidentate fluorescent sensors. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 3204–3209.
- (52) Fang, W.; Liu, C.; Yu, F.; Liu, Y.; Li, Z.; Chen, L.; Bao, X.; Tu, T. Macroscopic and Fluorescent Discrimination of Adenosine Triphosphate via Selective Metallo-hydrogel Formation: A Visual, Practical, and Reliable Rehearsal toward Cellular Imaging. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 20583–20590.
- (53) Xu, Q. C.; Lv, H. J.; Lv, Z. Q.; Liu, M.; Li, Y. J.; Wang, X. F.; Zhang, Y.; Xing, G. W. A pyrene-functionalized Zinc (II)-BPEA complex: Sensing and discrimination of ATP, ADP and AMP. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 47788–47792.
- (54) Liu, X.; Xu, J.; Lv, Y.; Wu, W.; Liu, W.; Tang, Y. An ATP-selective, lanthanide complex luminescent probe. *Dalt. Trans.* **2013**, *42*, 9840–9846.
- (55) Corfú, N. A.; Sigel, H. Acid-base properties of nucleosides and nucleotides as a function of concentration Comparison of the proton affinity of the nucleic base residues in the monomeric. *Eur. J. Biochem.* **1991**, *199* (3), 659–669.
- (56) Rosales-Vázquez, L. D.; Valdes-García, J.; Bazany-Rodríguez, I. J.; Germán-Acacio, J. M.; Martínez-Otero, D.; Vilchis-Néstor, A. R.; Morales-Luckie, R.; Sánchez-Mendieta, V.; Dorazco-González, A. A sensitive photoluminescent chemosensor for cyanide in water based on a zinc coordination polymer bearing ditert-butyl-bipyridine. *Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 12407–12420.
- (57) Mikata, Y.; Ugai, A.; Ohnishi, R.; Konno, H. Quantitative fluorescent detection of pyrophosphate with quinoline-ligated dinuclear zinc complexes. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 10223–10225.
- (58) Mikata, Y.; Sato, Y.; Takeuchi, S.; Kuroda, Y.; Konno, H.; Iwatsuki, S. Quinoline-based fluorescent zinc sensors with enhanced fluorescence intensity, Zn/Cd selectivity and metal binding affinity by conformational restriction. *Dalt. Trans.* **2013**, *42*, 9688–9698.
- (59) Mameli, M.; Aragoni, M. C.; Arca, M.; Atzori, M.; Bencini, A.; Bazzicalupi, C.; Blake, A. J.; Caltagirone, C.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Hursthouse, M. B.; Isaia, F.; Lippolis, V.; Valtancoli, B. Synthesis and coordination properties of quinoline pendant arm derivatives of [9]aneN<sub>3</sub> and [9]aneN<sub>2</sub>S as fluorescent zinc sensors. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 9236–9249.
- (60) Williams, N. J.; Gan, W.; Reibenspies, J. H.; Hancock, R. D. Possible steric control of the relative strength of chelation enhanced fluorescence for zinc (II) compared to cadmium (II): Metal ion complexing properties of tris(2-quinolylmethyl)amine, a crystallographic, UV-visible, and fluorometric study. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1407–1415.
- (61) Nolan, E. M.; Lippard, S. J. Small-molecule fluorescent sensors for investigating zinc metalloneurochemistry. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 193–203.
- (62) Mikata, Y.; Yamanaka, A.; Yamashita, A.; Yano, S. Isoquinoline-based TQEN family as TPEN-derived fluorescent zinc sensors. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7295–7301.
- (63) Aragoni, M. C.; Arca, M.; Bencini, A.; Blake, A. J.; Caltagirone, C.; De Filippo, G.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Gelbrich, T.; Hursthouse, M. B.; Isaia, F.; Lippolis, V.; Mameli, M.; Mariani, P.; Valtancoli, B.; Wilson, C. Tuning the selectivity/specificity of fluorescent metal ion sensors based on N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> pyridine-containing macrocyclic ligands by changing the fluorogenic subunit: Spectrofluorimetric and metal ion binding studies. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 4548–4559.
- (64) Shiraishi, Y.; Ichimura, C.; Hirai, T. A quinoline-polyamine conjugate as a fluorescent chemosensor for quantitative detection of Zn (II) in water. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7769–7773.
- (65) Mikata, Y.; Wakamatsu, M.; Kawamura, A.; Yamanaka, N.; Yano, S.; Odani, A.; Morihito, K.; Tamotsu, S. Methoxy-substituted TQEN family of fluorescent zinc sensors. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 9262–9268.

(66) Wu, D. Y.; Xie, L. X.; Zhang, C. L.; Duan, C. Y.; Zhao, Y. G.; Guo, Z. J. Quinoline-based molecular clips for selective fluorescent detection of Zn<sup>2+</sup>. *Dalt. Trans.* **2006**, 29, 3528–3533.

(67) Mikata, Y.; Wakamatsu, M.; Yano, S. Tetrakis(2-quinolinylmethyl)ethylenediamine (TQEN) as a new fluorescent sensor for zinc. *Dalt. Trans.* **2005**, 3, 545–550.

(68) Gan, W.; Jones, S. B.; Reibenspies, J. H.; Hancock, R. D. A fluorescent ligand rationally designed to be selective for zinc(II) over larger metal ions. the structures of the zinc (II) and cadmium (II) complexes of N,N-bis(2-methylquinoline)-2-(2-aminoethyl)pyridine. *Inorg. Chim. Acta* **2005**, 358, 3958–3966.

(69) Ichimura, C.; Shiraiishi, Y.; Hirai, T. Fluorescence properties of polyamines bearing two terminal quinoline fragments in water. *Tetrahedron* **2010**, 66, 5594–5601.

(70) Rendón-Balboa, J. C.; Villanueva-Sánchez, L.; Rosales-Vázquez, L. D.; Valdes-García, J.; Vilchis-Nestor, A. R.; Martínez-Otero, D.; Martínez-Vargas, S.; Dorazco-González, A. Structure of a luminescent 3D coordination polymer constructed with a trinuclear core of cadmium-trimesate and isoquinoline. *Inorg. Chim. Acta* **2018**, 483, 235–240.

(71) Alizadeh, R.; Amani, V. Syntheses, crystal structures, and photoluminescence of three cadmium (II) coordination complexes based on bipyridine ligands with different positioned methyl substituents. *Inorg. Chim. Acta* **2016**, 443, 151–159.

(72) Salomón-Flores, M. K.; Hernández-Juárez, C. L.; Bazany-Rodríguez, I. J.; Barroso-Flores, J.; Martínez-Otero, D.; López-Arteaga, R.; Valdés-Martínez, J.; Dorazco-González, A. Efficient fluorescent chemosensing of iodide based on a cationic meso-tetraarylporphyrin in pure water. *Sens. Actuators, B* **2019**, 281, 462–470.

(73) Dorazco-González, A. Use of Pincer Compounds as Metal-Based Receptors for Chemosensing of Relevant Analytes. In *Pincer Compounds. Chemistry and Applications*, 1st ed.; Morales-Morales, D., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 2018; Chapter 27.

(74) Ben Gzaïel, M.; Oueslati, A.; Chaabane, I.; Gargouri, M. Density functional theory calculations of the molecular structure and the vibrational spectra of bis-tetrapropyl-ammonium hexachlorodizincate. *J. Mol. Struct.* **2016**, 1122, 280–289.

(75) Wagoner, S. M.; Deconda, M.; Cumpian, K. L.; Ortiz, R.; Chinthala, S.; Angel, L. A. The multiple conformational charge states of zinc(II) coordination by 2His-2Cys oligopeptide investigated by ion mobility-mass spectrometry, density functional theory and theoretical collision cross sections. *J. Mass Spectrom.* **2016**, 51, 1120–1129.

(76) Heil, A.; Marian, C. M. DFT/MRCI-R2018 study of the photophysics of the zinc(II) tripyrindione radical: non-Kasha emission? *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, 21, 19857–19867.

(77) Popelier, P. L. A. On the full topology of the Laplacian of the electron density. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 197, 169–189.

(78) Baryshnikova, A. T.; Minaev, B. F.; Baryshnikov, G. V.; Sun, W. H. Structure and Spectral and Luminescence Properties of the Trinuclear Zinc Complex with (E)-5-((2,6-Diethylphenylimino)-methyl)-2-methylquinolin-8-ol: Experimental and DFT Study. *Russ. J. Inorg. Chem.* **2015**, 60, 1560–1567.

(79) Valiev, M.; Bylaska, E.J.; Govind, N.; Kowalski, K.; Straatsma, T.P.; Van Dam, H.J.J.; Wang, D.; Nieplocha, J.; Apra, E.; Windus, T.L.; de Jong, W.A. NWChem: a comprehensive and scalable open-source solution for large scale molecular simulations. *Comput. Phys. Commun.* **2010**, 181, 1477–1489.

(80) Lu, T.; Chen, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. *J. Comput. Chem.* **2012**, 33, 580–592.

(81) Vacca, A.; Francesconi, O.; Roelens, S. BC50: A Generalized, Unifying Affinity Descriptor. *Chem. Rec.* **2012**, 12, 544–566.

(82) The computer program (“BC50 calculator”) is available for free upon request from the corresponding author. A detailed description of the treatment of the BC<sub>50</sub><sup>0</sup> descriptor and of the equations used by the program to compute BC<sub>50</sub><sup>0</sup> is reported in the above reference.



## Chemosensing of Neurotransmitters with Selectivity and Naked Eye Detection of L-DOPA Based on Fluorescent Zn(II)-Terpyridine Bearing Boronic Acid Complexes

Journal:	<i>Dalton Transactions</i>
Manuscript ID	DT-ART-12-2020-004228
Article Type:	Paper
Date Submitted by the Author:	11-Dec-2020
Complete List of Authors:	Bazany-Rodríguez, Iván; Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Instituto de Quimica Salomón-Flores, María Karina; Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Instituto de Quimica Viviano-Posadas, Alejandro O.; Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Instituto de Quimica García Eleno, Marco; CCIQS UAEM-UNAM, Facultad de Química UAEMex Barroso-Flores, Joaquín; Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Instituto de Quimica, UNAM Martínez-Otero, Diego ; Centro Conjunto de Investigacion en Quimica Sustentable UAEM-UNAM, Instituto de Quimica Dorazco-González, Alejandro; Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Instituto de Quimica



# Dalton Transactions

An international journal of inorganic chemistry

## Guidelines for Referees

Thank you very much for agreeing to review this manuscript for [Dalton Transactions](#).



*Dalton Transactions* is a journal for all areas of inorganic chemistry, which encompasses the organometallic, bioinorganic and materials chemistry of the elements, with applications including synthesis, catalysis, energy conversion/storage, electrical devices and medicine.

*Dalton Transactions* welcomes high-quality, original submissions in all of these areas and more, where the advancement of knowledge in inorganic chemistry is significant.

*Dalton Transactions*' Impact Factor is **4.174** (2019 Journal Citation Reports®)

---

*The following manuscript has been submitted for consideration as a*

## **PAPER**

---

*Dalton Transactions* wishes to encourage high quality articles reporting exciting new developments in inorganic chemistry.

For an article to be accepted, it must report new, high-quality research and make a significant contribution to the field.

We ask referees to **recommend only the most significant work** for publication in *Dalton Transactions*. When making your recommendation please:

- **Comment on** the originality, importance, impact and scientific reliability of the work
- **Note that routine or incremental** work should not be recommended for publication.
- **Contact the Editor** if there is any conflict of interest, if the work has been previously published or if there is a significant part of the work which you are not able to referee with confidence.

Best regards,

Contact us

**Professor Russell Morris**

Editorial Board Chair, *Dalton Transactions*

**Dr Andrew Shore**

Executive Editor, *Dalton Transactions*

Please visit our [reviewer hub](#) for further details of our processes, policies and reviewer responsibilities as well as guidance on how to review, or click the links below.



What to do  
when you  
review



Reviewer  
responsibilities



Process &  
policies

# Chemosensing of Neurotransmitters with Selectivity and Naked Eye Detection of L-DOPA Based on Fluorescent Zn(II)-Terpyridine Bearing Boronic Acid Complexes

Iván J. Bazany-Rodríguez,<sup>a</sup> María K. Salomón-Flores,<sup>a</sup> Alejandro O. Viviano-Posadas,<sup>a</sup> Marco A. García-Eleno,<sup>b</sup> Joaquín Barroso-Flores<sup>c\*</sup> Diego Martínez-Otero,<sup>c</sup> and Alejandro Dorazco-González<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México, 04510, D.F., México.

<sup>b</sup>Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, UAEM-UNAM, Carretera Toluca-Atacomulco Km 14.5, C. P. 50200, Toluca, Estado de México, México. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.

<sup>c</sup>Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, UAEM-UNAM, Carretera Toluca-Atacomulco Km 14.5, C. P. 50200, Toluca, Estado de México, México. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Corresponding author: E-mail: [adg@unam.mx](mailto:adg@unam.mx)

## Abstract:

Biological catecholamines such as L-DOPA and dopamine play vital physiological roles in brain, and are chemical indicators of human diseases.

A new range of fluorescent Zn(II)-terpyridine complexes are described and studied in-depth as chemosensors for catecholamines-based neurotransmitters and nucleosides in pure water. The new Zn-terpyridine-based chemosensors contain a cationic *N*-isoquinolinium nucleus as optical indicator covalently linked to three different isomers of strongly acidified phenylboronic acids (ortho-, **2.Zn**; meta-, **3.Zn** and para-, **4.Zn**, substituted derivatives) as catechol binding site. Additions at physiological pH of L-DOPA, dopamine, epinephrine, L-tyrosine and nucleosides to Zn(II)-boronic acid chemosensors quench their blue emission with a pronounced selectivity and an unprecedented high affinity towards L-DOPA (log K= 6.01).

This efficient response by L-DOPA was also observed in the presence of coexisting species in blood plasma and urine with a detection limit of 3.0 μmol L<sup>-1</sup>.

A photoinduced electron transfer quenching mechanism with simultaneous chemosensor-L-DOPA complexation both in the excited and the ground state is proposed.

From fluorescence experimental observations display that the **2.Zn**-eosin-Y adduct can be used as a selective naked-eye chemosensing ensemble for L-DOPA with a fast turn-on fluorescent response and color change from blue to green under UV light in the micromolar level.

On the basis of multiple spectroscopic tools (<sup>1</sup>H, <sup>11</sup>B NMR, UV-Vis, and fluorescence), MS-ESI experiments, crystal structures, and DFT calculations, the binding mode between Zn(II)-chemosensors and L-DOPA is proposed in an 1:1 model, through cooperative two-point recognition involving reversible esterification of boronic acid moiety with the aromatic diol fragment of L-DOPA together the coordination of carboxylate anion to Zn(II) atom with strong electrostatic contribution.

## Introduction

Selective recognition and real-time sensing of catecholamine-based neurotransmitters (NTs), such as dopamine, epinephrine, norepinephrine and L-DOPA by artificial chemosensors remains an active area in supramolecular analytical chemistry.<sup>[1-6]</sup> Dopamine, norepinephrine, L-DOPA and epinephrine are present in the brain and in the peripheral neurons that play critical physiological functions such as motor, neuroendocrine, biorhythm, feeding, emotion, learning, and memory.<sup>[7-8]</sup> Physiological concentration of dopamine in cerebrospinal fluid is in the range of 26 – 40 nM<sup>[9-10]</sup> and higher levels are related to cardiotoxicity and high blood pressure.<sup>[11]</sup> In contrast, the lack of dopamine may lead to neurological disorders such as schizophrenia and Parkinson's disease.<sup>[12]</sup> L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) is a neuromodulator and the biochemical precursor of dopamine, this compound possesses the ability to cross the protective blood-brain barrier, whereas dopamine itself cannot.<sup>[13]</sup> For this reason, L-DOPA is the most widely used drug for increasing dopamine concentration in the brain, in the treatment of Parkinson's disease and dopamine-responsive dystonia.<sup>[14-16]</sup> Therefore, the levels of dopamine and L-DOPA in physiological samples such as blood or urine are essential indicators in medical diagnostics for the diseases.<sup>[17-19]</sup> Neurotransmitter optical recognition has been dominated by fluorophores bearing aldehyde groups capable of reversibly reacting with the primary amine *via* imine formation, thus resulting in significant change in their fluorescent emissions<sup>[5,20-24]</sup> and recently by optical nanomaterials such as CdSe/ZnS quantum dots and covalent organic frameworks.<sup>[21,25-26]</sup> However, many of these receptors and sensors are not particularly selective and interference from other primary amines as amino acids and serotonin and can be a problem,<sup>[21]</sup> further, this slow chemical transformation takes a considerable time (minutes) to sense the analyte.<sup>[5]</sup>

While the need for efficient and highly selective optical chemosensors for L-DOPA is evident, so far, a very limited number of fluorescent chemosensors have been described compared to dopamine. The most efficient chemosensors contain a boronated fluorophores-based receptors such as; metalloporphyrin complexes,<sup>[27]</sup> lucifer yellow dye,<sup>[28]</sup> neutral quinoline derivatives,<sup>[29]</sup> and perylenebisimide based receptors<sup>[30]</sup> which undergo a complexation-induced quenching analytical response as a result of a photoelectron transfer (PET) mechanism, in the presence of L-DOPA. Typically, these fluorescent receptors show apparent binding constants between  $10^2$  and  $10^5$  M<sup>-1</sup>. Consequently, they are suitable to sense NTs in the micromolar concentration range, but not significantly

lower, which is highly desired for sensing L-DOPA in biological fluids and pharmaceutical samples.<sup>[4,10]</sup> An alternative strategy based on dyes with electro-depend fluorescent property have displayed that a sulfonate derivative of resazurin is able to sense L-DOPA in real samples *via* turn-on fluorescence response with low affinity and detection limit ( $10^{-4}$  M).<sup>[12]</sup> In principle, it should be possible to overcome these limitations by using an optical molecular sensor with multiple and high-affinity binding sites for L-DOPA. However, the creation of a potent and selective receptor for L-DOPA is an ongoing challenge. Reports in the context of NTs recognition have shown that the combination of a phenylboronic acid moiety with a second binding site for the 2-amino carboxylic acid fragment from L-DOPA enables to preferentially recognize this neurotransmitter through the reversible formation of the corresponding boronate catechol ester with the contribution in affinity of a second point of recognition.<sup>[28]</sup> It is well-known that simple Zn(II)-terpy complexes act as effective binding motifs for carboxylate anions and amines, due to flexible coordination number and their strong Lewis acidity which overcome the high hydration energies of these *O* and *N*-donor ligands.<sup>[31-34]</sup>

This work is based on the idea that the selective chemosensing of L-DOPA is possible with cationic fluorescent Zn complex-based receptors containing a phenylboronic motif strongly acidified. The baseline expectation for this kind of chemosensors is that the boronic acid would be interact with the aromatic diol fragment *via* ester boronic and the metal ion would be interact with the carboxylate group. The results obtained for a series of fluorescent Zn(II)-phenyl boronic acids isomeric complexes, including synthesis, crystal structures, spectroscopic neurotransmitter sensing studies and theoretical DFT calculations are summarized below.

## Results and discussion

### Design, Synthesis and X-ray Crystallographic Studies

Luminescent metal-boronic acid complexes have been used in catalysis, as building blocks for supramolecular structures, reactivity, as thermometric probes, sensors for sugars, phosphate and hydrogen peroxide.<sup>[35-44]</sup>

However, neurotransmitter recognition still remains largely unexplored. The novel asymmetric complexes, **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn**, containing two different Lewis acids were successfully synthesized by the three-step procedure described in **Scheme 1**. The synthesis was initiated with the preparation of intermediary **1** bearing a isoquinoline moiety at position 4 of the central pyridine ring, and subsequent prolonged treatment with respective isomer of



(bromo-methyl)phenylboronic acid in dry CH<sub>3</sub>CN under N<sub>2</sub> atmosphere to give the series of cationic ligands **2-4**. The ligands were characterized using <sup>1</sup>H, <sup>11</sup>B and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, IR-ATR and ESI(+). These products showed the expected number of signals consistent with their structures (Fig. S1 – S18). Then, the complexes were accomplished by metallation of corresponding cationic ligand **2-4** with ZnBr<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O in CH<sub>3</sub>CN at r.t.. Bromide salts of complexes **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** were isolated in good yield as white crystalline powders, pure according to <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>11</sup>B NMR spectroscopy (Fig. S23-34) and elemental analysis (C, N, H). As a reference compound lacking boronic acid group a Zn(II)-benzyl complex, **5.Zn** was also prepared under the same synthetic path using benzyl bromide instead of (bromo-methyl)phenyl boronic acid (Fig. S35-36).

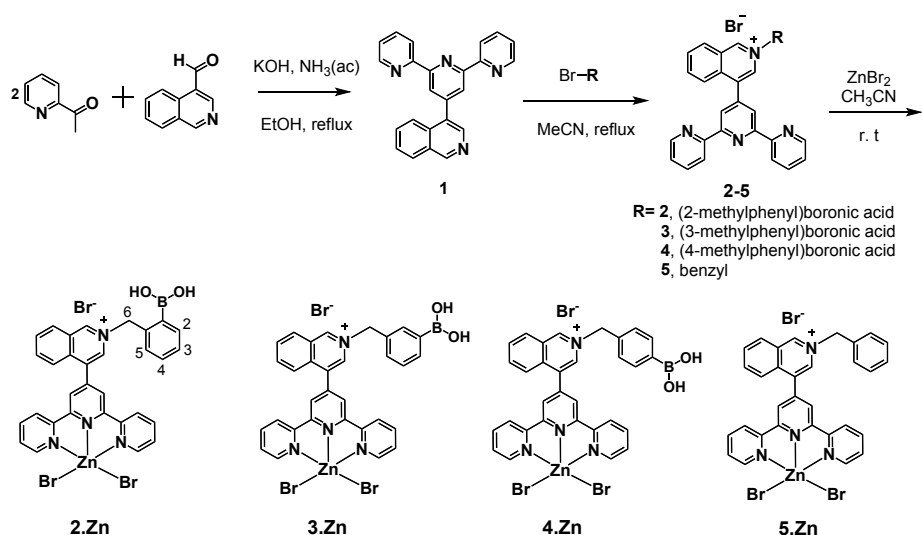
One charged state for the isomeric complexes **2.Zn** and **3.Zn**, monocationic species at  $m/z = 944.7$ ,  $\{[\text{ZnL}]^{2+} + 3\text{Br} + 2\text{Na}^+\}^+$ , are clearly observed and isotopically resolved from their corresponding analysis by positive scan ionization of ESI. The experimental peaks, separated by 1.0, match well the theoretical isotopic distribution for 1:1 complexes as is shown in Fig. S26 and S31 for **2.Zn** and **3.Zn**, respectively.

Complex **4.Zn** was obtained as pinacol ester from reagent 4-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester. Isotopically resolved experimental peaks, separate by 1.0, at  $m/z = 801.03$  corresponds to 1:1 complex according to theoretically calculated isotopic patterns (Fig. S35).

The <sup>11</sup>B NMR spectra of the three isomers Zn(II)-complexes in DMSO-*d*<sub>6</sub> showed only one signal at ~ 25 ppm (Fig. S26, S30 and S34). These signals can be assigned to a sp<sup>2</sup> boronic acid group, however, these values are upfield shifted compared to neutral phenylboronic acid (~30 ppm).<sup>[45]</sup> These <sup>11</sup>B chemical shift ( $\Delta\delta \sim 5$  ppm) can be attributed to the strong acidification of the phenylboronic groups by the delocalized positive charge on the isoquinolinium ring. Strong acidification of boronic acids containing 6-methoxyquinolinium or pyridinium heterocyclic nucleus has been previously reported by Geedes<sup>[46]</sup> and Singarama.<sup>[45]</sup>

Suitable samples for single crystal X-ray diffraction structural analysis as bromide salt of **4.Zn** and DMSO-tribromozincate of **5.Zn** (Table S1) were obtained by slow evaporation from CH<sub>3</sub>OH-CH<sub>3</sub>CN and DMSO solutions for **4.Zn** and **5.Zn**, respectively.

The crystal structures are shown in **Fig. 1**, the structure of **4.Zn** confirms the presence of a sp<sup>2</sup>- hybridized boron atom with a trigonal conformation consistent with its <sup>11</sup>B NMR spectrum.



**Scheme 1.** General synthesis of chemosensors used in this work.

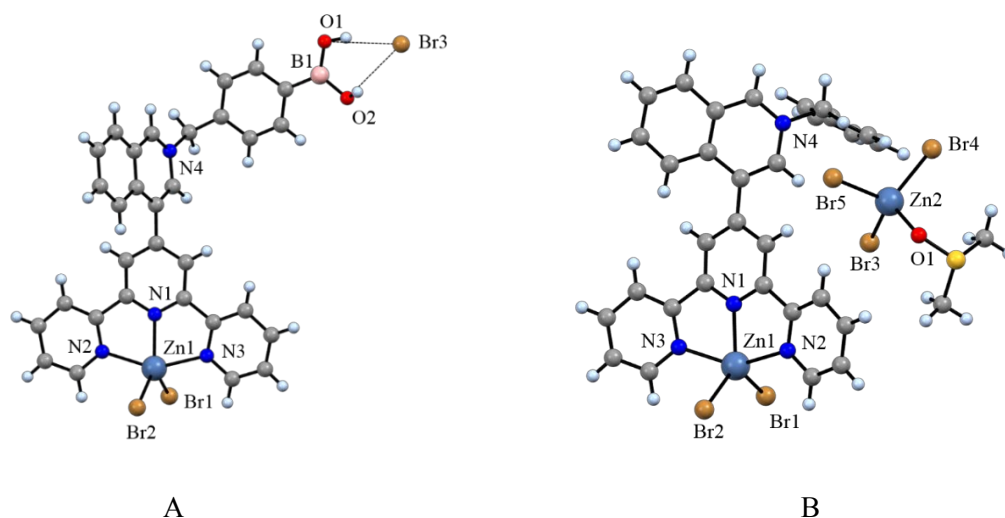
The boronic acid pinacol ester was converted to boronic acid *via* potassium trifluoroborate intermediary.<sup>[38]</sup>

Crystallographic analysis showed that the Zn(II) atoms have a distorted square-pyramidal geometry (**Fig. 1**) for both complexes (**Table 1**). The angles between central pyridine plane and plane of isoquinoline ring are 71.57 and 46.54° for **4.Zn** and **5.Zn**, respectively. The distortion from the coplanarity between these rings seems to be primarily an electronic rather than steric effect.<sup>[47]</sup>

In the crystal **4.Zn**, the boron atom B(1) adopts a trigonal planar geometry ( $\Sigma\angle(\text{X-B-X}) = 359.34^\circ$ ) and is separated from the Zn(II) atom by 13.014(9) Å, the carbon-boron bond distance C-B = 1.505(16), is significantly shorter (Table 1) than was found for neutral arylboronic acids such as phenylboronic acid (1.566 Å) and 4-methylphenylboronic acid (1.554 Å).<sup>[48]</sup> In contrast, the boron-oxygen distances B-O = 1.363(13) and 1.411(13) Å, are considerable longer than what were described for the 4-methylphenylboronic acid, (1.352 and 1.362 Å).<sup>[48]</sup>

### Acid-base properties

Acid-base properties of bromide salts of **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** were explored by fluorescence pH-titrations. Absorption and emission maxima are collected in **Table 2** and the families of fluorescence spectra in buffered aqueous solutions at different pH values are compiled in **Fig. 2** and Fig. S37-38.



**Fig. 1.** Ball and stick models of the X-ray crystal structures of (A) bromide salt of **4.Zn**, showing O-H  $\cdots$  Br contacts with the bromide anion, and (B) DMSO-tribromozincate of **5.Zn**. Color scheme: gray= carbon, blue= nitrogen, pink= boron, red= oxygen, orange= bromine, navy blue= zinc and light blue= hydrogen.

**Table 1.** Selected bond distances ( $\text{\AA}$ ) and angles (deg) for complexes **4.Zn** and **5.Zn**.

<b>4.Zn</b>				<b>5.Zn</b>			
Zn(1)-N(1)	2.095(5)	B(1)-O(2)	1.363(13)	Zn(1)-N(1)	2.099(4)	Zn(2)-O(1)	2.005(4)
Zn(1)-N(3)	2.183(5)	B(1)-O(1)	1.411(13)	Zn(1)-N(2)	2.192(4)	Zn(2)-Br(3)	2.3694(11)
Zn(1)-N(2)	2.192(5)	O(1)-H(1)	0.8400	Zn(1)-N(3)	2.211(4)	Zn(2)-Br(4)	2.3774(10)
Zn(1)-Br(1)	2.4122(9)	O(2)-H(2A)	0.8400	Zn(1)-Br(1)	2.3910(7)	Zn(2)-Br(5)	2.3905(11)
Zn(1)-Br(2)	2.3894(9)	B(1)-C(29)	1.505(16)	Zn(1)-Br(2)	2.4093(7)	-	-
N(1)-Zn(1)-N(3)	75.43(18)	N(2)-Zn(1)-Br(2)	97.45(12)	N(1)-Zn(1)-N(2)	74.86(14)	N(3)-Zn(1)-Br(1)	99.30(10)
N(1)-Zn(1)-N(2)	74.69(18)	N(1)-Zn(1)-Br(1)	120.37(12)	N(1)-Zn(1)-N(3)	74.22(13)	N(1)-Zn(1)-Br(2)	122.63(10)
N(3)-Zn(1)-N(2)	150.11(17)	N(3)-Zn(1)-Br(1)	97.47(12)	N(2)-Zn(1)-N(3)	148.46(14)	N(2)-Zn(1)-Br(2)	97.56(10)
N(1)-Zn(1)-Br(2)	125.83(12)	N(2)-Zn(1)-Br(1)	96.73(12)	N(1)-Zn(1)-Br(1)	120.22(10)	N(3)-Zn(1)-Br(2)	93.82(10)
N(3)-Zn(1)-Br(2)	100.65(12)	Br(2)-Zn(1)-Br(1)	113.74(4)	N(2)-Zn(1)-Br(1)	101.46(10)	Br(1)-Zn(1)-Br(2)	117.03(3)

This difference can be ascribed to an acidification of  $sp^2$  boron atom induced by quaternization of lateral isoquinoline moiety. The  $-\text{B}(\text{OH})_2$  plane is coplanar to the phenyl ring. Parameters of hydrogen bonding interactions observed between Br<sup>-</sup> anion and boronic acid are compiled in Table S2.

The  $pK_a$  values obtained from the titration profiles are shown in **Table 2** and **Fig 2.B**. The estimated  $pK_a$  values in the range of 7.06 – 7.33 for the Zn(II)-complexes in buffered media are significantly lower than those typical chemosensors based on ordinary neutral arylboronic acids reported in the literature (phenylboronic acid  $pK_a = 8.70$ ).<sup>[49-50]</sup> These findings are interesting because low  $pK_a$  values of boronic acid considerably increase the affinity for diols under neutral aqueous media.<sup>[45,49,51-52]</sup> To the best of our knowledge, these  $pK_a$  values are amongst the

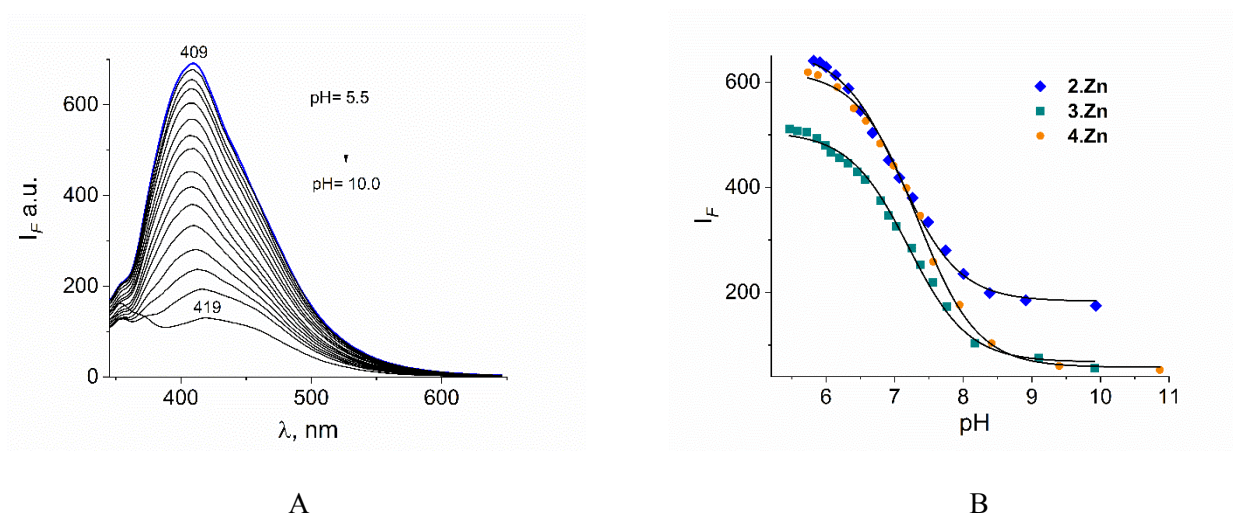
lowest reported for a phenylboronic acid derivative and this study is the first report of  $pK_a$  values of phenylboronic acids covalently bound to a transition-metal- complex. As mentioned above, is not unexpected, due to electron-deficient  $\pi$  system of isoquinolinium group. Similar very low  $pK_a$  values in the range of 6.70 – 7.80 have been reported previously 6-methylquinolinium nucleus bearing isomers of phenylboronic acid.<sup>[53]</sup> The general quenching mechanism for these kind of sensors containing fluorescent aromatic rings and a boronic acid group is photoinduced electron transfer (PET).<sup>[5,40]</sup> In this context, species with  $sp^3$ -hybridized boronate group in the **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** are not fluorescent that can be attributed to intramolecular quenching by a PET mechanism. In order to explore the functionality of Zn(II)-complexes as chemosensors we studied their interactions with NTs under physiological conditions (pH= 7.4) by fluorescence spectroscopy and NMR experiments.

### NTs-Recognition and sensing studies

Buffered aqueous (40 mM, MOPS at pH= 7.4) solutions of **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** in the micromolar concentration range were stable over a prolonged period of time and followed very well the Lambert-Beer law by fluorescence spectroscopy. Therefore, these conditions were used for further studies.

As a first step, the relative selectivity towards NTs was analyzed. Dopamine, L-DOPA, epinephrine, tyrosine adenosine, guanosine, uridine, citidyne and catechol ( $[X]_{\text{final}} = 100 \mu\text{M}$ ) were added to buffered aqueous solutions of Zn(II)-complexes (10  $\mu\text{M}$ ) and the emission intensity decrease at maximum of each complex was recorded as is shown in **Fig. 3**. All nucleosides, tyrosine and catechol gave very low responses. The addition of dopamine and epinephrine resulted in a modest decrease in emission intensities, but they were still significantly lower than that observed for L-DOPA ( $I_0/I_F$  in the range of 4.8 -6.0).

It is known that, when NTs are bound to a fluorescent receptors, the photophysical properties of receptors such as fluorescence intensity, and emission wavelength are modified through different mechanism and such change provide a signal indicating the binding mode of the analyte. Indeed, several signaling mechanism such as photo-induced electron transfer (PET),<sup>[20-21,54-55]</sup> photo-induced charge transfer (PICT),<sup>[5]</sup> excimer formation,<sup>[56]</sup> fluorescence resonance energy transfer (FRET),<sup>[24,57]</sup> ligand displacement,<sup>[58]</sup> metal-to-ligand charge transfer (MLCT),<sup>[59]</sup> fluorescence polarization (FP),<sup>[60]</sup> and luminescence effects.<sup>[61]</sup>



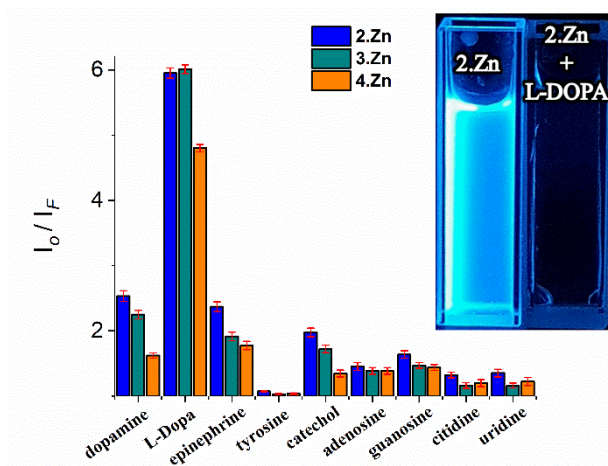
**Fig. 2.** (A) Fluorescence spectra of **2.Zn** (10  $\mu\text{M}$ ) in buffered media ( $\lambda_{\text{ex}} = 330 \text{ nm}$ ). (B) pH-titration profiles observed at emission maximum of each complex.

**Table 2.** Absorption and emission maxima (nm) and  $\text{pK}_a$  values of compounds **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** in water.

	$\lambda_{\text{abs}}$ (log $\epsilon$ ) at pH 7.0	Emission at pH= 7.0 ( $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$ )	Fluorimetric titration, $\text{pK}_a$
<b>2.Zn</b>	285 (4.11); 333 (3.98)	409	$7.06 \pm 0.03$
<b>3.Zn</b>	282 (3.95); 333 (3.85)	400	$7.20 \pm 0.02$
<b>4.Zn</b>	282 (4.01); 333 (3.91)	402	$7.33 \pm 0.01$

To study the affinity and binding mode between NTs/nucleosides and Zn-complexes, fluorimetric titration experiments were carried out. In all cases, addition of L-DOPA to solutions of Zn-complexes induces a strong quenching and only for complex **2.Zn** a blue-shift ( $\Delta\lambda = 31 \text{ nm}$ ) of the emission band is observed (Fig. 4 and Fig. S39).

The fluorimetric profile curves can be perfectly fitted to 1:1 binding model using a nonlinear least-squares treatment with eq. (1) to give binding constants with L-DOPA of  $\log K_{(2.\text{Zn})} = 6.01 \pm 0.02$ ,  $\log K_{(3.\text{Zn})} = 5.83 \pm 0.06$  and  $\log K_{(4.\text{Zn})} = 5.05 \pm 0.04$ , where  $I_F$  is the observed intensity,  $I_H$  is the intensity of the free Zn(II)-complex,  $\Delta I_\infty$  is the maximum intensity change induced by the presence of L-DOPA at saturation,  $[G]_T$  is the total concentration of the analyte, and  $K_{(1:1)}$  is the binding constant.



**Fig. 3.** The fluorescence quenching at maximum of aqueous solutions of each Zn(II)-complexes (10 $\mu$ M) at pH= 7.4 upon additions of different NTs and catechol ( $[X]_{\text{final}} = 100 \mu\text{M}$ ). Average of triplicate experiments.

Notably, there is a linear dependence of the fluorescence intensity of aqueous solution of **2.Zn** on the L-DOPA concentration in the range of 0 - 140  $\mu\text{M}$  ( $R^2 = 0.9967$ ) with a detection limit of 3.0  $\mu\text{M}$ . The detection limit is defined as  $\text{LOD} = 3\sigma/s$ , where  $\sigma$  is the standard deviation of the blank and  $s$  is the slope of the calibration curve or Stern-Volmer constant ( $K_{SV} = 1.01 (\pm 0.04) \times 10^5$ ).

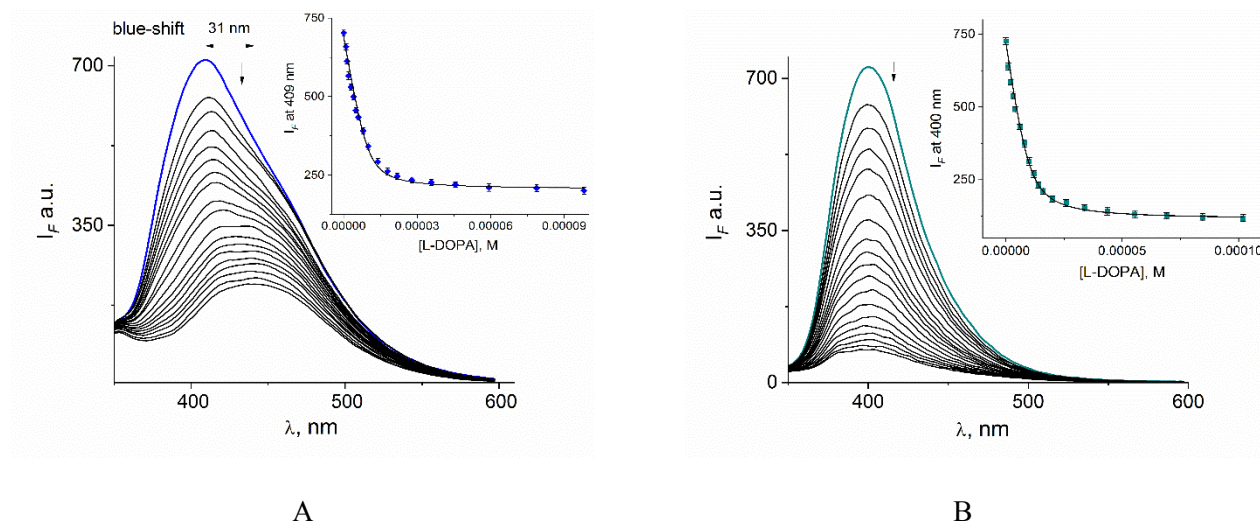
The stability constants with dopamine, epinephrine, adenosine, guanosine, L-tyrosine and catechol were calculated under the same conditions (**Table 3**), and their corresponding fluorimetric profile curves are shown in **Fig. 5**. Chemical structure of the molecules screened are shown in **Fig. 5E**. The trend of Zn-complexes to bind catecholamines-based NTs over nucleosides can be ascribed by the higher affinity of boronic acids to the aromatic diol fragment than to 1,2-diol groups of ribose.<sup>[40]</sup> The absence of this catechol group as in L-tyrosine decreases the affinity by 3 to 4 orders of magnitude. To verify that the receptor-analyte binding interaction is driven mainly by the boronic ester formation we measured affinities of L-DOPA, dopamine and epinephrine with the reference complex **5.Zn** by fluorimetric titrations experiments in the same concentration interval and at the same pH as for complexes **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** (**Fig. 5D**).

**Table 3.** Binding Constants (log K) for Zn(II)-complexes with some NTs at pH= 7.4.

	<b>2.Zn</b>	<b>3.Zn</b>	<b>4.Zn</b>	<b>5.Zn</b>
L-DOPA	6.01 ± 0.02	5.83 ± 0.06	5.05 ± 0.04	3.66 ± 0.05
dopamine	4.97 ± 0.04	4.41 ± 0.05	4.03 ± 0.07	2.82 ± 0.11
epinephrine	4.88 ± 0.04	4.25 ± 0.10	3.83 ± 0.06	3.24 ± 0.04
L-tyrosine	2.46 ± 0.05	2.61 ± 0.07	1.46 ± 0.05	NC
catechol	4.30 ± 0.05	3.99 ± 0.09	3.50 ± 0.06	NC
adenosine	3.02 ± 0.04	3.41 ± 0.07	3.11 ± 0.06	NC
guanosine	3.15 ± 0.05	3.66 ± 0.05	3.23 ± 0.05	NC

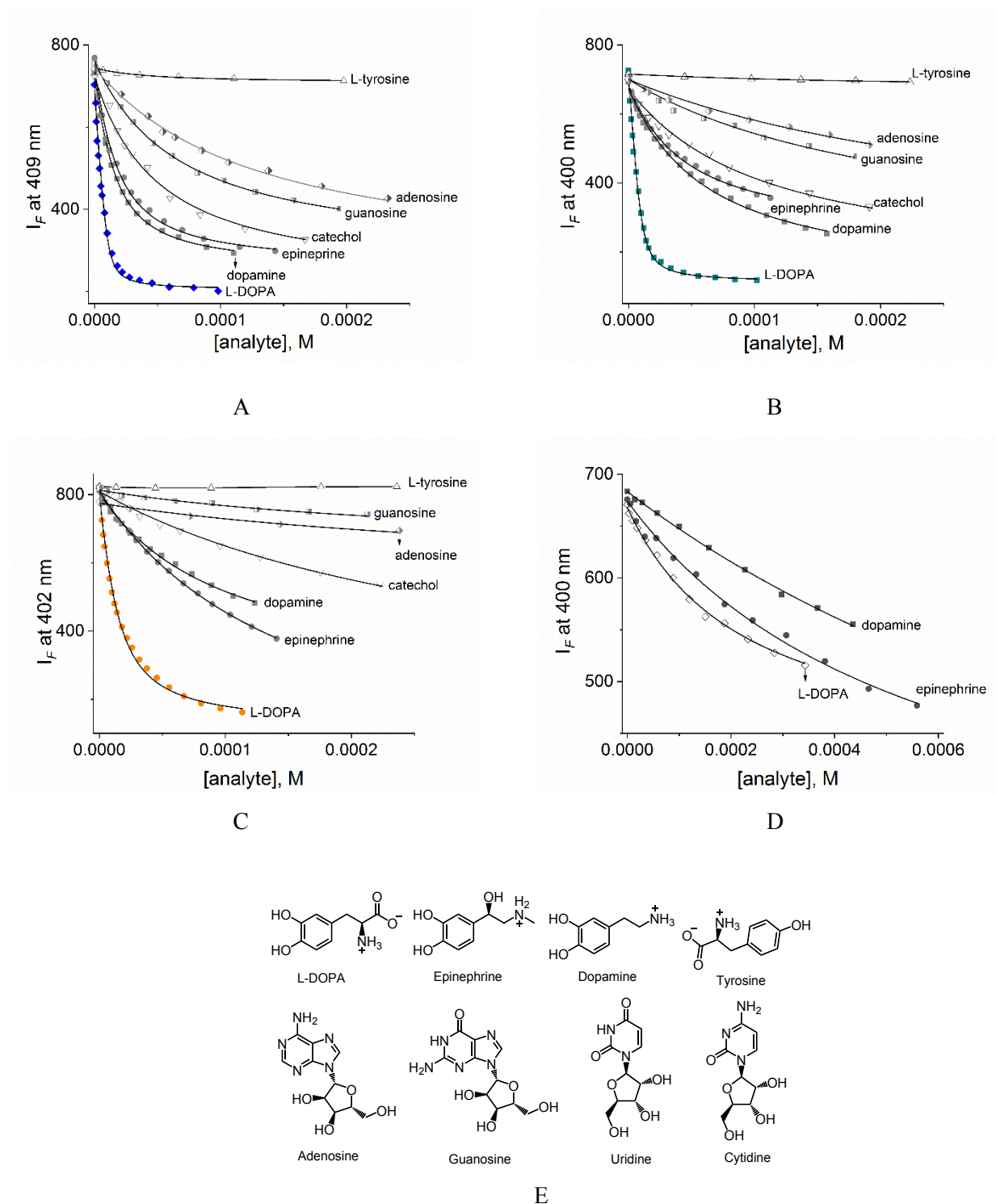
NC= not calculated

$$I_F = I_H + \frac{\Delta I_{\infty} \left\{ [H]_T + [G]_T + \frac{1}{K_{(1,1)}} - \left[ \left( [H]_T + [G]_T + \frac{1}{K_{(1,1)}} \right)^2 - 4[H]_T[G]_T \right]^{0.5} \right\}}{2[H]_T} \quad \text{eq. (1)}$$

**Fig. 4** Changes of emission spectra ( $\lambda_{\text{ex}} = 330$  nm) of buffered aqueous solutions at pH 7.4 of (A) **2.Zn** (10  $\mu\text{M}$ ) and (B) **3.Zn** (10  $\mu\text{M}$ ) upon addition of increasing amounts of L-DOPA. The inset shows the profile at 409 nm (average of triplicate experiments). The solid line was obtained by fitting to eq. (1).

Modest quenching effects were observed and low affinities were estimated, the affinity for L-DOPA (log  $K_{(5.Zn)}$   $3.66 \pm 0.05$ ) is 3 orders of magnitude smaller compared to the complexes that have boronic acids, **2.Zn** and **3.Zn**. In this system **5.Zn**:NTs, the interaction can be inferred between the metal center and the donor *N*, *O* groups of NTs. It has been shown that the fluorescent sensing of zwitterionic amino acids by Zn-terpy complexes can be observed in aqueous media as a result of the coordination of the carboxylate group to the metal center.<sup>[33,62]</sup> The formation of this Zn-carboxylate coordination bond may explain the selectivity to L-DOPA over epinephrine and dopamine.





**Fig. 5.** Fluorimetric titration ( $\lambda_{\text{ex}} = 330$  nm) of aqueous solutions of (A) **2.Zn** (B) **3.Zn** (C) **4.Zn** and (D) **5.Zn** (10  $\mu\text{M}$ , in all cases) with a series of NTs and catechol at pH 7.4 (40.0 mM, MOPS). In all experiments, the ionic strength was adjusted to 0.05 M of NaCl. The solid lines were obtained by fitting to eq. (1). (E) Analytes used in this study.

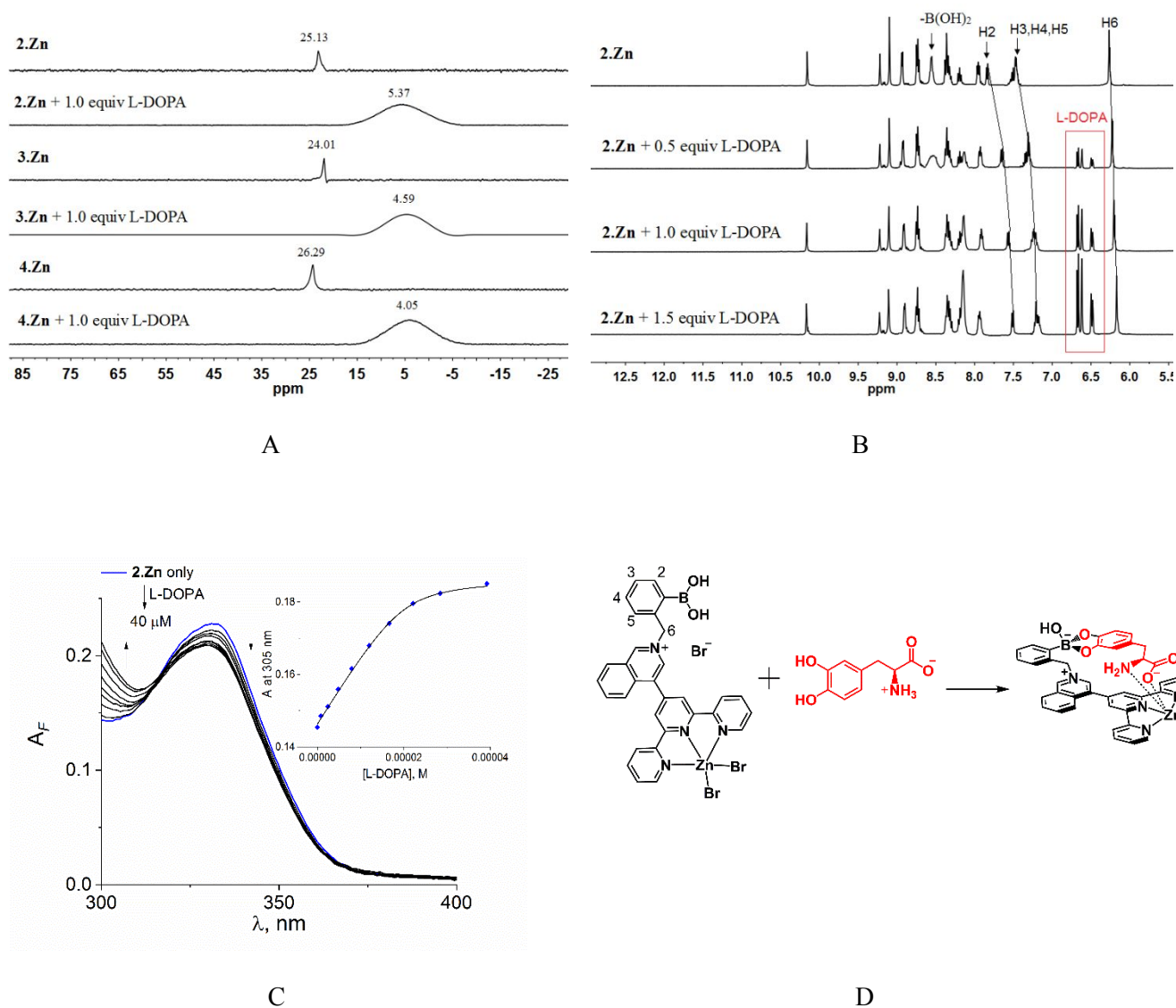


On the other hand, the affinity of the Zn-complexes towards free catechol, in the range  $\log K = 3.50 - 4.30$ , is considerably greater than the stability constant of this molecule with neutral phenyl boronic acid ( $\log K = 2.91$ , taken from literature),<sup>[63]</sup> which is consistent with the strong Lewis acidity determined for the phenylboronic groups of the Zn-complexes studied.

Although the trend observed in the emission changes strongly suggest the participation of multiple interactions, we wanted to demonstrate the boronic acid-aromatic diol interaction explicitly and the high affinity of Zn-complexes for L-DOPA, thus,  $^{11}\text{B}$  and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopic measurements was carried out. Solutions of **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** in  $\text{DMSO-}d_6$  in the mM concentration range were stable over prolonged period of time and were used for further studies. **Fig. 6A** illustrates the experiments of Zn(II)-complexes with L-DOPA monitored by  $^{11}\text{B}$  NMR spectroscopic measurements.

It is known that, when the catechol-boronic ester forms in a  $\text{sp}^2$  - hybridization, the Lewis acidity of boron atom is increased, resulting in very fast conversion to the catechol-boronate ester with a  $\text{sp}^3$  - hybridization.<sup>[49,52,64]</sup> This change in hybridization of the boron moiety from  $\text{sp}^2$  to  $\text{sp}^3$ , generated by esterification with catechol moiety, upon addition of 1.0 equiv. of L-DOPA to solutions of Zn-complexes can be seen in its chemical shift in  $^{11}\text{B}$  NMR (**Fig. 6A**), where the signals for trigonal boron atoms  $\text{sp}^2$  at  $\sim 25$  ppm disappeared and new broadened signals at 5 ppm arise for boron atoms  $\text{sp}^3$  which are characteristic for the formation of boronate complexes.<sup>[65-66]</sup> Next, a  $^1\text{H}$  NMR titration experiment of the chemosensor **2.Zn** (5.0 mM) with L-DOPA was carried out (**Fig. 6B**). On increasing the concentration of L-DOPA (0 – 1.5 equiv.) only the aromatic H2-5 protons of phenyl boronic acid moiety (see **Fig. 6D** for the numbering of the structure), methylene  $-\text{CH}_2-$  group are clearly affected. Reversible esterification of boronic acid with the aromatic diol fragment of L-DOPA induces a notable upfield shift of  $\sim 0.4$  ppm, for the aromatic H2-5 protons and 0.25 ppm for methylene H6 protons, accompanied by the simultaneous disappearance of the signal of  $\text{B}(\text{OH})_2$  at 8.56 ppm and practically the rest of the protons of **2.Zn** are not affected.

**Fig. 6C** illustrates the family of UV-Vis spectra obtained when a neutral aqueous solution of **2.Zn** (20  $\mu\text{M}$ ) is titrated with L-DOPA up to 2.0 equiv. The inset in **Fig. 6C** shows the increase of absorbance at 305 nm ( $\Delta A = 0.045$ ) on progressive addition of L-DOPA.



**Fig. 6.** (A)  $^{11}\text{B}$  NMR spectra of **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** (5 mM) in the presence of 1.1 equiv. of L-DOPA in  $\text{DMSO-}d_6$ . (B) Partial  $^1\text{H}$  NMR spectra of **2.Zn** with increasing concentrations of L-DOPA (0, 0.5, 1.0 and 1.5 equiv.) in  $\text{DMSO-}d_6$  solutions. (C) Spectrophotometric titration of neutral aqueous solution of **2.Zn** (20  $\mu\text{M}$ ) by L-DOPA at pH = 7.4 (40.0 mM, MOPS). The inset shows the profile of absorbance at 305 nm for increasing amounts of L-DOPA. The line was obtained by fitting the data to a 1:1 binding model. (D) Proposed complex of **2.Zn** with L-DOPA in dynamic equilibrium.

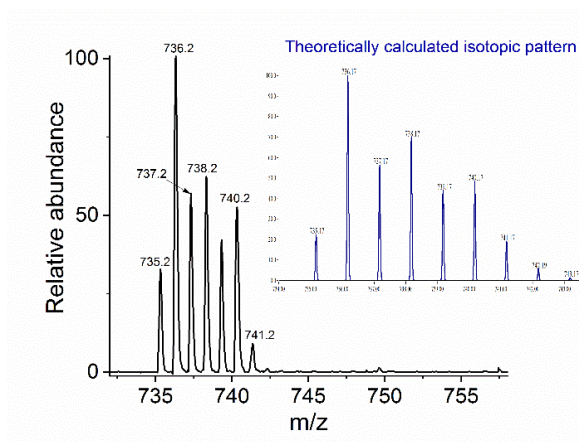
This profile curve remained unchanged when the **2.Zn**/L-DOPA ratio reached 1 equiv., suggesting 1:1 stoichiometry. The titration profile could be well fitted to a 1:1 binding model using eq. (1) to give an apparent binding constant of  $\log K = 5.91 \pm 0.05$ .

Only one isosbestic point at 317 nm was observed and a Job plot confirmed this stoichiometry (Fig. S40). The mass spectrum of **2.Zn** in the presence of 1.0 equiv of L-DOPA by positive electrospray ionization showed practically one monocationic species at 736.2 m/z (**Fig. 7**), which was isotopically resolved, and it can be ascribed to the complex 1:1,  $[\text{C}_{40}\text{H}_{31}\text{BN}_5\text{O}_5\text{Zn}]^+$  (736.17 m/z) corresponding to proposed supramolecular complex in **Fig. 6D**.

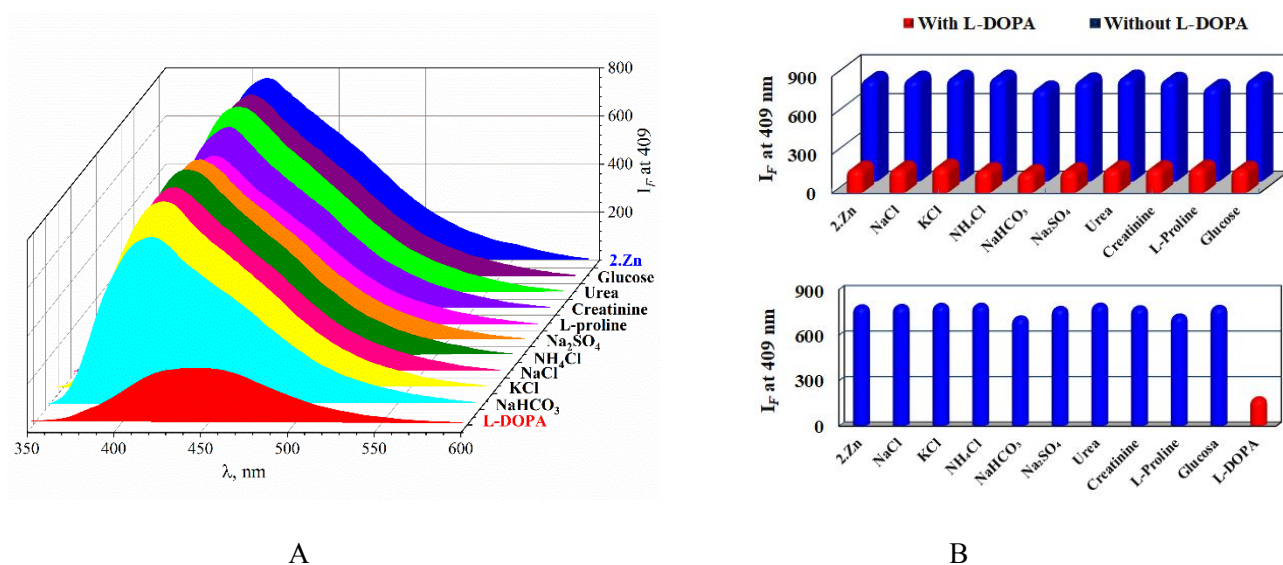
The binding constant for the 1:1 model calculated for **2.Zn** ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) from fluorescence data is consistent with that estimated by UV-Vis, which suggests that the complexation phenomenon, **2.Zn-L-DOPA**, is mainly in the basal state of the receptor. It is clear that complex **2.Zn** recognized L-DOPA with high affinity and selectivity over other NTPs, nucleosides and catechol. From fluorescence data, the order of affinity of **2.Zn** for analytes is L-DOPA > dopamine ~ epinephrine > catechol > adenosine ~ guanosine > L-tyrosine. For practical applications, the chemosensors are required to have not only good optical response and affinity but also selectivity in the presence of coexistent potential interferences in real samples. Therefore, a selectivity experiment of **2.Zn** towards interfering biological substances in blood plasma and urine such as: urea, creatinine, L-proline, D-glucose, NaCl, KCl,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  and  $\text{NaHCO}_3$  was carried out at pH= 7.4. Additions of these interfering molecules to aqueous solutions of **2.Zn** produce a negligible change of its emission (**Fig. 8A**). **Fig. 8B** shows that the quenching response at 409 nm induced by L-DOPA is not affected by the background species of the blood plasma and urine. As a result, only L-DOPA induces a strong quenching with color change from blue to colorless under UV light (**Fig. 3**). This finding is interesting because **2.Zn** can act as a visually fast selective chemosensor for detecting L-DOPA in a biological fluid previously treated to eliminate blue-emitting biological species, such as proteins or samples of pharmaceutical formulations.

### Naked-eye ensemble for selective detection of L-DOPA

Taking the high affinity of L-DOPA for **2.Zn** into account, we studied the utility of this artificial Zn(II) receptor as a new naked-eye chemosensing ensemble for selective detection of L-DOPA based on **2.Zn** and eosin-Y (EY). The binding constant for the system **2.Zn**:L-DOPA ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) is the largest affinity ever observed for this neurotransmitter by an artificial chemical receptor.



**Fig. 7.** Positive scan ESI mass spectrum of an aqueous solution containing **2.Zn** + 1.0 equiv of L-DOPA. Inset: calculated isotopic distribution for monocationic 1:1 complex.



**Fig. 8.** (A) Fluorescence spectra ( $\lambda_{\text{ex}} = 330 \text{ nm}$ ) and (B) intensities at 409 nm of aqueous solutions **2.Zn** ( $10 \mu\text{M}$ ) at  $\text{pH} = 7.4$  with several blood plasma components (top) and fluorescence responses of **2.Zn** towards L-DOPA in the presence ( $1.0 \text{ mM}$ ) of a background of several coexisting species in blood plasmas and urine (bottom).

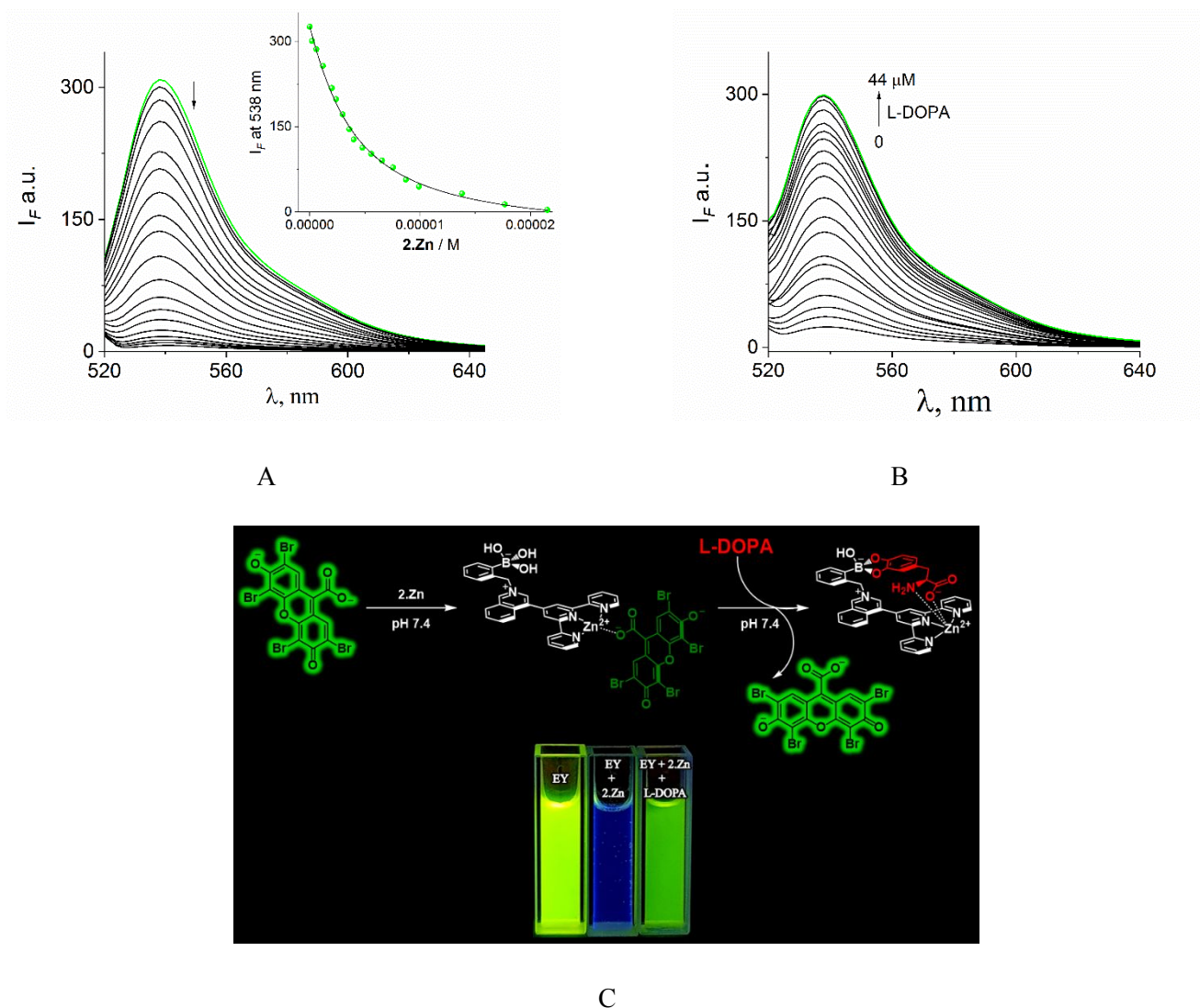
For example, the affinity of **2.Zn** for L-DOPA is around two orders of magnitude larger than Akkaya's receptor system which is based on organic receptor with three-point recognition that includes reversible esterification, charge transfer, and electrostatic interactions.<sup>[28]</sup> EY, a xanthene commercial fluorophore ( $\lambda_{\text{em}} \sim 540 \text{ nm}$ ), also interacts with **2.Zn**. As the fluorescence activity of EY depends on the environment around the dye,<sup>[67]</sup> for instance,

the coordination of EY to transition-metals *via* the carboxylate group, perturbs its fluorescence emission.<sup>[67-68]</sup> We carried out a quantitative analysis of the quenching of EY by **2.Zn** by fluorimetric titration experiment.

Upon addition of **2.Zn** to aqueous solution of EY (2  $\mu$ M) at pH= 7.4 (40 mM, MOPS, 50  $\mu$ M NaCl), the emission of EY at 538 nm ( $\lambda_{\text{ex}}= 515$  nm) was completely quenched (**Fig. 9A**). Based on the observation that only the EY but not the complex **2.Zn** has emission at this wavelength, an analysis of the fluorimetric profile curve was done using the eq. (1) where the estimated binding constant is  $\log K_{(2.Zn-EY)} = 5.43 \pm 0.10$ . As expected, the affinity of **2.Zn** for EY is less than that of the target analyte (L-DOPA), making this an ideal combination for a chemosensing ensemble. The selectivity of an indicator displacement assay (IDA) is ideal when the fluorophore has slightly lower affinity than the target analyte, but a larger affinity than other competitive analytes.<sup>[69]</sup> Therefore, upon addition of L-DOPA to an aqueous solution of the ensemble EY-**2.Zn** (1/10 equiv.), the fluorophore is rapidly displaced from the ensemble, hypothetically through the decoordination of the carboxyl group and the Zn(II) atom, and its green-fluorescence is restored. In general, the strong and optical visible fluorescence of EY allows a direct and real time naked eye detection of L-DOPA using a standard UV lamp. As can be nicely seen in **Fig. 9C**, the green fluorescence of EY is totally quenched upon binding to complex **2.Zn** (10 equiv.) and the resulting solution presents a blue emission that can be attributed to the fluorescent unit (isoquinolinium) of the receptor, which is not altered. Later addition of 22 equiv. (44  $\mu$ M) of L-DOPA to the aqueous solution of this ensemble recovers 95% of the original intensity of EY at 538 nm (the fluorescence maximum of EY) as is shown in **Fig. 9A-B**.

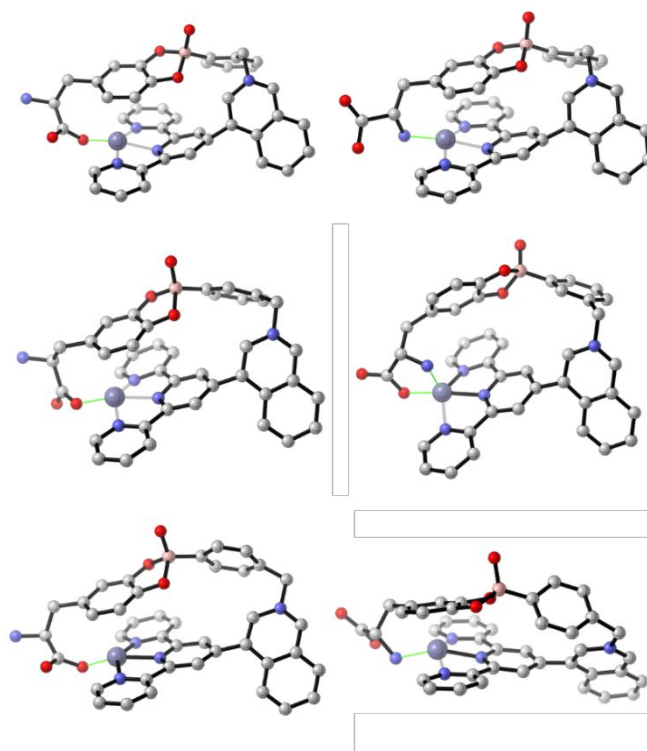
### DFT studies

To gain further insight into the selectivity of **2.Zn** towards L-DOPA, density functional theory calculations were carried out for all three isomers (**2.Zn-4.Zn**) and their closely related analogue with dopamine. Geometries for the **2.Zn** and **3.Zn** complexes of L-DOPA were optimized at the  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ level of theory, modeling the interactions of Zn with the carboxylic or the amino groups from the neurotransmitter in two coordination modes, whether by the carboxylate or the amino group. Their optimized structures are shown in **Fig. 10**. Vibrational frequency analyses revealed these structures are local minima on their respective potential energy surfaces since no imaginary values were obtained.



**Fig. 9.** Changes in the emission spectra of (A) EY (2.0 μM, λ<sub>ex</sub> = 515 nm) upon addition of **2.Zn** (0 to 21 μM). The inset shows the titration plot at 538 nm. The line was obtained by fitting the data to a 1:1 binding model. (B) Changes in the emission spectra (λ<sub>ex</sub> = 515 nm) of ensemble EY·**2.Zn** upon addition of L-DOPA (0 to 44 μM) in a buffered aqueous solution (40 mM MOPS, pH 7.4, 50 μM NaCl). (C) Proposed schematic of the sensing mechanism and changes in colour of the solutions under irradiation at 365 nm UV-light.

From all three isomers, the most stable is **2.Zn**:L-DOPA, in accordance with experimental observations. Of the two suggested coordination patterns, the Zn bound through the carboxylate group should be present almost exclusively since coordination *via* the amino group yields a structure 32.35 kcal/mol higher in energy.



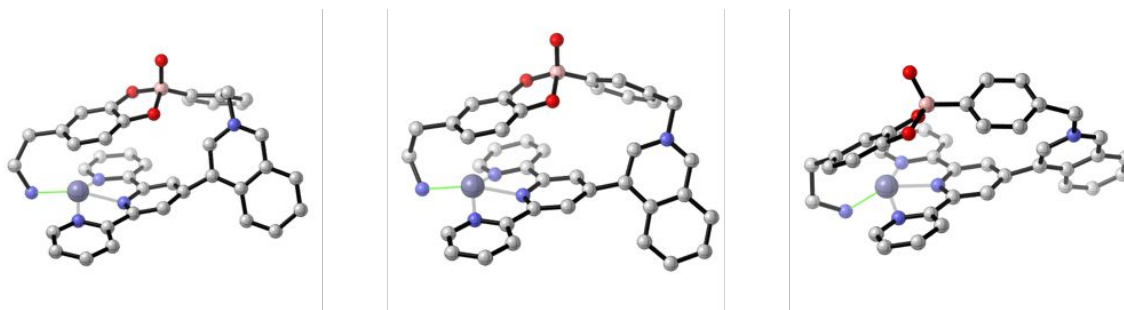
**Fig. 10.** Optimized structures for compounds **2.Zn:L-DOPA** (top), **3.Zn:L-DOPA** (middle) and **4.Zn:L-DOPA** (bottom) at the  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ level of theory (Hydrogen atoms not shown for clarity.)

The **3.Zn:L-DOPA** isomers are higher in energy from the **2.Zn:L-DOPA** reference by 10.45 and 17.89 kcal/mol for the coordination patterns via carboxylate or a mixed oxygen-nitrogen coordination to zinc, respectively, whereas in turn, the **4.Zn:L-DOPA** isomers are 21.19 and 37.12 kcal/mol higher in energy (carboxylate and amino coordination, respectively).

For the **3.Zn:L-DOPA** and **4.Zn:L-DOPA** isomers, coordination with the carboxylate group yields also a lower energy complex than that when the amino group is involved (7.47 and 15.93 kcal/mol, respectively). These results are consistent with the notion of Zn being an oxophilic atom.

Structural preferences in the isomers for the L-DOPA complex arise mostly from conformational strain, since the Total Wiberg bond index for Zn do not significantly vary (1.13—0.99), which is indicative of a mostly electrostatic interaction of Zn with the ligands. For the case of the dopamine complex, the **2.Zn** isomer is also the lowest in energy, with the **3.Zn** and **4.Zn** isomers being 9.19 and 11.52 kcal/mol higher in energy, respectively.





**Fig. 11.** Optimized structures for compounds **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn** at the  $\omega$ B97-XD/LANL2DZ level of theory (Hydrogen atoms not shown for clarity.)

Their optimized structures are shown in **Fig. 11**. As in the case of L-DOPA, dopamine derivatives show low covalency towards the Zn atom, as evidenced by their low total Wiberg bond indexes for Zn (1.04, 1.30, and 1.10 for **2.Zn**, **3.Zn** and **4.Zn**, respectively)

## Conclusions

We have developed a new range of fluorescent Zn(II)-terpy receptors bearing acidified boronic acid groups for chemosensing of catecholamines-based neurotransmitters, with exceptional strong affinity and a very good selectivity towards L-DOPA over other common neurotransmitter such as dopamine, epinephrine, L-tyrosine and nucleosides in pure water at pH= 7.4. Under these conditions, the addition of L-DOPA to aqueous solutions of all isomers of Zn-boronic acid studied exhibits an efficient and real-time analytical response with strong quenching of the fluorescence. This optical change allows a fast detection of L-DOPA in the micromolar concentration range even in the presence of coexisting species in blood plasma and urine.

The quenching responses could be explained by a particularly strong static anion-complexation PET mechanism possibly in both the excited and the ground state.  $^1\text{H}$ ,  $^{11}\text{B}$  NMR spectroscopic experiments and DFT calculations show that L-DOPA is bound to Zn-boronic acid receptors through two-point binding involving the simultaneous esterification of boronic acid with the aromatic diol fragment of L-DOPA and the coordination of the carboxylate anion to Zn(II) atom. This electrostatic interaction is favored by the positively charged Zn-terpy fragment.



On the basis of spectroscopic studies, mass spectrometry, and theoretical calculations, complex **2.Zn** has the highest affinity ( $\log K = 6.01 \pm 0.02$ ) towards L-DOPA among the Zn(II) receptors studied and this binding constant represents the largest affinity ever observed for this neurotransmitter by an artificial chemical receptor. Affinity and structural preference of the isomer **2.Zn** for L-DOPA arise mostly from conformational strain and the strong acidity of pendant phenylboronic acid ( $pK_a = 7.06$ ) compared to the rest of the isomers. The combination of **2.Zn** with eosin Y can be used as an accurate, low-cost analytical method for naked-eye sensing of L-DOPA with a fast turn-on fluorescence response that is not produced by the rest of the analytes studied. Catecholamine-based neurotransmitters display a very rich coordination chemistry with the asymmetric Zn(II) - boronic acid complexes used in this study, which presents an exciting topic of research. Overall, these results further highlight the usefulness of a new family of water-soluble and fluorescent transition-metal-based receptors as effective analytical tools for selective sensing of neurotransmitters in water.

## Experimental Section

### General Considerations

Chemicals, solvents and instrumentations are listed in Electronic Supplementary Information

### Synthesis

**Compound 1**, 4'-(4-isoquinoliny)-2,2':6',2''-terpyridine.

2-Acetylpyridine (701.40 mg, 0.65 mL, 5.79 mmol) was added to a solution of KOH (467.39 mg, 8.33 mmol) in EtOH (100 mL) and this solution was stirred for 15 minutes. Then, 4-isoquinolinecarboxaldehyde (455.79 mg, 2.90 mmol) was dissolved and stirred. After 30 minutes, NH<sub>3</sub> aqueous (10.40 mL, 29.30%, 12.50 mmol) was added and refluxed at 100 °C for 30 hours. The solvent was reduced to 5 mL and saturated with H<sub>2</sub>O (50 mL). The yellow precipitate was washed with H<sub>2</sub>O (25 mL) and collected by filtration. Recrystallization from hot MeOH afforded compound **1**. Yield: 742.64 mg (71.13 %); yellow crystalline solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.33 (s, 1H), 8.73 (d, 2H), 8.69 (d, 2H), 8.66 (s, 2H), 8.64 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.91 (td, 2H), 7.74-7.68 (m, 2H), 7.37 (dd, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  155.97, 155.86, 153.06,

149.25, 147.23, 142.77, 136.93, 133.64, 131.30, 131.13, 128.31, 128.05, 127.47, 124.41, 123.99, 122.24, 121.42.

EI-MS (m/z): [C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup>] calcd. for C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup>, 359.13; found, 359.00.

**Compound 2**, 4'-[N-(2-boronobenzyl)-4-isoquinolinium]-2,2':6',2''-terpyridine bromide.

**1** (80 mg, 0.22 mmol) and 2-(bromomethyl)phenylboronic acid (51.56 mg, 0.24 mmol) were added in MeCN (25 mL). The reaction mixture was stirred under reflux for 48 hours in an inert atmosphere. Then, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting beige solid was washed and stirred with EtOAc (10 mL) for 30 minutes. Finally, the precipitate was filtered off and dried under a vacuum. **2** was obtained as a white solid. Yield: 109.03 mg (86.15 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.12 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.78-8.71 (m, 5H), 8.67 (s, 2H), 8.47 (s, 2H), 8.33-8.28 (t, 1H), 8.19-8.16 (m, 2H), 8.13-8.07 (t, 2H), 7.83-7.80 (d, 1H), 7.59-7.55 (dd, 2H), 7.48-7.44 (t, 2H), 7.37-7.34 (d, 1H), 6.26 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 156.18, 154.81, 150.72, 149.92, 143.83, 138.52, 138.21, 136.20, 135.66, 135.56, 135.25, 132.10, 131.82, 130.97, 130.85, 129.57, 128.70, 128.07, 127.25, 125.44, 125.19, 122.00, 121.64, 64.31. <sup>11</sup>B NMR (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 23.28. ESI-MS (m/z): [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> + 3MeOH + 7H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>12</sub><sup>+</sup>, 717.35; found, 717.34. ATR-IR 3300(m), 2926(m), 1584(m), 1449(m), 1352(m), 1096-1030(m), cm<sup>-1</sup>.

**Compound 3**, 4'-[N-(3-boronobenzyl)-4-isoquinolinium]-2,2':6',2''-terpyridine bromide.

**1** (80 mg, 0.22 mmol) and 3-(bromomethyl)phenylboronic acid (51.57 mg, 0.24 mmol) were added in MeCN (25 mL). The reaction mixture was stirred under reflux for 48 hours in an inert atmosphere. Then, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting beige solid was washed and stirred with EtOAc (10 mL) for 30 minutes. Finally, the precipitate was filtered off and dried under a vacuum. **3** was obtained as a white solid. Yield: 104.05 mg (82.21 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.41 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.77-8.71 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.30 (t, 1H), 8.19-8.18 (m, 4H), 8.12-8.06 (td, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.59-7.55 (dd, 2H), 7.46-7.41 (t, 1H), 6.09 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 156.18, 154.82, 150.62, 149.91, 143.73, 141.65, 138.56, 138.19, 136.66, 135.62, 135.35, 134.99, 134.79, 133.75, 132.02, 131.91, 130.96, 128.71, 128.30, 125.42, 125.23, 122.06, 121.62, 64.17. <sup>11</sup>B NMR (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 22.23. ESI-MS (m/z): [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> + MeOH + 8H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> calcd.

for  $C_{32}H_{44}BN_4O_{11}^+$ , 671.31; found, 671.29. ATR-IR 3337(m), 3035(m), 1584(m), 1436(m), 1377(m), 1034-998(m),  $cm^{-1}$ .

**Compound 4**, 4'-[N-(4-boronobenzyl)-4-isoquinolinium]-2,2':6',2''-terpyridine bromide.

**1** (80 mg, 0.22 mmol) and 4-(bromomethyl)phenylboronic acid pinacol ester (74.25 mg, 0.25 mmol) were added in MeCN (25 mL). The reaction mixture was stirred under reflux for 48 hours in an inert atmosphere. Then, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting orange solid was washed and stirred with EtOAc (10 mL) for 30 minutes. Finally, the precipitate was filtered off and dried under a vacuum. **4** was obtained as a beige solid. Yield: 130.02 mg (89.89 %).

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.34 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.78-8.74 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.32-8.29 (t, 1H), 8.20-8.08 (m, 4H), 7.76-7.74 (d, 2H), 7.66-7.63 (d, 2H), 7.57-7.55 (t, 2H), 6.09 (s, 2H), 1.28 (s, 12H).  $^{13}C$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  155.90, 154.45, 150.50, 149.67, 143.66, 138.56, 137.47, 136.72, 136.14, 135.59, 135.55, 135.29, 134.60, 131.99, 128.81, 128.29, 128.19, 125.55, 125.10, 122.11, 121.83, 84.41, 64.06, 25.26.  $^{11}B$  NMR (160 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  24.30. ESI-MS (m/z): [ $C_{37}H_{34}BN_4O_2^+$ ] $^+$  calcd. for  $C_{37}H_{34}BN_4O_2^+$ , 577.28; found, 577.27. ATR-IR 3384(m), 2980(m), 1584(m), 1399(m), 1359(m), 1110-1086(m),  $cm^{-1}$ .

**Compound 5**, 4'-[N-(benzyl)-4-isoquinolinium]-2,2':6',2''-terpyridine bromide.

**1** (80 mg, 0.22 mmol) and benzyl bromide (31  $\mu$ L, 44.46 mg, 0.26 mmol) were added in MeCN (25 mL). The reaction mixture was stirred under reflux for 48 hours in an inert atmosphere. Then, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting pale-yellow solid was washed and stirred with Et<sub>2</sub>O (20 mL) for 30 minutes. Finally, the precipitate was filtered off and dried under a vacuum. **5** was obtained as a white solid. Yield: 102.71 mg (87.84 %).

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.40 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.78-8.72 (m, 5H), 8.68 (s, 2H), 8.33-8.29 (t, 1H), 8.19-8.16 (d, 2H), 8.13-8.07 (td, 2H), 7.68-7.65 (dd, 2H), 7.57-7.55 (dd, 2H), 7.47-7.44 (m, 3H), 6.07 (s, 2H).  $^{13}C$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  155.61, 154.27, 150.19, 149.38, 143.31, 138.12, 137.88, 136.23, 135.18, 134.45, 134.30, 131.57, 131.47, 129.35, 129.20, 128.96, 127.84, 125.03, 124.76, 121.70, 121.26, 63.43. APCI-MS (m/z): [ $C_{31}H_{23}N_4^+ + Br^- + 2H_2O + H^+$ ] $^+$  calcd. for  $C_{31}H_{28}BrN_4O_2^+$ , 567.14; found, 568.60. ATR-IR 3035(m), 1584(m), 1399(m),  $cm^{-1}$ .

## General procedure for synthesis of Zn(II)-boronic acid complexes.

The respective ligand with 1.0 equiv of ZnBr<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O in MeCN (25 mL) were stirred at room temperature overnight. Subsequently, the solvent was removed under reduced pressure to give the corresponding zinc(II)-terpy complex, in all cases as white crystalline powders.

### Complex 2.Zn

Following the general procedure, ligand **2** (86 mg, 0.15 mmol) and ZnBr<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (40 mg, 0.15 mmol) were reacted to prepare **2.Zn**, yield: 108.07 mg (90.01 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.17 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 9.10 (s, 2H), 8.96-8.94 (d, 2H), 8.76-8.72 (m, 3H), 8.54 (s, 2H), 8.40-8.35 (m, 4H), 8.23-8.18 (t, 1H), 7.98-7.94 (t, 2H), 7.87-7.83 (d, 1H), 7.49-7.47 (m, 3H), 6.28 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 151.42, 149.41, 148.53, 146.80, 141.33, 138.84, 138.23, 138.03, 135.99, 135.91, 135.69, 135.27, 134.51, 132.14, 131.00, 130.38, 129.02, 128.20, 127.80, 125.91, 124.89, 123.22, 121.81, 64.52. <sup>11</sup>B NMR (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 23.13. ESI-MS (m/z): [C<sub>31</sub>H<sub>25</sub>BBR<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>Zn + Br<sup>-</sup> + 2MeCN + 2Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>35</sub>H<sub>31</sub>BBR<sub>3</sub>N<sub>6</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Zn<sup>+</sup>: 940.92; found, 940.71. Anal. Calcd for C<sub>35</sub>H<sub>30</sub>BBR<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Zn [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BBR<sub>4</sub>O<sub>2</sub> + ZnBr<sub>2</sub> + 2MeCN]: C, 47.63; H, 3.43; N, 9.52; found: C, 47.61; H, 3.54; N, 9.52.

### Complex 3.Zn

Ligand **3**, (86 mg, 0.15 mmol) and ZnBr<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (40 mg, 0.15 mmol) were used to prepare **3.Zn** yield: 100.15 mg (83.41 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.47 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.96-8.94 (d, 2H), 8.75-8.70 (m, 3H), 8.37-8.34 (m, 4H), 8.23-8.20 (m, 3H), 8.03-7.94 (m, 3H), 7.86-7.84 (d, 1H), 7.73-7.70 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 6.08 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 151.00, 148.98, 148.91, 147.94, 147.15, 146.37, 140.91, 138.53, 135.09, 134.91, 134.77, 134.62, 134.46, 133.05, 131.91, 131.63, 130.70, 128.39, 127.75, 127.57, 125.55, 124.53, 122.73, 64.14. <sup>11</sup>B NMR (160 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 22.01. ESI-MS (m/z): [C<sub>31</sub>H<sub>25</sub>BBR<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>Zn + Br<sup>-</sup> + 2MeCN + 2Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>35</sub>H<sub>31</sub>BBR<sub>3</sub>N<sub>6</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Zn<sup>+</sup>: 940.92; found, 940.72. Anal. Calcd for C<sub>35</sub>H<sub>30</sub>BBR<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Zn [C<sub>31</sub>H<sub>24</sub>BBR<sub>4</sub>O<sub>2</sub> + ZnBr<sub>2</sub> + 2MeCN]: C, 47.63; H, 3.43; N, 9.52; found: C, 47.69; H, 3.61; N, 9.51.

### Complex 4.Zn

Following the general procedure, ligand **4** (92 mg, 0.14 mmol) and  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (36.57 mg, 0.14 mmol) were used to prepare **4.Zn**, yield: 102.83 mg (83.22 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  10.45 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 9.10 (s, 2H), 8.94-8.93 (d, 2H), 8.76-8.71 (t, 3H), 8.39-8.33 (t, 4H), 8.23 (m, 1H), 7.97-7.93 (dd, 2H), 7.77-7.75 (d, 2H), 7.70-7.67 (d, 2H), 6.11 (s, 2H), 1.26 (s, 12H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  151.20, 149.00, 148.86, 147.93, 146.42, 141.01, 138.68, 137.00, 135.26, 134.96, 134.89, 134.35, 131.99, 131.71, 128.56, 127.81, 127.59, 125.76, 125.58, 124.50, 122.81, 83.99, 63.84, 24.69.  $^{11}\text{B}$  NMR (160 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  24.29. ESI-MS ( $m/z$ ):  $[\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{Zn}^+]^+$  calcd. for  $\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBr}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{Zn}^+$ : 799.04; found, 799.03. Anal. Calcd for  $\text{C}_{41}\text{H}_{40}\text{BBr}_3\text{N}_6\text{O}_2\text{Zn}$  [ $\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{BBrN}_4\text{O}_2 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}$ ]: C, 51.05; H, 4.18; N, 8.71; found: C, 51.04; H, 4.46; N, 8.62.

### Complex 5.Zn

Following the general procedure, ligand **5** (80 mg, 0.15 mmol) and  $\text{ZnBr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (40 mg, 0.15 mmol) were used to prepare **5.Zn**, which obtained as a white crystalline powder; yield: 104.05 mg (91.68 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  10.52 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 9.15 (s, 2H), 8.94-8.92 (d, 2H), 8.75-8.72 (d, 3H), 8.39-8.30 (m, 4H), 8.25-8.20 (t, 1H), 7.97-7.93 (t, 2H), 7.72-7.70 (d, 2H), 7.49-7.46 (m, 3H), 6.11 (s, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  151.50, 149.42, 149.35, 148.38, 146.81, 141.34, 141.10, 139.00, 135.35, 135.24, 134.53, 132.35, 132.07, 129.98, 129.75, 129.50, 128.20, 128.01, 125.99, 124.96, 123.17, 64.27. Anal. Calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{29}\text{BBr}_3\text{N}_6\text{Zn}$  [ $\text{C}_{31}\text{H}_{23}\text{BrN}_4 + \text{ZnBr}_2 + 2\text{MeCN}$ ]: C, 50.12; H, 3.49; N, 10.02; found: C, 50.04; H, 4.51; N, 10.06.

### Crystallographic Investigations

The relevant details of the crystals, data collection and structure refinement can be found in Table S1. Data for **4.Zn** and **5.Zn** were collected on a Bruker APEX II CCD Diffractometer at 100 K, using  $\text{Cu-K}\alpha$  radiation ( $k = 1.54178 \text{ \AA}$ ) from an Incoatec ImuS source and Helios optic monochromator.<sup>[70]</sup> Suitable crystals were coated with hydrocarbon oil, picked up with a nylon loop, and mounted in the cold nitrogen stream of the diffractometer. The structures were solved by direct methods<sup>[71]</sup> and refined by full-matrix least-squares on  $F^2$  using the shelXle GUI.<sup>[72-73]</sup> The hydrogen atoms of the C–H and O–H bonds were placed in idealized positions, due was not possible to find the hydrogen atoms from O–H moiety in the map of residual density, and their position was refined with

$U_{iso} = aU_{eq}$  (where  $a$  is 1.5 for  $-CH_3$  and  $-OH$  moieties and 1.2 for others). The molecular graphics were prepared using Mercury-2020.1.<sup>[74]</sup> Crystallographic data for the two crystal structures have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre, nos. CCDC 2043138 – 2043139. X-ray crystallographic data in CIF format are available in Electronic Supplementary Information.

### **Spectrophotometric, $^1H$ and $^{11}B$ NMR titration experiments.**

The absorption spectra were recorded after additions of aliquots of L-DOPA stock solution to a buffered (40 mM, MOPS at pH= 7.4 and ionic strength of 50 mM NaCl) aqueous solutions of corresponding Zn(II)-complex (10  $\mu$ M) in a quartz cuvette placed in a compartment Cary 100 Agilent spectrophotometer thermostated at  $25 \pm 0.1$  C with a recirculating water bath.

NMR titration experiments were performed on a 300 and 500 MHz spectrometers for  $^1H$  and  $^{11}B$ , respectively.

$^1H$  NMR spectra were recorded after additions of aliquots of L-DOPA stock solutions to solutions of the corresponding Zn(II)-complex (5.0 M) in DMSO- $d_6$  directly to quartz NMR tubes.

In the cases of  $^{11}B$  NMR experiments, the spectra were recorded at 160 MHz. Aliquots of concentrated stock solution of L-DOPA were added to the corresponding Zn(II)-complex solutions directly to quartz NMR tubes.

### **Fluorimetric titration experiments**

Titration experiments were performed by adding aliquots of stock solutions of analytes to an buffered aqueous solution containing MOPS (40 mM at pH=7.4) of the corresponding Zn(II)-complex (10  $\mu$ M). In all these experiments the ionic strength was adjusted to 50 mM with NaCl.

After addition of analytes, the solution was equilibrated for 2 min at room temperature before recording the emission spectrum (excitation at 330 nm, 650 V) using a 10 mm quartz cuvette. The experimental data were fitted to corresponding equations (1) using non-linear least-squares regression with Microcal Origin 8.1 for 1:1 model.

The selectivity experiments were performed by adding aliquots of stock solutions of the respective analyte, final concentration of  $[X]_{final} = 100 \mu$ M, to buffered aqueous solutions containing MOPS (40 mM at pH=7.4) of the corresponding Zn(II)-complex (10  $\mu$ M) and the emission maximum intensities of each complex were recorded.

All spectrophotometric experiments were performed in triplicate, and the mean values are reported.

## Computational Details

All calculations were performed at the  $\omega$ B97XD/LANL2DZ level of theory with the Gaussian09 rev.E.01 suite of programs.<sup>[75]</sup> Natural Bond Orbitals (NBO) and derived population analyses were calculated with the NBO3.1 program as provided in the previously mentioned suite.<sup>[76]</sup>

## Author information

Corresponding Author \*A. D.-G. tel: +52-55-56224514, e-mail, [adg@unam.mx](mailto:adg@unam.mx)

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## Acknowledgements

We thank M. Sc. María de la Nieves Zavala Segovia, Chem. Eréndira García Rios, M. Sc. Lucero Mayra Ríos Ruiz, Chem. María de los Ángeles Peña González, Chem. María del Rocío Patiño Maya, M. Sc. Lucía del Carmen Márquez Alonso, M. Sc. Lizbeth Triana Cruz and Chem. María de la Paz Orta Pérez, Dra. Beatriz Quiroz-García for technical assistance. We thank PAPIIT-UNAM-216220 for financial support and DGTIC—UNAM for granting access to their computing facilities, ‘*Miztli*’. I. J. B.-R., M.K. S.-F and O. A V.P. are grateful to CONACyT for scholarships 577221, 848759 and 868013 respectively.

## Electronic Supplementary Information (ESI):

Cif files, crystallographic data for **4.Zn** and **5.Zn**. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>11</sup>B, NMR spectra, IR-ATR and MS for ligands and Zn(II)-complexes **1**, **2-5**, **2.Zn-5.Zn**. Fluorescence pH-titrations of **4.Zn**. CCDC 2043138 – 2043139

## References

### Recent Reviews [1-6]

- [1] Y. Ou, A. M. Buchanan, C. E. Witt, P. Hashemi, *Anal. Methods* **2019**, *11*, 2738–2755.
- [2] N. Chauhan, S. Soni, P. Agrawal, Y. P. S. Balhara, U. Jain, *Process Biochem.* **2019**, *91*, 241–259.
- [3] B. Si, E. Song, *Chemosensors* **2018**, *6*, 1–24.
- [4] J. Soleymani, *Trends Anal. Chem.* **2015**, *72*, 27–44.
- [5] T. Pradhan, H. S. Jung, J. H. Jang, T. W. Kim, C. Kang, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 4684–4713.
- [6] A. Prasanna de Silva, H. Q. Nimal Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515–1566.
- [7] T. Nagatsu, H. Ichinose, *Cell. Mol. Neurobiol.* **1999**, *19*, 57–66.
- [8] Y. Misu, Y. Goshima, T. Miyamae, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 262–268.
- [9] T. Suominen, P. Uutela, R. A. Ketola, J. Bergquist, L. Hillered, M. Finel, H. Zhang, A. Laakso, R. Kostianinen, *PLOS One* **2013**, *8*, 2–10.
- [10] S. D. Niyonambaza, P. Kumar, P. Xing, J. Mathault, P. De Koninck, E. Boisselier, M. Boukadoum, A. Miled, *Appl. Sci.* **2019**, *9*, 1–31.
- [11] P. Sótónyi, B. Merkely, M. Hubay, J. Járay, E. Zima, P. Soós, A. Kovács, I. Szentmáriay, *Toxicol. Sci.* **2004**, *77*, 368–374.
- [12] L. Wang, D. Su, S. N. Berry, J. Lee, Y. T. Chang, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 12465–12468.
- [13] J. E. Hardebo, C. Owman, *Ann. Neurol.* **1980**, *8*, 1–11.
- [14] K. J. Broadley, *Pharmacol. Ther.* **2010**, *125*, 363–375.
- [15] K. Hyland, P. T. Clayton, *Clin. Chem.* **1992**, *38*, 2405–2410.
- [16] J. Zhang, F. R. Qu, A. Nakatsuka, T. Nomura, M. Nagai, M. Nomoto, *Brain Res.* **2003**, *993*, 54–58.
- [17] P. C. Rodriguez, D. B. Pereira, A. Borgkvist, M. Y. Wong, C. Barnard, M. S. Sonders, H. Zhang, D. Sames, D. Sulzer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 870–875.
- [18] K. A. Kempadoo, E. V. Mosharov, S. J. Choi, D. Sulzer, E. R. Kandel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, *113*, 14835–14840.
- [19] C. G. Goetz, C. M. Macleod, P. M. Carvey, G. T. Stebbins, *Neurology* **1993**, *43*, 1040–1042.
- [20] K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3727–3730.
- [21] K. S. Hettie, T. E. Glass, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 17488–17499.
- [22] Y. Guo, J. Yang, X. Wu, A. Du, *J. Fluoresc.* **2005**, *15*, 131–136.
- [23] S. M. Wabaidur, Z. A. Alothman, S. M. Alam, S. H. Lee, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2012**, *96*, 221–225.
- [24] M. Yoshitake, H. Nohta, H. Yoshida, T. Yoshitake, K. Todoroki, M. Yamaguchi, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 920–927.
- [25] F. Zhu, J. Wang, S. Xie, Y. Zhu, L. Wang, J. Xu, S. Liao, J. Ren, Q. Liu, H. Yang, X. Chen, *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 12040–12048.
- [26] J. Dong, X. Li, S. B. Peh, Y. Di Yuan, Y. Wang, D. Ji, S. Peng, G. Liu, S. Ying, D. Yuan, J. Jiang, S. Ramakrishna, D. Zhao, *Chem. Mater.* **2019**, *31*, 146–160.
- [27] T. Imada, H. Kijima, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 2817–2826.
- [28] A. Coskun, E. U. Akkaya, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3107–3109.
- [29] Z. Wu, X. Yang, W. Xu, B. Wang, F. Hao, *Drug Discov. Ther.* **2011**, *6*, 238–241.
- [30] X. X. Chen, X. Wu, P. Zhang, M. Zhang, B. N. Song, Y. J. Huang, Z. Li, Y. B. Jiang, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 13630–13633.
- [31] W. Fang, C. Liu, F. Yu, Y. Liu, Z. Li, L. Chen, X. Bao, T. Tu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 20583–20590.
- [32] T. Tsukamoto, K. Takada, R. Sakamoto, R. Matsuoka, R. Toyoda, H. Maeda, T. Yagi, M. Nishikawa, N. Shinjo, S. Amano, T. Iokawa, N. Ishibashi, T. Oi, K. Kanayama, R. Kinugawa, Y. Koda, T. Komura, S. Nakajima, R. Fukuyama, N. Fuse, M. Mizui, M. Miyasaki, Y. Yamashita, K. Yamada, W. Zhang, R. Han, W. Liu, T. Tsubomura, H. Nishihara, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5359–5366.
- [33] H. Aït-Haddou, S. L. Wiskur, V. M. Lynch, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11296–11297.
- [34] I. J. Bazany-Rodríguez, M. K. Salomón-Flores, J. M. Bautista-Renedo, N. González-Rivas, A. Dorazco-



- González, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 7739–7751.
- [35] O. T. Ujam, O. E. Offie, P. O. Ukoha, A. G. Oliver, J. I. Ume, R. L. Stoddard, J. S. McIndoe, *J. Coord. Chem.* **2016**, *69*, 2807–2818.
- [36] A. Abdallah, S. Freslon, X. Fan, A. Rojo, C. Daiguebonne, Y. Suffren, K. Bernot, G. Calvez, T. Roisnel, O. Guillou, *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 462–475.
- [37] M. S. McCready, R. J. Puddephatt, *ACS Omega* **2018**, *3*, 13621–13629.
- [38] T. Hashemzadeh, M. A. Haghghatbin, J. Agugiario, D. J. D. Wilson, C. F. Hogan, P. J. Barnard, *Dalt. Trans.* **2020**, *49*, 11361–11374.
- [39] N. Gómez-Blanco, J. J. Fernández, A. Fernández, D. Vázquez-García, M. López-Torres, A. Rodríguez, J. M. Vila, *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*, 3597–3607.
- [40] G. Fang, H. Wang, Z. Bian, J. Sun, A. Liu, H. Fang, B. Liu, Q. Yao, Z. Wu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29400–29427.
- [41] S. Zhang, T. E. Glass, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 112–114.
- [42] T. Zhang, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1627–1629.
- [43] T. Zhang, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1649–1652.
- [44] A. R. Lippert, T. Gschneidtner, C. J. Chang, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 7510–7512.
- [45] S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, D. B. Cordes, M. M. Olmstead, R. A. Wessling, B. Singaram, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6321–6331.
- [46] R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 113–119.
- [47] A. Dorazco-González, M. F. Alamo, C. Godoy-Alcántar, H. Höpfl, A. K. Yatsimirsky, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 455.
- [48] S. W. Oh, J. W. E. Weiss, P. A. Kerneghan, I. Korobkov, K. E. Maly, D. L. Bryce, *Magn. Reson. Chem.* **2012**, *50*, 388–401.
- [49] J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- [50] R. Hosseinzadeh, M. Mohadjerani, M. Pooryousef, A. Eslami, S. Emami, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *144*, 53–60.
- [51] T. D. James, K. R. A. Samankumara Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1910–1922.
- [52] S. L. Wiskur, J. J. Lavigne, H. Ait-Haddou, V. Lynch, Y. H. Chiu, J. W. Canary, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1311–1314.
- [53] R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Talanta* **2005**, *65*, 762–768.
- [54] K. S. Hettie, X. Liu, K. D. Gillis, T. E. Glass, *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 918–923.
- [55] Z. Guo, I. Shin, J. Yoon, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5956–5967.
- [56] E. J. Jun, H. Liub, J. Y. Choi, J. Y. Lee, J. Yoon, *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, *176*, 611–617.
- [57] A. Chaicham, S. Sahasithiwat, T. Tuntulani, B. Tomapatnanaget, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9287–9289.
- [58] J. S. Anjali Devi, B. Aswathy, S. Asha, S. George, *J. Anal. Chem.* **2017**, *72*, 445–459.
- [59] C. F. Chow, H. K. Kong, S. W. Leung, B. K. W. Chiu, C. K. Koo, E. N. Y. Lei, M. H. W. Lam, W. T. Wong, W. Y. Wong, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 289–296.
- [60] J. Ruta, S. Perrier, C. Ravelet, J. Fize, E. Peyrin, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7468–7473.
- [61] Y. Guo, J. Yang, X. Wu, H. Mao, *Talanta* **2007**, *73*, 227–231.
- [62] H. L. Kwong, W. L. Wong, C. S. Lee, C. T. Yeung, P. F. Teng, *Inorg. Chem. Commun.* **2009**, *12*, 815–818.
- [63] G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291–5300.
- [64] S. L. Diemer, M. Kristensen, B. Rasmussen, S. R. Beeren, M. Pittelkow, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 21858–21872.
- [65] X. Chen, S. L. Chew, F. M. Kerton, N. Yan, *Green Chem.* **2014**, *16*, 2204–2212.
- [66] H. Nöth, B. Wrackmeyer, *J. Magn. Reson.* **1978**, *12*, III.
- [67] M. M. Rhaman, M. H. Hasan, A. Alamgir, L. Xu, D. R. Powell, B. M. Wong, R. Tandon, M. A. Hossain, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–11.
- [68] R. Kaushik, R. Sakla, A. Ghosh, S. Dama, A. Mittal, D. A. Jose, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 47587–47595.
- [69] P. P. Neelakandan, M. Hariharan, D. Ramaiah, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11334–11335.
- [70] *APEX 2 Softw. Suite. Bruker AXS Inc.; Madison, Wisconsin, USA, 2004.*

- [71] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* **2015**, *71*, 3–8.
- [72] C. B. Hübschle, G. M. Sheldrick, B. Dittrich, *J. Appl. Crystallogr.* **2011**, *44*, 1281–1284.
- [73] G.M. Sheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement; University of Göttingen, Germany, 1997*.
- [74] C. F. Macrae, I. Sovago, S. J. Cottrell, P. T. A. Galek, P. McCabe, E. Pidcock, M. Platings, G. P. Shields, J. S. Stevens, M. Towler, P. A. Wood, *J. Appl. Crystallogr.* **2020**, *53*, 226–235.
- [75] Gaussian 09, Revision E.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, **2013**.
- [76] NBO Version 3.1, E. D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold.