



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“MECANISMOS DE DETECCIÓN DE ANIONES Y CARBOHIDRATOS POR
RECEPTORES MOLECULARES BASADOS EN ÁCIDOS ARILBORÓNICOS CON
GRUPOS DONADORES EN POSICIÓN-ORTO”**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LUIS RAMÓN ORTEGA VALDOVINOS

TUTOR: DR. ANATOLI IATSIMIRSKI
FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA, Cd. Mx., ENERO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“MECANISMOS DE DETECCIÓN DE ANIONES Y
CARBOHIDRATOS POR RECEPTORES MOLECULARES
BASADOS EN ÁCIDO ARILBORÓNICOS CON GRUPOS
DONADORES EN POSICIÓN-ORTO”**

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

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. LUIS RAMÓN ORTEGA VALDOVINOS

**TUTOR: DR. ANATOLI IATSIMIRSKI
FACULTAD DE QUÍMICA**



Ciudad de México, ENERO 2023.

Jurado asignado

Presidente	Dr. Jesús Valdés Martínez	Instituto de Química, UNAM
Secretario	Dr. José Norberto Farfán García	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Vladimir Bassiouk Evdokimenko	Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM
Vocal	Dr. Hugo Morales Rojas	UAEMorelos
Vocal	Dr. Arturo Jiménez Sánchez	Instituto de Química, UNAM



TUTOR

Dr. Anatoli Iatsimirski
Facultad de Química UNAM

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio 213 de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, No. de apoyo 713086. No. de CVU 617479).

<<If sleep represents the high point of bodily relaxation, deep boredom is the peak of mental relaxation. A purely hectic rush produces nothing new. It reproduces and accelerates what is already available>>

Byung-Chul Han, *The Burnout Society*

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por las facilidades otorgadas para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Dr. Anatoli Iatsimirski por su excelente asesoría, su confianza, su conocimiento, apoyo motivación y sobre todo por convertirse para mí en ejemplo de investigador y persona.

A los integrantes del comité tutor, Dr. Braulio Víctor Rodríguez Molina y Dr. José Norberto Farfán García, por sus comentarios y sugerencias a lo largo de la realización del presente trabajo.

A los integrantes del jurado: Dr. Jesús Valdés Martínez, Dr. José Norberto Farfán García, Dr. Vladimir Bassiouk Evdokimenko, Dr. Hugo Morales Rojas, Dr. Arturo Jiménez Sánchez por sus observaciones y sugerencias en pro de la mejora del presente manuscrito.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de doctorado (No. de apoyo 713086. No. de CVU 617479)

Al Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM por las herramientas brindadas para la realización de este trabajo.

Al Programa de Apoyo a la Investigación y Posgrado (PAIP 5000-9042), y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica UNAM (PAPIIT-UNAM IN200722) por el apoyo financiero para llevar a cabo la investigación.

Agradezco a todo el personal de la Facultad de Química UNAM en especial a la M. Margarita Romero Ávila por su gran apoyo y asesoramiento en síntesis orgánica, que sin lugar a duda ayudó enormemente a la finalización de este trabajo. A la Dra. Paola Gómez-Tagle Chávez, por su consejo y apoyo en mi formación como docente y en el área de química inorgánica. Al Dr. Jorge Martín del Campo por el asesoramiento y tiempo en el área de química computacional.

A la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación y la Industria (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM, por los servicios otorgados.

Agradezco a mis amigos que formaron parte de esta etapa de mi vida, por sus consejos y apoyo; Carlos Lugo, Marlene Velasco, Luis Camacho, Fabian Ruiz, Caterine Daza.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio, y camaradas en este camino de crecimiento espiritual, Alejandra López, Elizabeth Alpizar, Mayte Martínez, Karla Trejo.

Agradezco a mis hermanos, Sofía Alejandra, Enrique Sebastián y María José que me acompañaron y apoyaron a lo largo de mi formación.

Finalmente agradezco a mis padres Luis Ramón Ortega Díaz, y María Alejandra Valdovinos Becerra, puesto que me brindaron apoyo y fortaleza en el desarrollo y transcurso de este, ayudándome a concluir satisfactoriamente este proyecto y durante toda mi carrera.

Presentaciones En Congresos

V Simposio Mexicano de Química Supramolecular, Tijuana, B. C., México. 24 al 26 de agosto de 2022. Presentación oral con el título: “ÁCIDOS BORÓNICOS COMO SITIO DE RECONOCIMIENTO PARA ANIONES”.

Congreso internacional de la Sociedad Química de México 2022, “Una Química: Muchas Voces” 29 de agosto del 2022, Mérida, Yucatán, México. Presentación oral con el título: Reconocimiento molecular de aniones por ácidos arilborónicos *orto*-sustituídos.

Artículos Publicados

“Anion recognition by anthracene appended ortho-aminomethylphenylboronic acid: a new PET-based sensing mechanism”; Luis Ramón Ortega-Valdovinos, Josue Valdes-García, Iván J. Bazany Rodríguez, José Carlos Lugo-González, Alejandro Dorazco-González and Anatoly K. Yatsimirsky; *New J. Chem.* **2021**, 45, 15618. DOI: 10.1039/d1nj02684d



“Anion Recognition by Benzoxaborole”; Mayte A. Martínez-Aguirre, Luis Ramón Ortega-Valdovinos, Raúl Villamil-Ramos and Anatoly K. Yatsimirsky; *J. Org. Chem.* **2022**, 87, 12, 7734.

DOI: 10.1021/acs.joc.2c00324



Símbolos y Abreviaturas

K_a	Constante de acidez
K_{obs}	Constante de equilibrio observada
K_{trig}	Constante de equilibrio para especie trigonal
K_{tet}	Constante de equilibrio para especie tetragonal
PET	Transferencia de Electrones Fotoinducida - <i>Photoinduced electron transfer</i>
HOMO <i>Orbital</i>	Orbital Molecular Ocupado de más Alta Energía - <i>Highest Occupied Molecular</i>
LUMO <i>Orbital</i>	Orbital Molecular Vacante de más Baja Energía - <i>Lowest Unoccupied Molecular</i>
PI	Potencial de Ionización
EA	Afinidad Electrónica
Å	Ångström
Abs	Absorbancia
BOX	Benzoxaborol
Au	Unidades atómicas
°C	Grados Celsius
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino)etanosulfónico
cps	Cuentas por segundo
δ	Desplazamiento químico
DMSO	Dimetil sulfóxido
THF	Tetrahidrofurano
Eq	Equivalente
λ	Longitud de onda
M	Molar
MHz	Megahertz
μ M	Micromolar
mM	Milimolar

MOPS	Ácido 3-morfolinopropanosulfónico
nm	Nanómetros
pH	Cologaritmo de la concentración de iones protio
pD	Cologaritmo de la concentración de iones deuterio
pK _a	Cologaritmo de la constante de acidez
pK _w	Cologaritmo de la constante de autoionización del agua
w ^S pH	Valores de pH medidos experimentalmente
s ^S pH	Valores de pH calculados para mezclas de disolventes
ppm	Partes por millón
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protón ¹ H
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono ¹³ C
RMN ¹¹ B	Resonancia Magnética Nuclear de boro ¹¹ B
UV-Vis	Espectroscopia ultravioleta-visible

Índice

Abstract	1
Resumen	3
1 Introducción	5
2 Antecedentes	10
2.1 PET	10
2.1.1 Receptores basados en PET	11
2.2 Ácidos borónicos orto-sustituidos	12
2.2.1 Interacciones B-N en ácidos borónicos orto-amino sustituidos y sus derivados	13
2.2.2 El mecanismo original de Shinkai-James del funcionamiento del receptor	16
2.2.3 Switch de pK _a .	17
2.3 Enlace N–B vs Zwitterión	19
2.3.1 Análisis Fotofísico	19
2.3.2 Evidencias por RMN de ¹¹ B	22
2.3.3 Inserción del disolvente y Mecanismo de formación de ésteres borónico de	23
2.4 Mecanismo de agregación y desagregación	25
2.5 “Loose bolt”	28
2.6 Ácidos fenilborónicos como receptores de aniones	30
2.7 Benzoxaborol (BOX)	33
3 Hipótesis	35
4 Objetivos	35
4.1 Objetivo principal	35
4.2 Objetivos particulares	35
5. Metodología	36
5.1 Reactivos	36
5.2 Mediciones de pH.	37
5.3 Espectrofotometría UV-VIS y fluorescencia.	37
5.4 Resonancia magnética nuclear.	38
5.4.1 Titulaciones de RMN.	38
5.5 Difracción de rayos X de monocristal.	39
5.6 Síntesis de receptores.	39
5.7 Cálculos computacionales.	42
6. Resultados y discusión	43
6.1 Síntesis de moléculas receptoras	43

6.2 Identificación de 3 por RMN	45
6.2.1 RMN de ^1H	45
6.2.2 HSQC	46
6.3 Recepción de carbohidratos	48
6.3.1 Comportamiento de 1 en MeCN/agua	48
6.3.2 Efecto isotópico del disolvente en 1	54
6.3.3 Comportamiento de 1 en metanol	56
6.3.4 Comportamiento del receptor 3	59
6.3.5. Mecanismo de funcionamiento de 1 como sensor	64
6.4 Recepción de aniones con 1	69
6.4.1 Reconocimiento de mono y dianiones de ácidos dicarboxílicos y tendencias generales en la estabilidad de complejos aniónicos de 1	76
6.5 Benzoxaborol como receptor de aniones	81
7. Conclusiones	87
8. Referencias	90
9. Apéndice	95

Abstract

ortho-aminomethylphenylboronic acids are used in receptors for carbohydrates, diols, anions, etc. The acid (2-(((anthracen-9-ylmethyl)(methyl)amino)methyl)phenyl)boronic acid **1** has been used as a model for multiple sensors, however the postulates of its operation have not been able to fully explain the turn-on effect of fluorescence in the presence of monosaccharides and the performance by the nitrogen atom in this type of sensors. To explain this signaling mechanism, spectroscopic studies of **1** were carried out in mixtures of acetonitrile-water and methanol-water solvents, as well as their analogues **2** (which absence the boronic group) and **3** (which has the nitrogen blocked). In the empirical study were taken considered the structure of different diols, the effects that the pH may have, as well as the solvent. pH changes in **2** show the influence of the nitrogen electron pair to induce PET, while the experiments with **3** show an inverse pH profile, while the experiments with fructose show that despite the existence of "loose bolt" this cannot be the main effect of receptor **1** as a sensor. The study of **1** with different proportions of water in methanol shows an inverse behavior to the profile proposed by the "loose bolt" theory, being that in methanol there is a partial quenching of fluorescence. These experiments demonstrate the importance of the hydrogen bond $-B(OH)_3 \cdots HN^+$ which can modulate fluorescence depending on whether the anion is derived an ester or a boronic acid. If the hydrogen bond is strong, as is the case with free receptor **1**, this will make the pair of nitrogen electrons more available, allowing a quenching the fluorescence by a photoinduced electron transfer (PET). Whereas, if the hydrogen bond is weak, as is the case with boronic esters, the pair of electrons remains fixed in the N^+H bond, which is perceived as a fluorescence turn-on.

Considering the importance of hydrogen bonds in the previous signaling mechanism, we were decided to study **1** as a receptor for different anions in aprotic media, researching its behavior by fluorescence, 1H and ^{11}B NMR titrations in DMSO. Carboxylate, phosphate, and sulfate anions form hydrogen bonds complexes with the $-B(OH)_2$ group producing strong turn-off fluorescence responses attributed to the enhanced photoinduced electron transfer (PET) resulted from the removal of intramolecular hydrogen bonding, between boronic acid and the amino groups of **1**. The logarithms of the binding constants for most anions correlate linearly with the pK_a of their conjugate acids, except for sulfate and hydrogenoxalate showing strong positive deviations. The abnormally strong binding of the monobasic oxalate is attributed to the formation of the covalent cyclic ester. In the $HOOC-R-COO^-$ dicarboxylic acid monoanion series, the malonic acid monoanion induces a strong opposite activating effect, demonstrating the ability of **1** to act as a ditopic receptor through simultaneous binding of basic groups and acids of the host with the boronic acid and the amino group of the receptor respectively. The results of this study demonstrate the possibility of a successful manipulation of the efficiency of the PET produced by the aminomethyl group attached to the anthracene by guest hydrogen bonding, in addition to the known metal coordination and protonation effects.

For as much as boronic acids can function as anion receptors by hydrogen bonds, or by direct insertion into the boron atom, we were decided to research the reactivity of benzoxaborole (**BOX**)

with 11 mono- and di-charged anions have been studied by ^1H and ^{11}B NMR titrations in acetonitrile and DMSO. **BOX** has a donor atom in the *ortho*-position, but it is directly bonded to the B(III) atom, although **BOX** is a stronger Lewis acid and a poorer hydrogen bond donor because it has only one group B-OH. This is the case however only with CN^- and PhPO_3^{2-} anions, which are H-bonded to phenylboronic acid, but covalently bonded to **BOX**, and partially with SO_4^{2-} , which forms only the H-bonded complex with phenylboronic acid, but both H-bonded and covalent complexes with **BOX**. Fluoride forms covalent complexes, but majority of anions (Br^- , Cl^- , AcO^- , PhPO_3H^- , $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$) form H-bonded complexes with both **BOX**, even H_2PO_4^- prefers to interact by hydrogen bonds than acid phenylboronic which prefers the Lewis-type binding mode. The preferable type of BOX binding with anions such as acetate, chloride and sulfate are confirmed by DFT calculations. Analysis of the trends in the affinity of the anion for BOX shows that steric hindrance is much more important for covalent bonds than for hydrogen bonds and that the higher basicity of the anion is favorable for both types of bonds. This opens a new path for the use of bensoxaboroles as a recognition site for anions.

Resumen

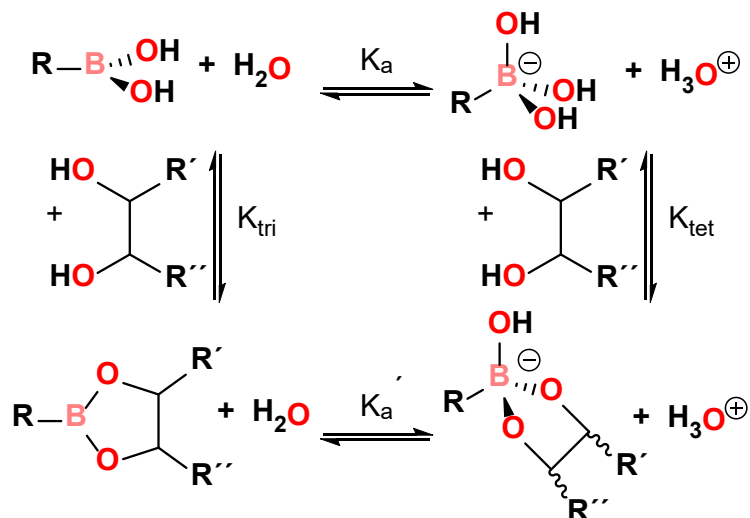
Los ácidos o-aminometilfenilborónicos son utilizados como receptores para carbohidratos, dioles, aniones, etc. El ácido (2-(((antracén-9-ilmetil)(metil)amino)metil)fenil)borónico **1** se ha utilizado como modelo de múltiples sensores, sin embargo los postulados de su funcionamiento no han logrado explicar completamente el efecto de "encendido" de la fluorescencia en presencia de monosacáridos y mucho menos el papel que juega el átomo de nitrógeno en este tipo de sensores. Para poder explicar este mecanismo de señalamiento se realizaron estudios espectroscópicos de **1** en mezclas de disolventes acetonitrilo-agua y metanol-agua, así como a sus análogos **2** (el cual carece del grupo borónico) y **3** (que tiene el nitrógeno bloqueado). En el estudio empírico se tomo en cuenta la estructura de diferentes dioles, los efectos que pueda tener el pH, así como el medio. Los cambios de pH en **2** muestran la influencia que tiene el par de electrones del nitrógeno para inducir PET, mientras que los experimentos con **3** muestran un perfil de pH inverso, mientras que los experimentos con fructosa muestran que a pesar de la existencia de "loose bolt" este no puede ser el efecto principal del receptor **1** como sensor. El estudio de **1** con diferentes proporciones de agua en metanol muestra un comportamiento inverso al perfil propuesto por la teoría de "loose bolt", siendo que en metanol puro hay un apagamiento parcial de la fluorescencia. Estos experimentos demuestran la importancia del enlace de hidrógeno -B(OH)₃⁻...HN⁺- el cual se puede modular dependiendo si el anión es de un éster o un ácido borónico. Si es enlace de hidrógeno es fuerte, como es el caso del receptor **1** libre, este dejara con mayor disponibilidad el par de electrones del nitrógeno permitiendo un apagamiento por una transferencia de electrón fotoinducida (PET). Mientras que, si el enlace de hidrógeno es débil, como es el caso de los ésteres borónicos, el par de electrones se queda fijo en el enlace N⁺-H, lo que se percibe como un encendido de la fluorescencia.

Observando la importancia de los puentes de hidrógeno en el mecanismo de señalamiento anterior, se decidió probar a **1** como receptor de distintos aniones en medios apróticos, estudiando su comportamiento por fluorescencia, RMN de ¹H y ¹¹B. Se observó que los aniones carboxilato, fosfato y sulfato forman complejos por enlaces de hidrógeno con el grupo -B(OH)₂ que produce una fuerte respuesta de apagado en la fluorescencia atribuida a un mejoramiento en PET resultado de la eliminación del enlace de hidrógeno intramolecular entre el ácido borónico y los grupos amino de **1**. Los logaritmos de las constantes de unión para la mayoría de los aniones se correlacionan linealmente con el pK_a de sus ácidos conjugados, exceptuando el sulfato y el oxalato monobásico muestran fuertes desviaciones positivas. La unión anómalamente fuerte del oxalato monobásico se atribuye a la formación del éster cíclico covalente. En la serie de monoaniones de ácidos dicarboxílicos HOOC-R-COO⁻, el monoanión del ácido malónico induce un fuerte efecto de activación opuesto, lo que demuestra la capacidad de **1** para actuar como receptor ditípico a través de la unión simultánea de grupos básicos y ácidos del huésped con al ácido borónico y el grupo amino del receptor respectivamente. Los resultados de este estudio demuestran la posibilidad de una manipulación exitosa de la eficiencia del PET producido por el grupo aminometilo unido al antraceno por el enlace de hidrógeno invitado, además de los conocidos efectos de coordinación de metales y protonación.

Observando que los ácidos borónicos pueden funcionar como receptor de aniones por puentes de hidrógeno, o por inserción directa al átomo de boro, se decidió probar la reactividad del benzoxaborol (**BOX**) con 11 aniones mono- y dicargados, esto a partir de estudios por RMN de ^1H y ^{11}B . El **BOX** al tener un átomo donador en posición orto- pero que esta enlazado a su vez directamente con el átomo de boro (III), aunque **BOX** es un ácido de Lewis más fuerte y un donante de enlaces de hidrógeno más pobre porque posee solo un grupo B-OH, solo con CN^- y PhPO_3^{2-} cambia su modo de unión de enlaces de hidrógeno con el ácido fenilborónico a covalente con **BOX**. Esto sucede parcialmente con SO_4^{2-} , ya que **BOX** forma complejos tanto de tipo Brønsted como de Lewis, con estabilidad similar. El fluoruro forma complejos de tipo Lewis, pero la mayoría de los aniones (Br^- , Cl^- , AcO^- , PhPO_3H^-) forman un complejo de tipo Brønsted con **BOX**, incluso con H_2PO_4^- prefiere interactuar por enlaces de hidrógeno a diferencia del ácido fenilborónico que prefiere el modo de unión del tipo Lewis. El tipo preferible de unión de **BOX** con aniones como acetato, cloruro y sulfato se confirman mediante cálculos DFT. El análisis de las tendencias en la afinidad del anión con **BOX** muestra que el impedimento estérico es mucho más importante para los enlaces covalentes que para los enlaces de hidrógeno y que la mayor basicidad del anión es favorable para ambos tipos de enlaces. Esto abre una nueva vertiente para el uso de benzoxoboroles como sitio de reconocimiento para aniones.

1 Introducción

Los ácidos borónicos se usan ampliamente para el reconocimiento molecular de carbohidratos y otras moléculas que contienen en sus estructuras fragmentos 1,2- o 1,3-dioles, con los cuales se forman ésteres borónicos cíclicos estables en medio acuoso.^{1,2} (Esquema 1)



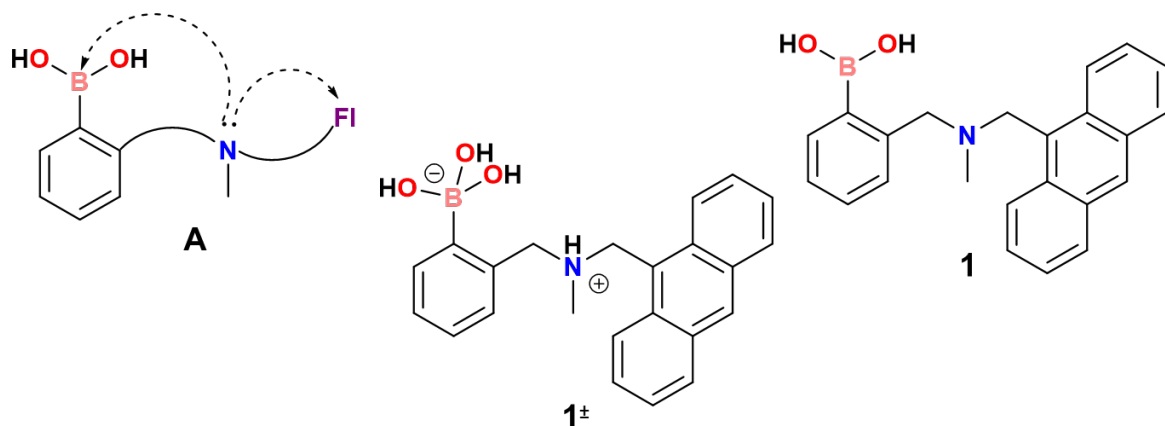
Esquema 1. Formación rápida y reversible de ésteres borónicos cíclicos

Para la detección de carbohidratos típicamente se emplean ácidos arilborónicos debido a su mayor estabilidad y acidez en comparación de los alquilborónicos, mayor facilidad de modificación química y posible uso del fragmento aromático para generar la respuesta óptica (absorbancia o fluorescencia) en el proceso de formación de éster.^{3,4}

Entre numerosos diseños de receptores borónicos propuestos a la fecha destacan receptores del tipo **A** que involucran un fluoróforo (**FI**) unido al ácido borónico mediante un puente con un átomo donador ubicado en posición *orto*. El átomo donador sirve por dos propósitos: por un lado, la interacción con el grupo borónico que dependiendo del medio y del tipo de grupo donador puede coordinarse al átomo de boro convirtiéndolo de sp^2 a sp^3 , o formación del enlace de hidrógeno como el aceptor del protón del grupo B-OH sin cambio de hibridación, o inducir ionización con la formación de un par iónico intramolecular por la inserción de una molécula de agua, y por otro lado inducir la modificación de la intensidad de fluorescencia del fluoróforo por la transferencia de electrón fotoinducida conocida como PET (Photoinduced Electron Transfer).^{5,6}

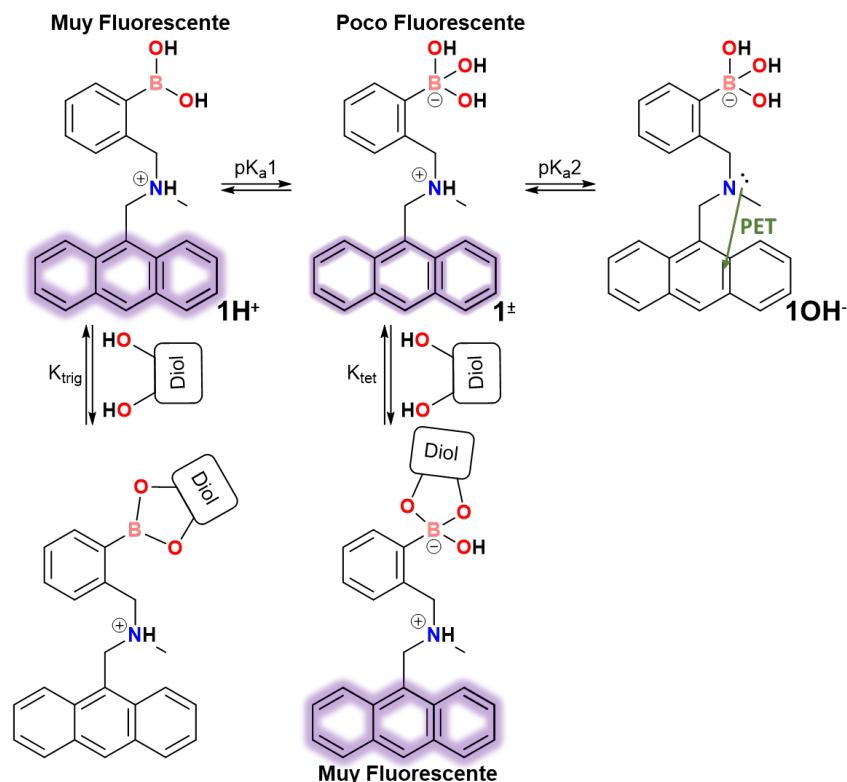
En el Esquema 1 típicamente $K_{tet} \gg K_{tri}$, es decir el éster estable se forma cuando el boro tiene una geometría tetraédrica (sp^3) que normalmente requiere la adición de hidróxido, por lo que es necesario el uso de altos valores de pH. La coordinación de

nitrógeno en principio permite lograr tener al átomo de boro con una geometría tetraédrica y así permitir formación de un éster en una disolución con pH neutro. Por otro lado, se sabe que la acidez de Lewis del boro incrementa al convertir el ácido borónico en un éster trigonal cíclico.^{1,7} Entonces se espera que la formación del éster fortalezca la interacción B-N, eliminando el efecto PET y por lo tanto aumenta la fluorescencia del receptor.



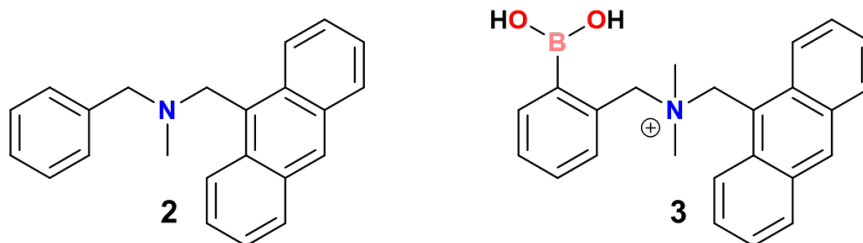
El receptor prototipo **1** con antraceno como fluoróforo fue reportado por el grupo de Shinkai⁷ y sirvió como una inspiración para diseño de numerosos receptores de este tipo. Sin embargo, los estudios más recientes muestran que el mecanismo original de su funcionamiento no puede ser correcto. El problema es que en medios práticos (agua, metanol) los ácidos *orto*-metilamino borónicos se encuentran en forma zwitterionica,^{8,9} es decir que en el caso de **1** su estructura real en disolución acuosa es **1[±]**, y la formación del éster no puede afectar la fluorescencia por efectos PET, porque el nitrógeno ya se encuentra protonado.

La mayor dificultad en la interpretación del efecto de variación de la fluorescencia observado en la unión de polioles a **1** en disoluciones acuosas neutras consiste en cómo los equilibrios para la disociación ácida de **1** y las estructuras de sus formas iónicas se acoplan con el equilibrio para la formación del éster borónico y de esta manera generar cambios en la intensidad de fluorescencia (esquema 2)



Esquema 2. Equilibrios de la disociación ácida de **1** junto con el equilibrio para la formación del éster de borónico y los cambios en la intensidad de la fluorescencia.

Debido a la gran importancia de los receptores de este tipo, la interpretación correcta del funcionamiento del receptor **1** es necesaria para el diseño racional de nuevos receptores. Por el momento hay varias hipótesis propuestas.¹⁰⁻¹³ La hipótesis más radical es la propuesta por Anslyn y colaboradores donde proponen que el aumento de fluorescencia de **1** en presencia de fructosa no está asociado a la formación de un éster y se debe a la desagregación de **1** que se encuentra agregado por efectos hidrofóbicos.¹¹ En acuerdo con esto los autores observan un aumento de fluorescencia del receptor **2** sin el grupo borónico en presencia de fructosa a ciertas condiciones.



Sin embargo, el efecto no fue comprobado con otros azúcares y fue observado en condiciones poco prácticas: en una disolución de 33% metanol acuoso no amortiguada, a pesar de que el control de pH es indispensable para el funcionamiento del receptor **1**. La

hipótesis más reciente propone que es irrelevante la presencia del átomo donador,^{10,13} y el cambio de fluorescencia se debe a un mecanismo de "loose bolt" realizado por la interacción directa entre fluoróforo y boronato, pero esto contradice a los resultados reportados con sistemas análogos.^{14,15} La importancia sobre el entendimiento del papel que juega el átomo de nitrógeno no ha sido estudiada desde la perspectiva de su papel como base de Lewis, por lo que el uso de un análogo de **1** pero inactivando este par de electrones, lo que se realiza en el receptor como **3**, que podría ayudar a la elucidación del mecanismo de fluorescencia. Uno de los objetivos de esta tesis es el análisis detallado de los mecanismos formulados anteriormente y la elaboración de una nueva versión del mecanismo basado en PET que permita la interpretación más adecuada del comportamiento del receptor **1** y sus análogos.

Otra área de aplicaciones de ácidos borónicos como sensores, es su uso para reconocimiento molecular de aniones. Los aniones tienen un enorme impacto en nuestra vida. Dentro de nuestro propio cuerpo, el portador de nuestra información genética, el ADN es aniónico, al igual que la mayoría de los sustratos y cofactores enzimáticos (por ejemplo, ATP). Entre los haluros, el cloruro se encuentra en el líquido extracelular, y su mala regulación está relacionada con enfermedades como la fibrosis quística,¹⁶ el yoduro es necesario para la biosíntesis de hormonas en la glándula tiroides,¹⁷ mientras que el fluoruro es parte esencial para la salud ósea, y el crecimiento de los dientes, lo que ha llevado a la (a veces controvertida) fluoración de los suministros de agua.¹⁸ En el caso de otro tipo de aniones, está bien establecido que el bicarbonato es vital para la regulación del pH en el cuerpo, mientras que el cianuro es altamente tóxico. Ciertos aniones tienen un efecto adverso sobre el medio ambiente a nuestro alrededor. El nitrato y el sulfato son componentes clave en la producción de lluvia ácida.¹⁹ Uso excesivo de fosfatos y los nitratos en los fertilizantes ha provocado la eutrofización de las vías fluviales.²⁰ Incluso actualmente en México se tiene una seria preocupación por el uso de glifosato como herbicida en los cultivos.²¹ El pertecnetato (un subproducto del reprocesamiento de combustible nuclear)²² y perclorato (procedente de la fabricación de explosivos)²³ son dos ejemplos más de contaminación antropogénica, mientras que el arseniato es sumamente nocivo para el medio ambiente.²⁴ En resumen, ha habido, y hay, una motivación considerable para investigar la unión y detección de especies aniónicas.

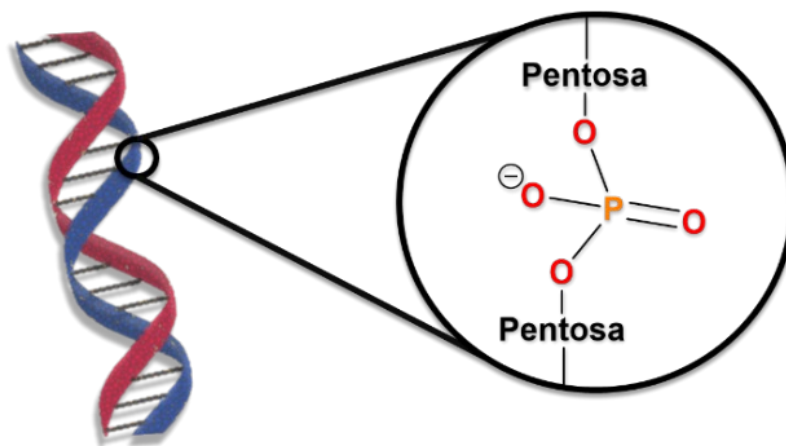


Figura 1. El grupo fosfato en el ADN es lo que le da su carácter aniónico

Los ácidos borónicos se utilizan a menudo como componentes de sensores de aniones.^{25,26} Los receptores más exitosos se han desarrollado para el fluoruro, que demuestra una alta afinidad por el boro (III) incluso en disolventes próticos,²⁷⁻²⁹ pero el reconocimiento de otros aniones también atrae la atención. Recientemente, se han empleado derivados del ácido pirenilborónico para la construcción de una matriz quimiosensorial para la detección por fluorescencia de un gran conjunto de aniones de diferentes tipos (carboxilatos, fosfatos y fluoruro) en una disolución de DMSO.³⁰ Los aniones añadidos produjeron efectos inespecíficos de extinción o mejora de la fluorescencia a pequeña escala.

Por otro lado, se ha demostrado que los ácidos borónicos reconocen aniones en disolventes apróticos como ácidos de Lewis a través de la coordinación directa de un anión al centro de boro (III) o como donantes de protones a través del enlace de hidrógeno de un anión con el grupo $B(OH)_2$. El primer modo se observa con los aniones fluoruro y fosfato, el segundo es característico de los aniones carboxilato y haluro.³¹ El modo de enlace de hidrógeno se aprovechó en el diseño de varios receptores de aniones reportados recientemente^{32,33} y fue objeto de una investigación teórica en profundidad.³⁴

Los receptores del tipo **A** tienen un potencial todavía no explorado a funcionar como sensores de aniones ya que la interacción del anión con el ácido borónico puede afectar su interacción con el nitrógeno y posteriormente transmitirse en una señal óptica por la modificación del PET con antraceno. Uno de los objetivos de la tesis demostrar la posibilidad de detectar aniones mediante el receptor **1** y elaboración del mecanismo de su funcionamiento.

2. Antecedentes

2.1 PET

La fotoquímica ha logrado reconocer que ciertas moléculas en fotoexcitación se convierten en poderosos donantes o aceptores de electrones que permiten la transferencia de electrones entre grupos químicos o especies, que en su estado basal no les fuera posible. Este fenómeno es conocido como transferencia de electrones fotoinducida (PET), la cual ha atraído el interés de químicos de muchos campos. Por ejemplo, en química orgánica a través de PET se han descubierto vías novedosas para la síntesis de nuevas moléculas,^{35,36} además de ser ampliamente usado en el reconocimiento molecular.^{37,38}

Debido a que en el estado excitado se promueve un electrón a un orbital antienlazante (a menudo el LUMO), lo que provoca que en este estado disminuya el potencial de ionización (PI) significativamente en comparación con el estado basal. Además, es más fácil oxidar un estado excitado debido a que el electrón que se va a eliminar está en un orbital de mayor energía, por lo que se considera, que el estado excitado es un buen donante. Por otra parte, hay acceso a una vacante en el orbital de menor energía del que se extrajo el electrón excitado, por lo tanto, el estado excitado tiene una afinidad electrónica (EA) más alta y por consecuencia, es un mejor aceptor que el estado basal.

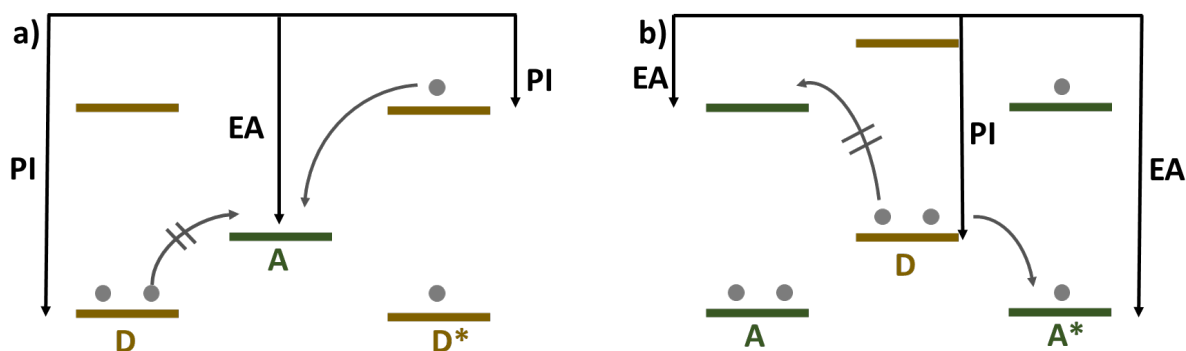


Figura 2. La viabilidad de PET está dictada por las energías relativas de los electrones donantes y aceptores. En esta imagen simplificada de orbitales, los electrones que ocupan los orbitales pueden moverse a orbitales aceptores dependiendo de sus potenciales de ionización (PI) y afinidades electrónicas (EA).

Por lo tanto, una molécula en el estado excitado baja tanto su potencial oxidante como el de reducción. Esto significa que en los estados excitados se pueden sufrir transferencias de electrones, aceptando electrones de estados fundamentales que tienen un HOMO más alto, y transfiriendo electrones a estados fundamentales que tienen un LUMO más bajo. Ambos o alguno de los procesos conducen a la extinción de la fluorescencia. Esto se muestra esquemáticamente en la figura 2. En el inciso a, el estado excitado transfiere un electrón al estado fundamental de otra molécula, mientras que en el inciso b, una molécula en estado fundamental transfiere un electrón al estado excitado. Ambos escenarios son ejemplos de transferencias de electrones fotoinducidas.

2.1.1 Receptores basados en PET

PET ocupa un lugar importante entre otros mecanismos de modulación de la señal fluorescente empleados para el diseño de sensores³⁹ y los sensores basados en PET son temas de las revisiones periódicas.^{40,41} La figura 3 presenta uno de los diseños más populares de los receptores basados en PET llamado “receptor – espaciador – fluoróforo” que está al fondo del funcionamiento del sensor **1**. Los receptores de este tipo responden a la presencia de especies electrofílicas, tales como protones y cationes metálicos.

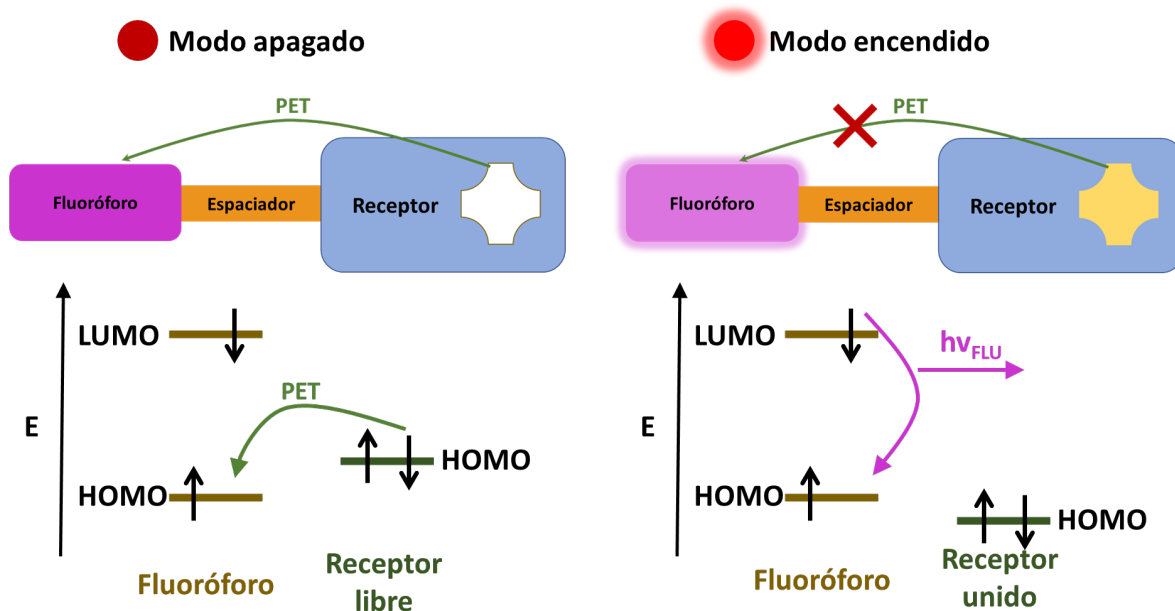


Figura 3. El sistema receptor – espaciador – fluoróforo en estados “off” (apagado) y “on” (encendido) con el diagrama de energías de orbitales de frontera.³⁹ El símbolo representa un ácido de Lewis (protón, catión metálico, átomo de boro).

Típicamente el orbital HOMO del receptor que produce PET apagando la fluorescencia del sensor libre (modo apagado figura 3) pertenece a un par de electrones no compartidos de un átomo de nitrógeno. Su protonación o coordinación disminuye la energía de orbital por abajo del HOMO del fluoróforo eliminando la posibilidad de PET (modo encendido figura 3) y así permitiendo la emisión de luz por el regreso del electrón excitado del LUMO a HOMO del fluoróforo. Eliminación de PET por la protonación de metilamino derivados de antraceno y algunos otros fluoróforos con frecuencia se usan para determinación de pH. Un ejemplo típico que también sirve como una ilustración de la magnitud del efecto PET esta presentado en la figura 4.

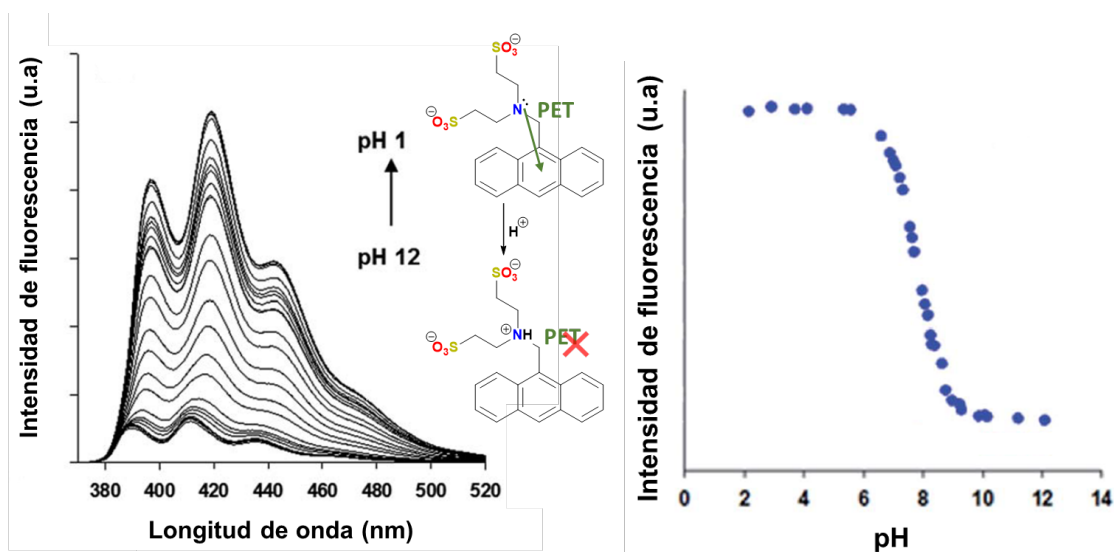


Figura 4. Sensor de pH basado en el efecto PET.⁴²

2.2 Ácidos borónicos orto-sustituidos

Hace 60 años Lorand,²⁷ y posteriormente Wulff,^{43,44} comenzaron a estudiar los efectos que tenían diferentes orto-sustituyentes en los ácidos fenilborónicos al interactuar con distintas especies de dioles. Además, se han encontrado aplicaciones muy interesantes de este tipo de compuestos, como es el caso de los ácidos orto-haloborónicos los cuales pueden promover reacciones de acoplamiento de amidas a temperatura ambiente, e incluso hacerlo de manera consecutiva catalizando de igual manera reacciones de cicloadición de Diels-Alder.⁴⁵ Otro ejemplo es su uso como agentes antimicrobianos^{46,47} y antifúngicos^{48,49}.

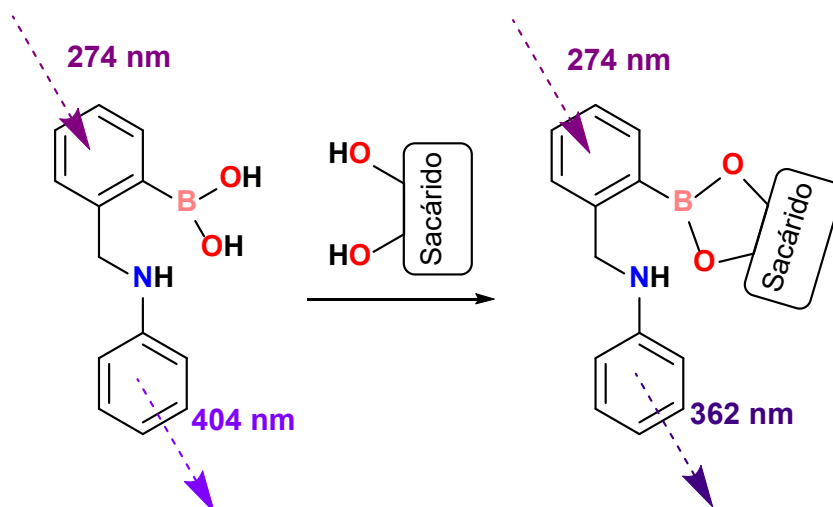


Figura 5. Modulación de la longitud de onda en presencia de sacáridos en el ácido (2-((fenilamino)metil)fenilborónico⁵⁰

Uno de sustituyentes más atractivos es el grupo aminometilo en posición orto con respecto al ácido borónico, ya que promueve la unión con dioles a pH neutro.⁵⁰ Desde el inicio de esta exploración, muchos grupos han incorporado ácidos o-aminometilfenilborónicos en una variedad de receptores químicos con la intención de mejorar la afinidad, ajustar la selectividad, cambiar el rendimiento cuántico y/o modular la longitud de onda de emisión (figura 5).^{11,50-53} Mediante la exploración de ácidos o-aminometilfenilborónicos unidos a diferentes grupos fluoróforos, se han sintetizado una serie de sondas de fluorescencia usadas en la detección gráfica de carbohidratos y glicoproteínas en superficies celulares.^{53,54} Una de las aplicaciones prácticas más relevantes es la de GlySure que ha desarrollado un sistema sensor de monitoreo continuo de glucosa intravascular elaborado con fibra óptica totalmente funcional para el control de la glucosa en pacientes en unidades de cuidados intensivos.⁵⁵

2.2.1 Interacciones B-N en ácidos borónicos orto-amino sustituidos y sus derivados

En los estudios tempranos fue establecido que la cinética de interconversión de ácido borónico a éster, es mayormente favorecida cuando el boro es tetraédrico, lo que ocurre en medios acuosos básicos. Wulff⁵⁶ ha demostrado que puede interactuar la piperidina y quinuclidina con ésteres fenilborónicos cíclicos, formando interacciones B-N, mientras que no se observa interacción en presencia de piridina y trietilamina. Además, se observó que

este equilibrio de formación y disociación de los complejos es bastante rápido en comparación a la escala de tiempo de RMN, incluso a temperaturas bajas.

Un aspecto clave en el funcionamiento del receptor **1** es el tipo de la interacción dominante entre los grupos de ácido borónico o su éster, y amino. Inicialmente para todos los derivados del ácido fenilborónico con sustituyentes orto-metilamino, incluyendo **1**, fue considerado que el único tipo de interacción es la formación del enlace donador-aceptor N–B. Sin embargo, en estudios más recientes fue establecido que la situación es mucho más complicada y dependiendo del tipo de boronato (ácido libre o éster) y medio (prótico o aprótico) son posibles cuatro situaciones: el enlace donador-aceptor B–N, un enlace de hidrógeno BOH...N, par iónico (puente de hidrógeno iónico) $B(OH)_3^- \cdots ^+HN$ y una molécula neutra sin interacción entre B y N (Figura 6).

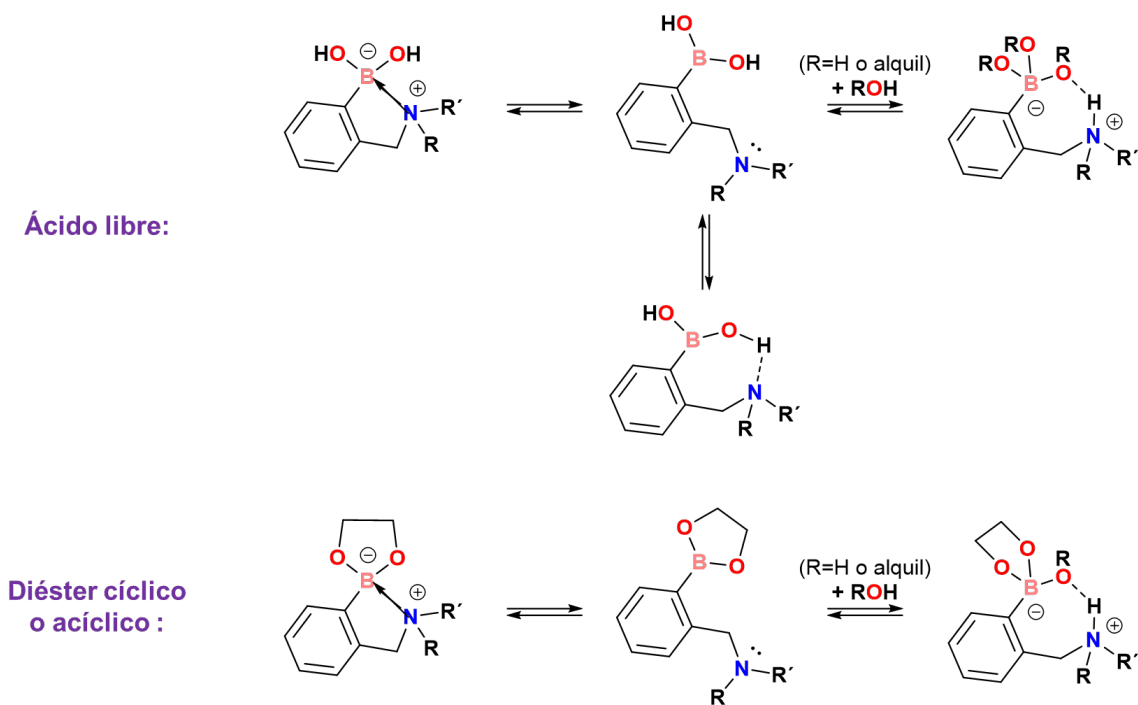


Figura 6. Posibles estructuras de ácidos borónicos o sus ésteres con grupos orto-metilamino

Algunos ejemplos de estas estructuras encontrados por difracción de rayos X de monocristales están en la Figura 7.

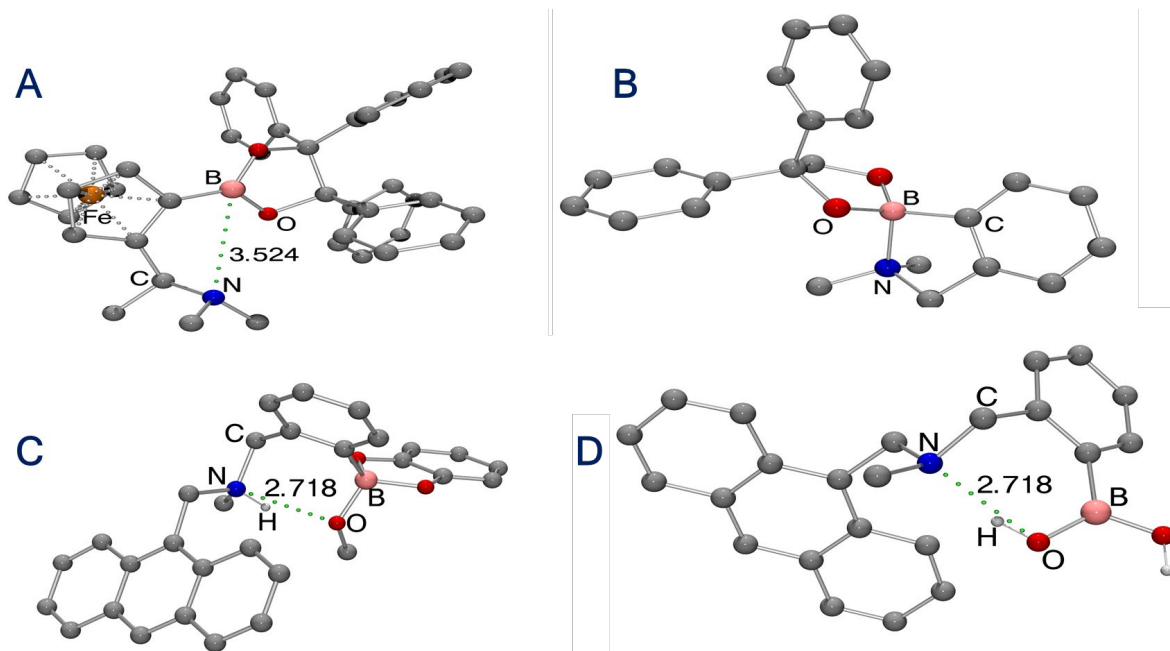


Figura 7. Estructuras representativas de ácidos borónicos o sus ésteres orto-amino sustituidos, omitiendo hidrógenos y señalando las distancias de interacciones no covalentes en Å.

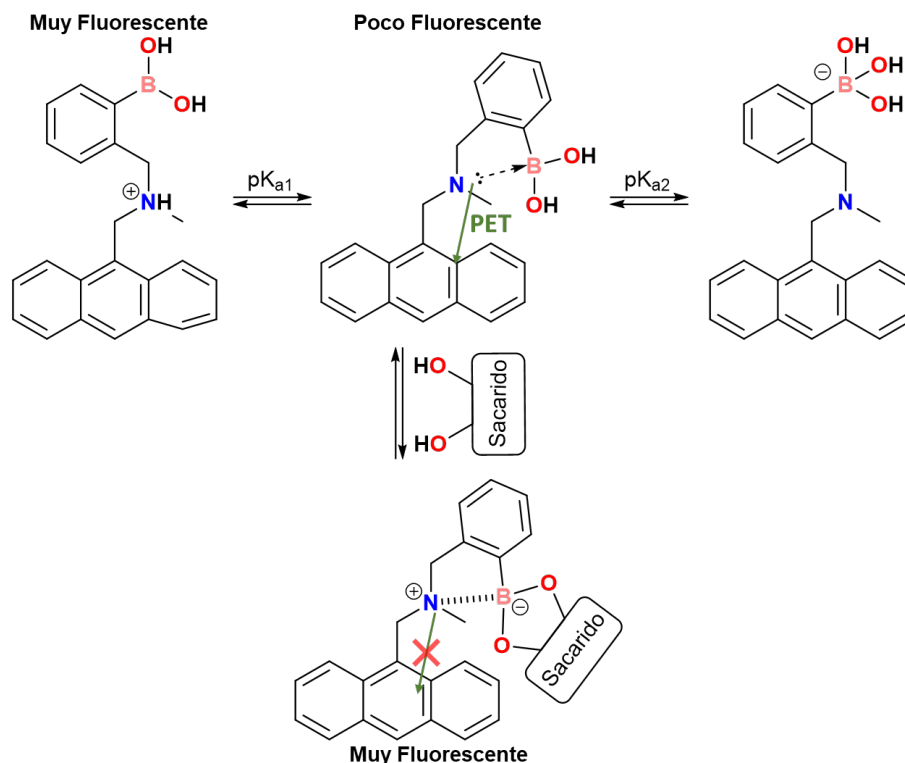
Estructuras sin interacción B-N son raras en fase sólida. Sin embargo, el éster benzopinacolico del ácido 2-(N,N-dimethyl-1-aminoethyl)-ferroceneboronico (A) con la distancia B-N 3.524 Å es un caso de molécula sin interacción B-N.⁵⁷ La situación típica para los ésteres del ácido fenilboronico con sustituyentes orto-metilamino cristalizados de un disolvente aprótico es la formación del enlace covalente B-N como es el caso (B).⁵⁸ Sin embargo, la cristalización de los ésteres borónicos de metanol con frecuencia lleva a la formación de la especie zwitterionica como es el caso del éster catecólico de **1** (C).⁵⁹ Estructuras cristalinas de los ácidos fenilboronicos con sustituyentes orto-metilamino típicamente incluyen el puente de hidrógeno BOH...N como es el caso de **1** libre (D).⁵⁹

Especies de los mismos tipos existen en disolución. Su identificación está basada principalmente en los espectros de RMN ¹¹B. En acuerdo con los desplazamientos químicos característicos reportados para ácidos borónicos son: alrededor de 30 ppm para el boro trigonal,⁸ alrededor de 10 ppm para el boro tetraédrico aniónico y alrededor de 15 ppm para el boro tetraédrico neutro, con enlace B-N. La presencia del puente de hidrógeno BOH-N se manifiesta en el desplazamiento de la señal de ¹H del grupo B(OH)₂ a campo bajo (ver sección 2.4.2).

Un análisis de los datos reportados indica que para los ésteres de los ácidos fenilborónicos con sustituyentes orto-metilamino forman principalmente en el estado sólido y en medios apróticos enlaces B-N, que se transforma a zwitterión en medios próticos (MeOH, H₂O) por un proceso de “inserción del disolvente” (adición heterolítica del fragmento RO-H a los átomos de B y N); para los ácidos libres en el estado sólido la forma principal es con el puente de hidrógeno BOH...N que puede conservarse en disolución en medios apróticos, pero en medios próticos ocurre inserción con la formación de un zwitterión.

2.2.2 El mecanismo original de Shinkai-James del funcionamiento del receptor 1.

Teniendo en cuenta este conocimiento, y que al usar fluoróforos como el antraceno, el cual es sensible a sufrir PET en presencia de aminas, Shinkai diseñó el receptor **1**, el cual sirvió como una inspiración para diseño de numerosos receptores de este tipo. En valoraciones de fluorescencia de **1**, al incrementar el pH, se observa una disminución de 30 veces en la emisión de fluorescencia entre un pH de 6 a 7, y otra disminución que tiende a la extinción a valores de pH superiores a 11. Por el contrario, en presencia de un monosacárido, la primera disminución de la fluorescencia es mínima, mientras que se produce un fuerte apagamiento a valores mayores de 11 en pH.⁶⁰ Interpretando las titulaciones, teniendo en cuenta la formación de un enlace N-B, es lógico asignar pK_{a1} (6-7) a la desprotonación del ion amonio, por lo tanto, el pK_{a2} (≈11) correspondería a la hidroxilación del boro y ruptura del enlace N-B. Este pK_a está en un intervalo ligeramente superior al distintivo en ácidos borónicos (9-10). Continuando con el postulado del enlace N-B, la desprotonación del grupo amonio conduce a la liberación del par de electrones de nitrógeno (pK_{a1}), que luego está débilmente coordinado con el átomo de boro (esquema 3) y, por lo tanto, apagará la emisión del antraceno. La hidroxilación del boro en el ácido borónico solo aumenta la extinción (pK_{a2}). En presencia de un éster borónico, estos al tener una mayor acidez de Lewis, su interacción con el par libre de la amina, a un pH fisiológico, será mayor con respecto al ácido borónico, lo que no permitirá PET y por lo tanto tener una alta emisión del antraceno.



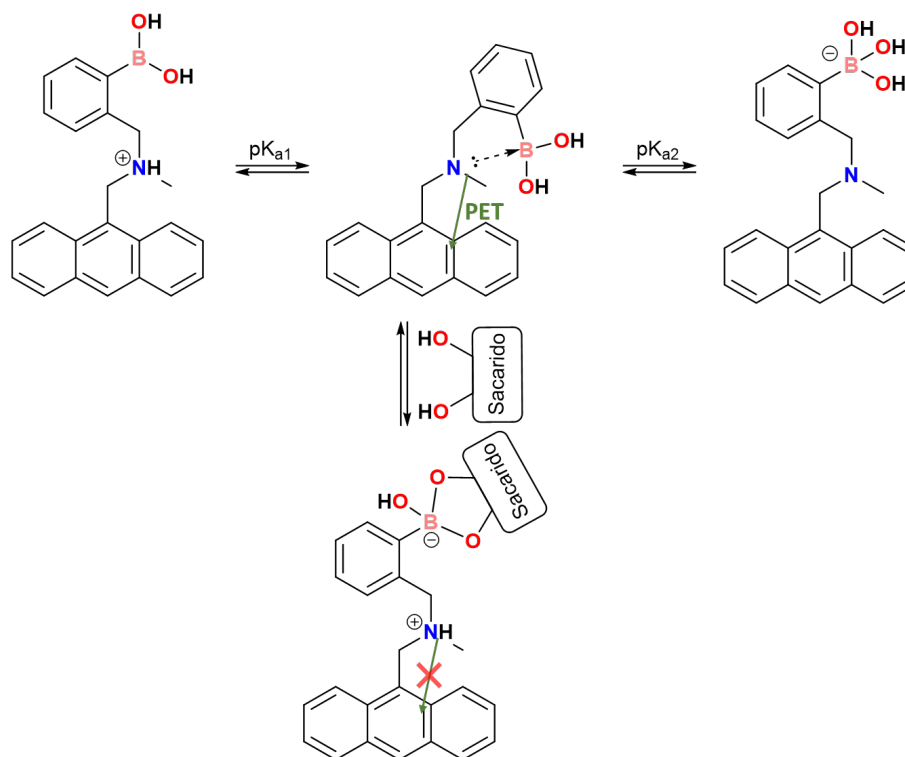
Esquema 3. Mecanismo por Shinkai para el funcionamiento de **1**

Esta es la base de la propuesta de Shinkai para el funcionamiento del receptor **1**, donde la amina puede apagar la fluorescencia del receptor a través de PET, siendo fundamental la interacción boro-nitrógeno, la cual en realidad es débil o inexistente en medios práticos si el ácido borónico se encuentra "libre". Tras la complejación con un monosacarido, la fluorescencia del antraceno se regenera a medida que se forma el éster borónico, dando un efecto de encendido, lo cual tiene ventajas contra sensores con mecanismos de apagado.

2.2.3 Switch de pK_a

Shinkai propuso un primer mecanismo de funcionamiento para el receptor **1**, sin embargo, este presentaba un par de inconvenientes.^{12,62} Wang observó en las estructuras de rayos X de monocristal, que los ácidos borónicos en realidad tienen longitudes de enlace N-B más cortas que en los ésteres de borónicos correspondientes, esto implicaría que el enlace en el caso del ácido es más fuerte en comparación con el éster, lo que contradice el mecanismo propuesto hasta el momento, aunque la comparación no es totalmente adecuada debido a que no es equivalente lo que pasa en disolución a lo que ocurre en estado sólido, sin embargo si nos da un aproximado de la estabilidad que pueda

tener el enlace. Por otra parte, Franzen realizó estudios utilizando la teoría de funcionales de la densidad (DFT),⁶¹ y de esta manera encontró los cambios relativos en la fuerza del enlace N–B tanto en su forma “libre” como en forma del éster, concluyendo que los cambios no eran lo suficientemente significativos para modular los cambios drásticos en la fluorescencia, cuando **1** interactúa con los dioles. Viendo el ciclo termodinámico de la asociación de dioles con ácidos borónicos (Esquema 1), es bien sabido que la acidez del éster es mayor que la de su forma “libre” (generalmente hasta dos unidades de pK_a menor) por lo que notaron que la protonación de la amina era una explicación más probable a la extinción del PET en los ésteres borónicos derivados de monosacáridos, citando el hecho de que un enlace N–H en el ion amonio es mucho más fuerte que un enlace N–B. Esta propuesta de Wang se ha llegado a conocer como mecanismo de “switch de pK_a ” o “hidrólisis/solvólisis” (esquema 4).¹² La noción es que el enlace N–B existe en el ácido borónico, mientras que en el éster de boronato se forma una especie zwitterionica donde la amina se encuentra protonada. Para los propósitos de este tratado, notamos que el producto en el esquema 4 tiene una molécula disolvente insertada entre el nitrógeno de la amina y el boro, lo que resultó ser un postulado estructural importante introducido por primera vez por Wang.



Esquema 4. Mecanismo de “switch de pK_a ” para el funcionamiento de **1**

Wang^{12,61} también señaló otros problemas que eran inconsistentes con el postulado de modulación de la fuerza del enlace N–B. Primero, la intensidad de emisión de **1** acomplejado con azúcar es casi independiente del azúcar (fructosa, glucosa, melibiosa, leucrosa),⁶² aunque el pK_a si varía en función del azúcar que se utilice. Esto concuerda con lo documentado con ácido fenilborónico, donde la reducción del pKa del complejo depende del azúcar que se agregue a la disolución.^{12,62} A partir de estas observaciones, Wang señaló además que los azúcares que forman la unión tridentada con el boro no deberían modular la fluorescencia, ya que el tercer átomo donador rompería el enlace N–B, mientras que en el mecanismo de hidrólisis seguiría mostrando un cambio de fluorescencia, porque el tercer átomo donador simplemente tomaría el lugar del grupo hidroxilo en el éster de boronato. Experimentalmente, los azúcares tridentados como la fructosa dan cambios de fluorescencia muy grandes de una manera muy similar que los monosacáridos con solo dos puntos de unión.⁶²

2.3 Enlace N–B vs Zwitterión

A partir de datos experimentales realizados a **1** por diferentes grupos de investigación, han revelado las emisiones que tiene el receptor libre y los distintos ésteres borónicos cíclicos correspondientes, esto gracias a valoraciones de pH. Tomando en cuenta las evidencias recogidas con la ayuda de RMN de ¹¹B, y fluorescencia, podremos racionalizar la existencia del enlace N–B o la presencia de la especie zwitterionica y de esta manera poder diferenciar entre los mecanismos propuestos hasta el momento.^{60,62}

2.3.1 Análisis Fotofísico

Analizando los perfiles de pH realizados en medios próticos y con elevadas constantes dieléctricas (mezclas agua-metanol), se observa que la fluorescencia de **1**, al cambiar el pH de bajo a alto, se observan grandes descensos de emisión (más de diez veces menor) entre valores de pH de 6 a 7, y se produce otro descenso más pequeño, aunque con tendencia a la totalidad por encima de 11 en la escala de pH. Mientras que, en presencia de un monosacárido, el primer descenso de fluorescencia es menor y se observa a un valor de pH menor, mientras que se produce una gran disminución a pH alto.⁶⁰

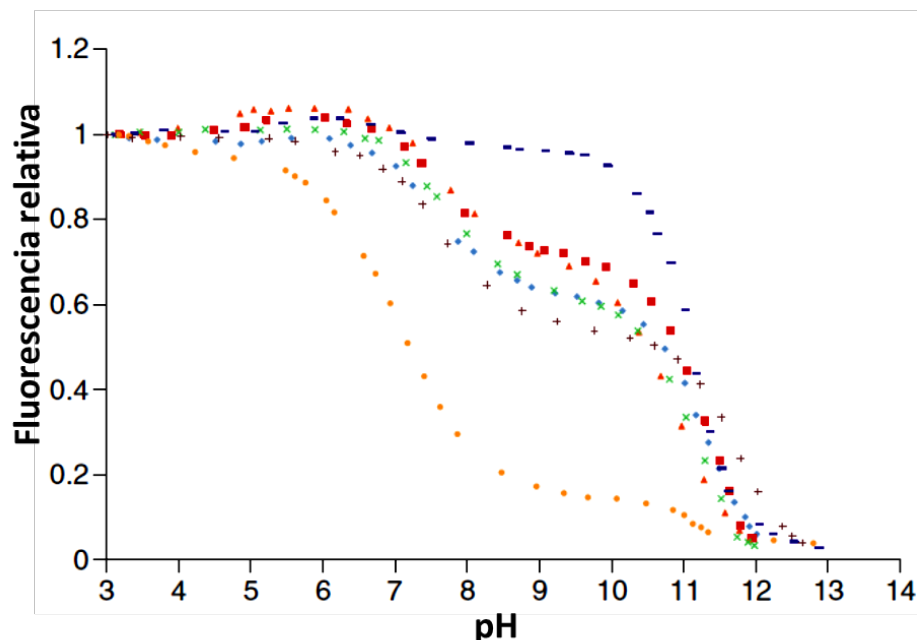


Figura 8. Valoraciones de pH de **1** (1 μM) en 2:1 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{OH}$ y NaCl 50 mM solos (círculo amarillo) y en presencia de 50 mM de cada uno de los siguientes carbohidratos: d-manosa (azul diamante), d-galactosa (cuadrado rojo), l-sorbose (triángulo naranja), d-glucosa (cruz verde), inositol (más marrón) y d-fructosa (guion morado); datos tomados de la ref. 63.

Observando las titulaciones de pH, y tomando en cuenta los dos postulados mecanísticos hasta el momento se puede realizar un análisis detallado. Teniendo en cuenta la formación de un enlace N-B, el $\text{pK}_{\text{a}1}$ (entre 6 y 7) corresponde a la desprotonación del ion amonio, que se reduce en comparación con el pK_{a} de una alquilamina típica (entre 7 y 9),⁶⁴ debido al enlace covalente dativo resultante con el boro (esquema 3). Esta disminución del pK_{a} es análoga a lo observado para iones de amonio en presencia de metales debido a la estabilidad del complejo de coordinación con enlace amina-metal.⁶⁵ Por lo tanto, el $\text{pK}_{\text{a}2}$ corresponde a la hidroxilación del boro y la ruptura del enlace N-B. Este pK_{a} está en un intervalo típico para los ácidos borónicos (entre 9 y 10).

Hay que tomar en cuenta que la hidroxilación de un ácido borónico conlleva un proceso de solvólisis del agua, por lo tanto, es una reacción de disociación del agua coordinada al átomo de boro funcionando como ácido de Brønsted con un valor de pK_{a} asociado (figura 9). Continuando con el postulado del enlace N-B, la desprotonación del grupo amonio conduce a la liberación del par solitario de nitrógeno ($\text{pK}_{\text{a}1}$), que posteriormente se

coordina débilmente con el átomo de boro (esquema 4) y, por lo tanto, apagará la emisión del antraceno. La hidroxilación del boro en el ácido borónico solo aumenta la disponibilidad de este par de electrones para apagar la fluorescencia (pK_{a2}).

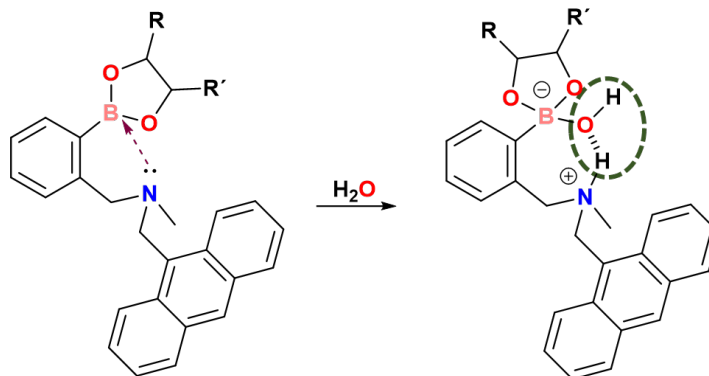


Figura 9. Proceso de solvólisis realizado por **1**

Ahora tomando en cuenta la adición de un azúcar, que conduce a la formación de éster borónico (esquema 4), la desprotonación del amonio (pK_{a1}), reemplaza el enlace N-H con un enlace covalente dativo N-B, lo que afecta a la capacidad del nitrógeno para participar en PET (rango de pH intermedio de la figura 8). Sin embargo, la hidroxilación del boro en el éster borónico libera el par solitario de la amina, lo que conduce a la extinción de la emisión de antraceno (rango de pH alto de la figura 8).

Examinando ahora las titulaciones de pH y contrastándolas con el mecanismo de "switch de pK_a " propuesto (esquema 4). En ausencia de un monosacárido, el pK_{a1} correspondería a la desprotonación de la amina para formar un enlace N-B, mientras que pK_{a2} es la hidroxilación del boro. Esto es exactamente lo mismo que lo mencionado por Shinkai. Sin embargo, en el caso del éster borónico, la propuesta es muy diferente. A medida que aumenta el pH, el azúcar se une y en lugar de la formación del enlace N-B, este se hidroliza formando un compuesto zwitterionico lo que es equivalente a la inserción de un disolvente. Esto quiere decir que **1** en presencia de un diol se invierte el primer y segundo pK_a , correspondiendo ahora a la hidroxilación del enlace N-B y la desprotonación del ion amonio, respectivamente. Debe considerarse que el pK_a correspondiente a la desprotonación del ion amonio, en este caso tendrá un valor ligeramente elevado con respecto a un amonio típico por su proximidad al centro negativo de boro y la estabilidad que tendría el complejo zwitterionico. Por lo tanto, este postulado mecanístico se denominó "switch de pK_a " por el intercambio en los procesos.

2.3.2 Evidencias por RMN de ^{11}B

Una prueba importante que Wang usó para respaldar el mecanismo de hidrólisis del enlace N–B, (esquema 4) fueron las titulaciones de pH por RMN ^{11}B que realizó Anslyn con anterioridad a ácidos o-aminometilborónicos,⁸ donde la amina era secundaria o terciaria, debido a que la RMN ^{11}B es sensible a la hibridación del átomo de boro, se aseguró que el primer pK_a es la desprotonación del amonio con la formación concomitante de un enlace N–B. El objetivo de los experimentos de Anslyn era determinar si los pK_a s de las aminas secundarias y terciarias próximas a los ácidos borónicos eran similares o no, esto debido a la posibilidad de que la desprotonación de una amina secundaria pudiera conducir a un enlace N–B covalente estándar en lugar de un enlace covalente dativo N–B. Encontró que valores de pK_a son casi idénticos para los ácidos o-aminometilfenilborónicos que involucran aminas tanto terciarias, como secundarias, lo que descarta un enlace N–B covalente formal apoya la teoría de la formación de enlaces dativos N–B.

Para distinguir entre el enlace N–B y el mecanismo de "switch de pK_a ", el grupo de Anslyn realizó una serie de estudios cristalográficos y de RMN ^{11}B . Para esto se tomó como modelo a la molécula **4**, (figura 10) del cual se examinaron los espectros de RMN ^{11}B de valoraciones con catecol, hidrogenoína y ácido α -hidroxiisobutírico.⁶⁶ Para esto fue necesario purificar y cristalizar los ésteres borónicos correspondientes de **4** y el análisis cristalográfico por rayos X de monocristal se correlacionaron con los cambios de desplazamiento químico en valoraciones de **4**.

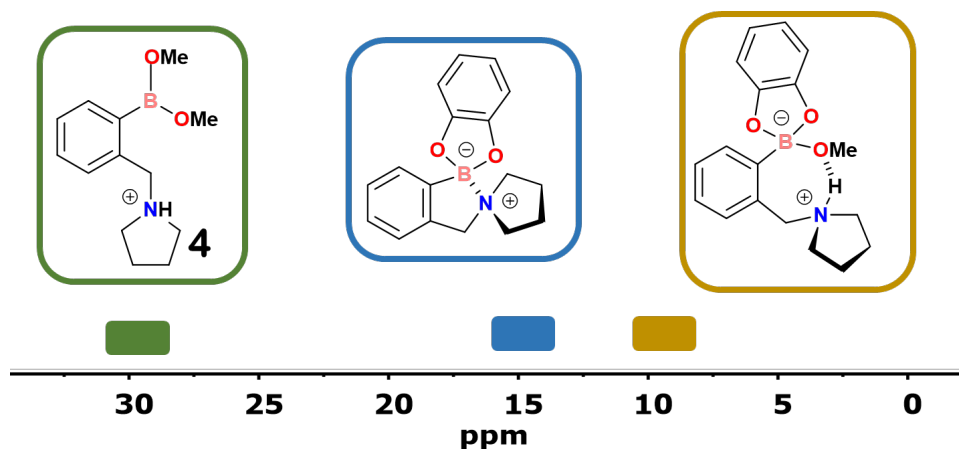


Figura 10. Compuesto **4** y los sus complejos con porocatecol, así como sus desplazamientos químicos por RMN ^{11}B

Un boro trigonal se encuentra en RMN de ^{11}B en un intervalo de 28 a 30 ppm, mientras que las señales de un boro sp^3 con enlace N–B aparecen alrededor de 14 a 15 ppm, y el desplazamiento químico de un anión boronato (R-B(OH)_3^-) se encuentra típicamente entre 8 y 10 ppm (figura 10). La conclusión fue la formación del compuesto zwitterionico observable en medios próticos para el caso de **4**, así como de los ésteres de borónicos sintetizados. Sin embargo, se observó una pequeña cantidad de formación de enlaces N–B (menor al 5 %) al usar catecol, lo que significa que los enlaces N–B y la inserción del disolvente pueden coexistir en equilibrio, sin embargo, la existencia del primero es insignificante en comparación con la especie zwitterionica.

Además, resultados computacionales de Larkin y James llevaron a unas conclusiones similares.^{10,52} Descubrieron que las especies con inserción de disolvente tienen menos energía que las especies con enlace dativo N–B. Es importante destacar que todas las pruebas apuntan a que el producto de la inserción de disolventes es la especie dominante en medios próticos tanto para los ácidos borónicos como para sus ésteres correspondientes. Con esta evidencia, ni el mecanismo de enlace N–B ni el “switch de pK_a ” pueden ser operativos. Por lo tanto, aunque tengan lógica las interpretaciones de los perfiles de fluorescencia y puedan ser considerados como correctos, los postulados ilustrados no involucran la especie zwitterión para **1** en su forma “libre”, por lo que estas hipótesis no pueden ser correctas en medios próticos.

2.3.3 Inserción del disolvente y Mecanismo de formación de ésteres borónico de **1**

Tomando en cuenta el equilibrio entre la especie de **1** no cargada y su forma zwitterionica $\mathbf{1}^\pm$, y sabiendo que el nitrógeno funciona como promotor para la inserción de moléculas de disolvente y de esta manera bajar el pK_a del boronato, es lógico pensar que el grupo amonio pueda desempeñar un papel clave en el mecanismo de formación de ésteres borónicos en $\mathbf{1}^\pm$. Para la formación de estos ésteres, el disolvente insertado primero debe ser expulsado, luego reemplazado por un grupo -OH del diol o monosacárido, seguido de la rotación del boronato, y posteriores reemplazos graduales de disolventes insertados, lo que lleva a un huésped completamente unido. El primer reemplazo de disolvente insertado por el huésped es intermolecular, haciendo probable que sea lento en relación con los pasos subsiguientes que son intramoleculares, ya que el diol o el sacárido quelan al átomo de boro.

La liberación de un disolvente insertado daría lugar a la especie **1** no cargada en la figura 11b. Esto podría ocurrir en dos pasos: la desprotonación del amonio y pérdida del hidróxido/alcóxido en el centro de boro, en cualquier orden, para esto se requiere la pérdida de un grupo saliente muy pobre a pH neutro. Alternativamente, el disolvente podría perderse en un solo paso por simple descomplejamiento del boro y del amonio (ruta 'catálisis ácida general'). Esto implicaría formar un ácido o-aminometilfenilborónico en un estado de alta energía **1** el no poseer los estados de protonación preferidos de ácido borónico y amina al pH operativo. Curiosamente, la cuestión de la pérdida gradual o en un solo paso del disolvente insertado depende del estado de ionización del disolvente insertado en **1**[±]. Si el disolvente está completamente desprotonado cuando se inserta, forma un anión de éster boronato zwitteriónico y un catión de amonio, su salida en un solo paso como especie neutra requiere que ocurra una transferencia de protones simultáneamente con la salida (posiblemente promovida por el ion amonio). Si el disolvente no está ionizado cuando se inserta, simplemente puede salir sin transferencia de protones (figura 11a). La primera posibilidad, la protonación concertada y la salida del grupo saliente, es un ejemplo de catálisis ácida general intramolecular y puede analizarse mediante experimentos clásicos como por efectos isotópicos.

Cualquiera de las alternativas para la pérdida de disolvente genera intermediarios de alta energía con los cuales el huésped que contiene un diol reacciona posteriormente, este mecanismo debería mostrar una cinética de saturación, similar que en una reacción S_N1.⁶⁷

Alternativamente, un mecanismo en el que el **1**[±], el cual tiene el disolvente insertado, reacciona directamente con el huésped deberá mostrar una cinética de segundo orden (como con una reacción S_N2).

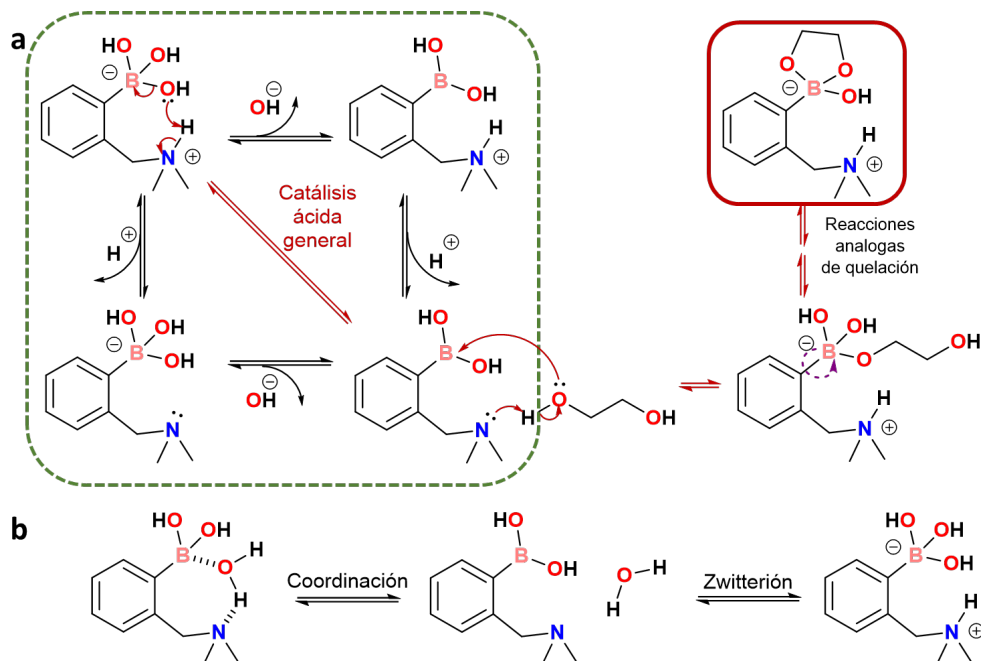


Figura 11. a Mecanismo de formación para ésteres derivados de ácidos o-aminometilfenilborónico, **b** Procesos probables para fijación de moléculas de disolvente en ácidos o-aminometilfenilborónico

Se estudió la cinética de la reacción de **1** con fructosa, tanto a bajas como a altas concentraciones de fructosa.^{68,69} A concentraciones bajas de fructosa, la cinética parecía de segundo orden, por lo tanto, la reacción parecía análoga a un mecanismo S_N2 , excepto de que la ordenada al origen fue distinta de cero, lo que indica que la k_{obs} involucra una reacción en equilibrio.⁶⁹

Sin embargo, a altas concentraciones de fructosa se encontraron saturación en las señales de fluorescencia lo que indica que la reacción cambia de primer orden a orden cero con respecto a la concentración de fructosa. Los datos cinéticos muestran la existencia de un mecanismo que implica un paso determinante anterior a la reacción con el huésped, a partir de esto se propuso que el primer paso corresponde la pérdida del disolvente insertado para generar **1** (Fig. 11a). El mecanismo es perfectamente análogo a una reacción S_N1 , donde el grupo saliente en el ácido borónico es un disolvente insertado. Pero, debido a que el grupo saliente es el mismo disolvente, se necesita de un exceso muy grande de monosacárido para llegar a una cinética de saturación.

Esto tiene perfecto sentido, dado que el paso inverso que compite con la primera inserción de invitado es la inserción de una molécula de disolvente, esta reinsertión

competitiva del disolvente es análoga al efecto del ion común en los mecanismos S_N1 ,⁵⁵ donde el "ion común" es el disolvente. Al ajustar los datos cinéticos, se estimó que la fructosa es alrededor de 1000 veces mejor como nucleófilo con respecto al disolvente.

También se abordó la cuestión de si el disolvente insertado está significativamente ionizado o se retiene simplemente coordinado. La pérdida general del disolvente, catalizada por el ion amonio implica el movimiento de un protón y, por lo tanto, debería tener un efecto isotópico, mientras que las otras posibilidades casi no tendrían efecto isotópico. Teniendo en cuenta esto, se descubrió un efecto isotópico de 1.42 para la reacción de **1** con fructosa.⁶⁹ Este valor es más pequeño de lo esperado, pero es claramente un efecto sustancial. El efecto del isotópico es evidencia de que un paso del mecanismo es la catálisis ácida general para la expulsión del disolvente insertado. Cabe señalar que, si la expulsión es generalmente catalizada por ácido, entonces la reacción inversa, la inserción de disolvente, tiene un mecanismo de catálisis básica general.

En resumen, el grupo o-aminometil desempeña las funciones de: aumentar la termodinámica de la unión de las especies de diol a pH neutro al reducir el pK_a de los ácidos borónicos a un intervalo fisiológico, y acelerar la unión del azúcar mediante una catálisis ácida general intermolecular.

2.4 Mecanismo de agregación y desagregación

Una vez asignados los valores de pK_a , y sabiendo que la especie zwitterionica es la principal en los medios próticos, en lugar del enlace N–B, y cómo el grupo o-aminometilo afecta la termodinámica y la cinética, surge un problema importante ¿Qué se encarga de modular la fluorescencia cuando ocurre la unión del azúcar?

Para entender la(s) función(es) del grupo o-aminometilo en la modulación de la emisión de sensores basados en ácidos borónicos, Anslyn y colaboradores realizaron un estudio fotofísico detallado del compuesto **1**.¹¹ Los datos de titulación de pH originales de Shinkai y James⁶⁰ revelaron una gran activación de emisión (cerca de 30 veces) en una titulación de pH con fructosa en una disolución de 2:1 agua/metanol con NaCl 50 mM. Anslyn observo que la emisión se puede activar gradualmente si se sonica la muestra sin la necesidad de agregar fructosa, además al aumentar la ventana de los espectros de emisión de 1 a 600 nm y dejar incubar las disoluciones realizadas, se encontró una amplia emisión sin estructura reconocida de 460 a 600 nm (figura 12, línea azul). Para confirmar

la presencia de un excímero, se realizó la medición de un espectro de excitación en una longitud de onda donde absorbe el excímero, pero el monómero de antraceno no (figura 12, línea morada). Tras la irradiación o la sonicación, este pico disminuye, mientras que la emisión altamente estructurada de antraceno (monómero) aumenta al mismo tiempo. Al profundizar en la literatura, quedó claro que este pico de emisión está asociado con un excímero conocido de antraceno.⁷⁰⁻⁷² Por lo tanto, **1** se puede estar agregando en las condiciones utilizadas para las titulaciones de pH originales (agua/metanol 2:1 con NaCl 50 mM; Fig. 8).

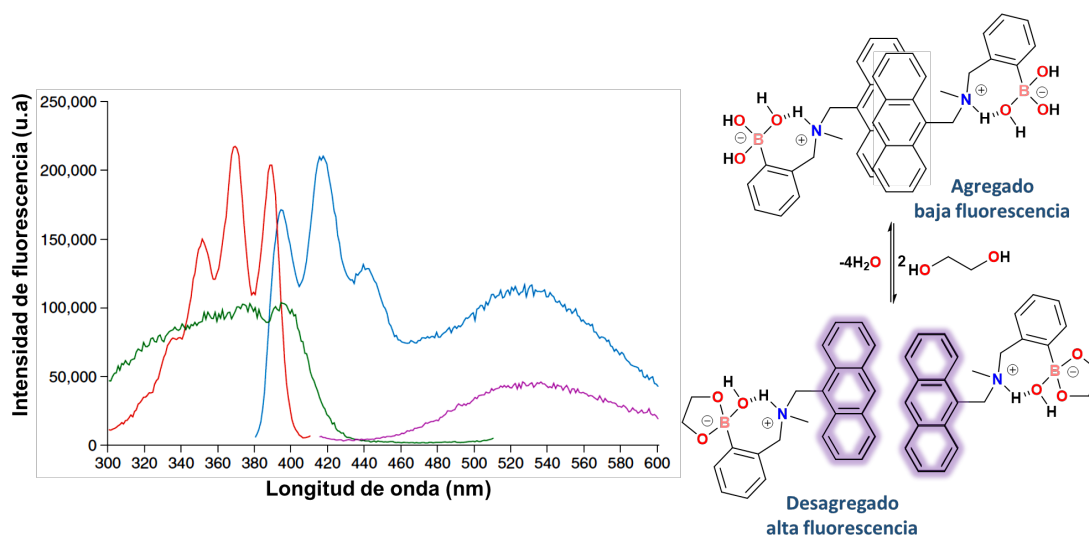


Figura 12. Espectro de emisión y excitación para **1** en agua/metanol 2:1 con NaCl 50 mM y mecanismo de agregación-desagregación propuesto por Anslyn. La línea roja corresponde al espectro de excitación de **1** monómero, la azul a la emisión de la mezcla monómero y excímero, por último, las líneas verde y morada a los espectros de excitación y emisión del excímero respectivamente

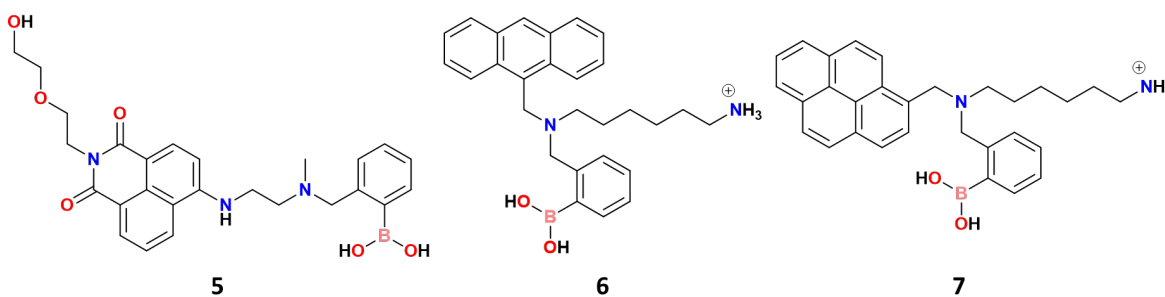
Para descifrar el grado en que la unión de fructosa influye en la emisión, del compuesto **1** se tituló con fructosa en metanol puro. Aunque la espectroscopía de RMN ¹¹B confirmó la unión de fructosa, se observaron cambios muy pequeños en la activación de emisión en este disolvente, y no se observó excímero en ausencia de azúcar. Además, un compuesto que carece de ácido borónico **2** activó la fluorescencia tras la adición de fructosa de una manera casi idéntica a **1** en la disolución de NaCl metanol/agua. Cabe aclarar que en todas las mediciones realizadas por Anslyn, no se menciona el uso de ningún buffer lo que no asegura el control del pH. Esto llevo a la interpretación de que la gran mayoría de la activación en la emisión no estaba relacionada con la unión de la fructosa, sino más bien

con un fenómeno de desagregación que ocurre como resultado de la adición de fructosa a la disolución.

Sin embargo, en estos últimos estudios hubo consistentemente un aumento de dos a tres veces en la fluorescencia de **1** tras la unión de fructosa, que nunca se logró al sonicar al receptor libre. Esto puede significar que del aumento de casi 30 veces en la fluorescencia, aproximadamente un aumento de 10 a 15 veces se debe al proceso de agregación-desagregación, mientras que el resto, debe estar correlacionado a la unión con fructosa.

2.5 "Loose bolt"

Hasta el momento, se han postulado diferentes mecanismos de fluorescencia para ácidos o-aminometilfenilborónicos con fluoróforos adjuntos, en respuesta a la unión de sacáridos en medios acuosos, como N-B, 'switch de pK_a' y agregación-desagregación. Sin embargo, ninguna de las hipótesis es consistente con todos los datos de los sensores basados en ácido borónico del tipo general A (ver Introducción).



Un comportamiento que la mayoría de los sensores de ácido o-aminometilfenilborónico para azúcares suelen mostrar un encendido de emisión en el intervalo de dos a cinco veces.^{52,73-76} Para entender bien el mecanismo se estudió una serie de sensores con este comportamiento, pero que contuvieran grupos hidrofílicos los cuales son solubles en agua y metanol (5, 6, 7), evitando de esta manera procesos de agregación. Esto permitió correlacionar las funciones del ácido borónico, el éster de boronato y el grupo o-aminometilo en la fotofísica, revelando así el mecanismo de activación de la fluorescencia. Este estudio se centró en el uso de **5**, el cual previamente había demostrado que podría usarse como sensor de peroxinitrito después de unirse a la fructosa.⁷⁷ Este presentó un comportamiento de fluorescencia similar que **1** en su perfil de pH, por lo que el grupo o-metilamino realizaba un efecto similar con el ácido borónico, así

como con sus complejos con fructosa, con la diferencia que en el rango de pH entre 7 y 10 hubo un aumento de fluorescencia aproximado de tres veces en presencia de fructosa.

La espectroscopia de RMN de ^{11}B reveló que el compuesto **5** se insertó con disolvente en medios próticos, con y sin unión a fructosa. Un compuesto análogo a **5** sin el grupo ácido borónico no mostró ninguna respuesta frente a la fructosa en condiciones acuosas. Además, no se observó ningún excímero. Estos datos respaldaron el criterio de diseño de que no hubo agregación en esta especie de ácido borónico. Para seguir esclareciendo el mecanismo se utilizó a los compuestos **6** y **7**. El compuesto **6** pretende imitar todas las características del **1** incluyendo a un grupo de amonio solubilizante, mientras que **7** es análogo a **6** pero usando al pireno como fluoróforo. Los compuestos **5**, **6** y **7** en medios acuosos mostraron una activación de dos a cinco veces en su emisión al unirse con fructosa, pero no se observaron cambios de emisión al formar complejos con fructosa cuando el medio es metanol. Sin embargo, la espectroscopia de RMN de ^{11}B mostró que la fructosa formaba el éster borónico incluso en metanol.

Sintetizando, al convertir los grupos $-\text{B}(\text{OMe})_2$ en ésteres con azúcar, no hay respuesta de emisión, pero cuando los grupos $-\text{B}(\text{OH})_2$ se convierten a los ésteres correspondientes, la emisión sí se activa. Es sabido que las vibraciones del enlace O-H en el agua, apagan la fluorescencia de los fluoróforos al aceptar la energía en los estados vibracionales excitados (figura 13).⁷⁸ Esta es una forma de conversión interna que reduce el rendimiento cuántico.

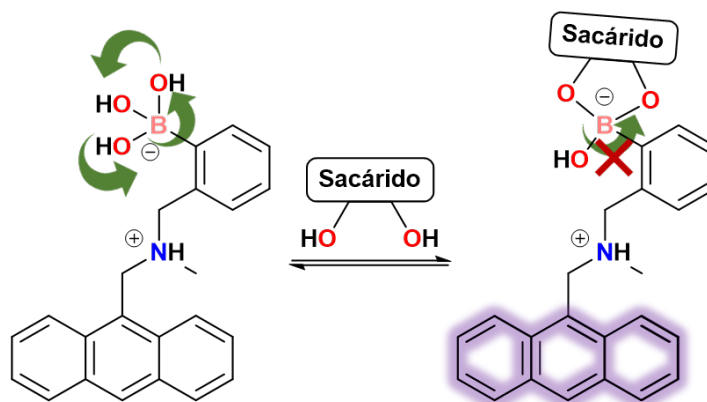


Figura 13. Efecto de "loose bolt" en **1** propuesto por Anslyn

Una prueba para demostrar este fenómeno es convertir los grupos $-\text{OH}$ en $-\text{OD}$,⁷⁸⁻⁸⁰ ya que debido a sus frecuencias de vibración son más bajas, por lo tanto, son aceptores de energía menos eficientes. Se observó que las emisiones de **5** en D_2O por sí solas son tan

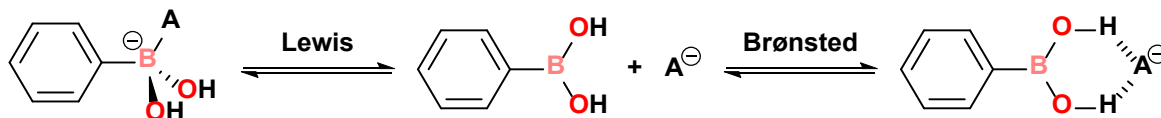
altas como las emisiones en metanol. Además, tras la adición de fructosa, no se encontró ningún aumento extra en la emisión. Tal mecanismo de conversión interna comúnmente se conoce como el efecto "loose bolt".⁸¹⁻⁸⁵ Esta última propuesta indica que por conversión interna la energía electrónica se "fuga" a través de las vibraciones del grupo $-B(OH)_3^-$ en metanol.⁸⁶ Posteriormente cuando se cambian los grupos B-OH por B-OMe, las vibraciones $-B(OH)_3^-$ se detienen, activando así la fluorescencia, y lo mismo ocurre cuando se une un azúcar.

La hipótesis de "loose bolt" propone que es irrelevante la presencia del átomo donador y el cambio de fluorescencia se debe a la interacción directa entre fluoróforo y boronato, pero esto contradice a los resultados reportados con receptores del mismo diseño general tipo A (ver Introducción) que carecen del átomo de nitrógeno en el puente que conecta al ácido borónico con el fluoróforo.^{14,15} El comportamiento general y el mecanismo de señalamiento con estos receptores es completamente diferente a los que se observan con **1** y **2** que claramente indica el papel importante que tiene el átomo de nitrógeno.

2.6 Ácidos fenilborónicos como receptores de aniones

El reconocimiento de aniones es un área ampliamente desarrollada de la química supramolecular que atrae mucho interés tanto en aspectos fundamentales como aplicados.⁸⁷ Los ácidos borónicos se utilizan a menudo como componentes de los sensores de aniones, debido a que pueden funcionar como ácidos de Lewis y de esta manera interactuar con bases como F^- , CN^- y aminas, lo que permite aplicaciones de detección para estas especies.

Los receptores de mayor éxito se han desarrollado para el ion fluoruro, lo que demuestra una gran afinidad por el centro B(III) incluso en disolventes próticos,^{5,88-91} a pesar de ello a llamado la atención el reconocimiento de otros aniones a partir de moléculas derivadas del ácido fenilborónico.



Esquema 5. Modos de unión a aniones esperados con el ácido fenilborónico en disolventes apróticos

No obstante, se ha estudiado recientemente que los ácidos borónicos reconocen aniones en disolventes apróticos, ya sea a través de la coordinación directa del anión con el centro B(III) o mediante enlaces de hidrógeno con el grupo B(OH)₂ (esquema 5).⁹² En este estudio se observó una marcada selectividad por el acetato, esto como resultado de la complementariedad entre los átomos de oxígeno del carboxilato y dos hidroxilos del grupo B(OH)₂. Sorprendentemente, el H₂PO₄⁻, forma un aducto covalente de tipo Lewis con los ácidos borónicos, posiblemente porque los aniones fosfato tienen un carácter más duro. El anión fluoruro al ser muy duro e isoelectrónico con OH⁻ forma el aducto covalente preferentemente, aunque también hay alguna evidencia de enlaces de hidrógeno con este anión. Además, se estudiaron distintos ácidos fenilborónicos sustituidos y su afinidad con acetato, observando un diagrama de Hammett no lineal (figura 14), lo que indica un carácter complejo de los efectos electrónicos en las propiedades de unión por enlace de hidrógeno con los ácidos borónicos. Cabe mencionar, que las constantes de estabilidad medidas para el ácido fenilborónico y aniones como el acetato o el cloruro en DMSO, son mayores que las reportadas para donantes de protones bidentados similares, como la fenilurea o la isoftalamida en el mismo medio.^{93,94}

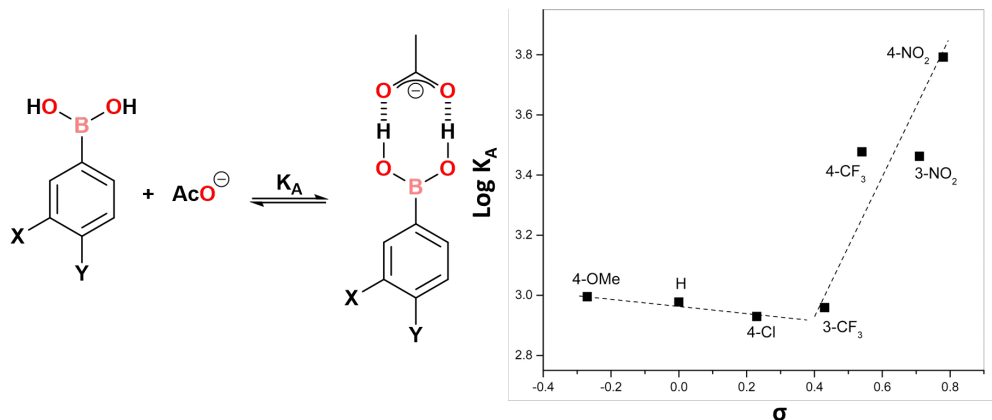


Figura 14. Gráfico de Hammett para las constantes de estabilidad de complejos con enlaces de hidrógeno de ácidos borónicos sustituidos con aniones acetato en DMSO.

La mayoría de los sensores de aniones basados en ácidos borónicos informados funcionan a través del enlace coordinado, debido a que están diseñados para la detección de fluoruro (figura 15),^{95,96} a pesar de ello, recientemente también se aprovechó sus propiedades como ácido de Brønsted en el diseño de receptores para aniones.^{95,96} El tipo de unión del anión es esencial para las aplicaciones de los ácidos borónicos en catálisis,⁹⁷ además que ha sido objeto de análisis computacional.⁹⁸ El tipo de acidez preferible, Lewis

o Brønsted, se investigó recientemente para los heterociclos naftoides que contienen boranol.⁹⁹ Además, los resultados relacionados con la selectividad del reconocimiento de aniones por parte de los ácidos borónicos son de gran interés para el estudio de interacciones por enlaces de hidrógeno entre los ácidos borónicos con otras bases de Lewis de diversos tipos.

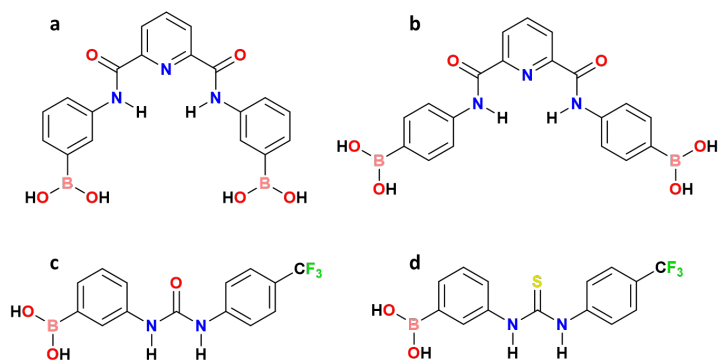


Figura 15. Ejemplos de sensores para aniones basados en ácidos fenilborónicos.^{95,96}

El uso de los ácidos borónicos para detección de aniones está aún en su etapa inicial. Recientemente, en un primer intento de crear un sistema "práctico" se han empleado derivados del ácido pirenilborónico para la construcción de una matriz quimiosensorial para la detección por fluorescencia de un gran conjunto de aniones en disoluciones de DMSO (figura 16).³⁰ Los aniones añadidos produjeron efectos inespecíficos de extinción o mejora de la fluorescencia a pequeña escala, subrayando el problema principal en esta área: la ausencia de un mecanismo específico para el señalamiento de la interacción de aniones con ácidos borónicos.

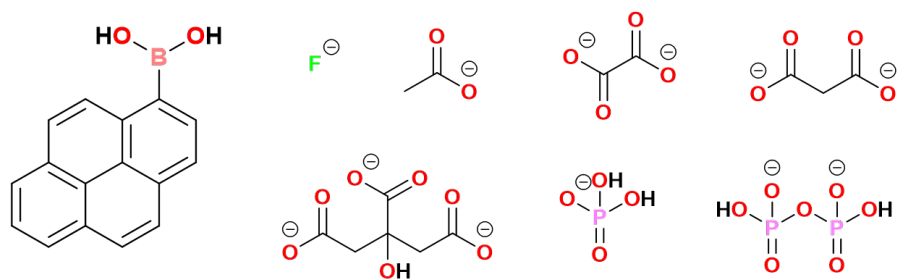


Figura 16. Estructura del ácido pirenilborónico y aniones objetivo.

2.7 Benzoxaborol (BOX)

El benzoxaborol (**BOX**) es un andamio heterocíclico de boro versátil (fig. 17) que ha encontrado en los últimos 10 años un amplio espectro de aplicaciones en la química medicinal.^{100,101} Los benzoxaboroles fueron obtenidos por primera vez por Torssell en 1957.¹⁰² De manera similar a los ácidos fenilborónicos y sus ésteres de diol, los benzoxaboroles tienden a comportarse como ácidos de Lewis en lugar de ácidos de Brønsted, adicionalmente los benzoxaboroles generalmente muestran una mayor acidez que los ácidos fenilborónicos análogos.

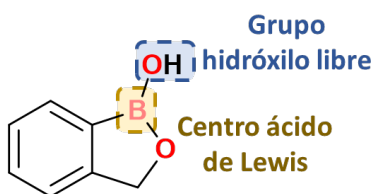


Figura 17. Estructura de **BOX** y señalización de sus grupos ácidos disponibles

El aumento de la acidez de Lewis del **BOX** se manifiesta claramente por su bajo valor de pK_a (7.3) en comparación con el reportado para el ácido fenilborónico ($pK_a=8.9$).¹⁰⁰ La "disociación ácida" de los ácidos borónicos en realidad es la adición del anión hidróxido al átomo de boro $R-B(OH)_2$ que induce la división de una molécula de agua formando el anión $R-B(OH)_3^-$ y un protón hidratado (esquema 1). La diferencia en los valores de pK_a es de 1.6 unidades, lo que significa que el OH^- tiene una afinidad 40 veces mayor por el **BOX** que por el ácido fenilborónico en agua. El aumento de la acidez conduce a una unión más fuerte con dioles, esto siendo observado en la formación de complejos con **BOX** en disoluciones a pH fisiológico como se muestra en la figura 18, que es una de las ventajas más importantes del **BOX** como receptor de sacáridos.^{101,103}

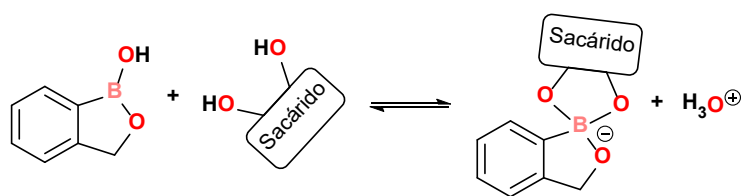


Figura 18. Representación formal de la asociación de sacáridos con **BOX**

Un perogrullo de una mayor estabilidad de los complejos con dioles, es la presencia de una fracción más grande de la forma tetraédrica del boronato aniónico del **BOX** en disoluciones neutras, promovida por la tensión anular que presenta, pero al mismo

tiempo, las verdaderas constantes de unión K_{tet} con los dioles y **BOX** son más pequeñas que las encontradas con el ácido fenilborónico. Por ejemplo, K_{tet} para fructosa y **BOX** es 830 M^{-1} , lo que es 6 veces menor que la encontrada para fructosa y ácido fenilborónico (5180 M^{-1}); para la maltosa esta relación es solamente de 2,5.¹⁰⁴ La disminución de K_{tet} para **BOX** en comparación con el ácido fenilborónico significa que la afinidad relativa de los grupos alcóxido de dioles por el átomo de boro en comparación con los aniones hidróxido es menor. Se observó una tendencia opuesta para los complejos tetraédricos de N,O-ligandos aminofenólicos con ácidos borónicos, que demostraron un K_{tet} mayor para **BOX** que para el ácido fenilborónico.¹⁰⁵ Por lo tanto, la acidez de Lewis de **BOX** se manifiesta de manera diferente según los ligantes, lo cual es una situación común con la estabilidad de los pares ácido-base de Lewis.¹⁰⁶

Esta acidez de Lewis tan particular en el **BOX**, además de poseer un grupo B-OH que podría funcionar como donador de enlace de hidrógeno, abre el campo para su uso en el reconocimiento de aniones.

3 Hipótesis

Buscando una explicación sobre el funcionamiento del receptor **1** como sensor frente a monosacáridos que satisfaga con la evidencia empírica hasta el momento, se propone que el átomo de nitrógeno juega un papel fundamental en el proceso de modulación de la intensidad de fluorescencia del antraceno, que a pesar de que se encuentre protonado, el grupo amonio puede responder a la interacción del grupo borónico con el huésped (diol), gracias a su incorporación en el puente de hidrógeno iónico amonio-boronato.

Por otra parte, este mismo receptor **1** puede funcionar como sensor de aniones en medios apróticos. En este caso el nitrógeno tiene su par de electrones interactuando por enlace de hidrógeno con el ácido borónico, que también funciona como sitio de reconocimiento, donde en presencia de aniones el par de electrones pasará a estar libre y podrá generar de esta manera un apagamiento por PET.

Por último, el benzoxaborol al poseer la acidez de Lewis mayor y número de grupos OH menor que el típico para los ácidos borónicos “normales”, atribuido a su tensión anular, preferirá reconocer aniones a través de su coordinación con boro.

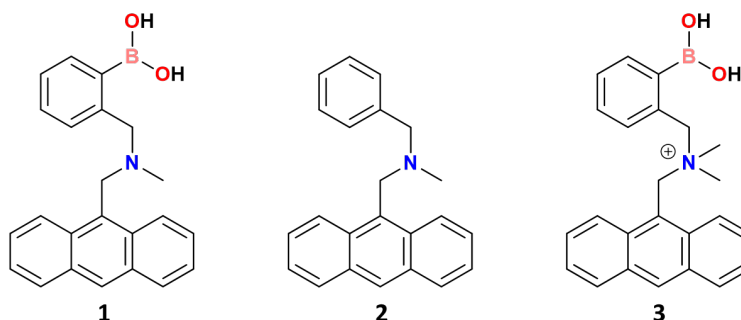
4 Objetivos

4.1 Objetivo principal

Establecer el mecanismo de funcionamiento del receptor **1** con base de estudios espectroscópicos detallados y probar su reactividad en disolventes apróticos para demostrar su interacción con aniones.

4.2 Objetivos particulares

- Sintetizar el receptor **1** y sus modificaciones **2** y **3**, uno carece del grupo borónico y otro tiene el átomo nitrógeno metilado sirviendo como análogo, pero sin el hidrógeno ácido del fragmento NH⁺.



- Estudiar los compuestos **1 – 3** detalladamente por técnicas fotofísicas que involucren efectos de pH, estructura del azúcar y del medio (mezclas acetonitrilo-agua, metanol, metanol-agua).
- Estudiar el compuesto **1** detalladamente por titulaciones por fluorescencia y RMN ^1H y ^{11}B en disolventes apróticos (acetonitrilo y DMSO) que involucren a distintos aniones mono- y dicargados como huéspedes.
- Estudiar la interacción de aniones de diferentes tipos con el benzoxaborol (**BOX**) detalladamente por titulaciones de RMN ^1H y ^{11}B en disolventes apróticos (acetonitrilo y DMSO) que involucren a distintos aniones mono- y dicargados.

5. Metodología

5.1 Reactivos

Se utilizaron reactivos comerciales disponibles para la síntesis de receptores, los ácidos borónicos, las sales de los aniones de tetrabutilamonio, y componentes para realizar las disoluciones buffer fueron suministrados por la compañía Sigma Aldrich® y Alfa Aesar® sin previa purificación. Se emplearon disolventes orgánicos grado reactivo, acetonitrilo (CH_3CN) metanol (MeOH), dimetilsulfóxido (DMSO), tetrahidrofirano (THF) y cloroformo (CHCl_3) de la marca J. T. Baker® ó Sigma Aldrich®, así como disolventes deuterados, óxido de deuterio D_2O (99.9% D), CDCl_3 (99.9% D), DMSO-d_6 (99.9% D) y Acetonitrilo- d_3 (99.8% D) de Sigma Aldrich®. Disoluciones madre de sales de sulfato, fenilfosfonato y fosfato dibásico fueron preparadas en DMSO por neutralización de los ácidos respectivo con $(\text{Bu}_4\text{N})\text{OH}$ al 40% en peso. El contenido de agua en los experimentos de titulación estuvo por debajo del 0.5 % en volumen.

El agua empleada para la preparación de disoluciones en los estudios de potenciometría y espectrofotometría fue destilada y desionizada con resistividad de $18 \pm 0.1 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ a través de un equipo Nanopure Barnstead. Las titulaciones espectroscópicas se llevaron a cabo con las disoluciones incubadas hasta el equilibrio a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por al menos 1 hora antes de comenzar el experimento de valoración y con intervalos de al menos 5 minutos entre adiciones de alícuotas de valorantes.

5.2 Mediciones de pH.

Las mediciones de pH en mezclas acuosas con disolventes orgánicos y metanol puro se realizaron con un potenciómetro de la marca Thermo Orion Modelo 710-A, con una precisión de ± 0.01 en unidad de pH empleando un electrodo de vidrio Orion 8102BNUWP. La calibración del potenciómetro se realizó previamente con amortiguadores estándar de referencia de pH 4.00, 7.00 y 10.00, de la marca Sigma Aldrich® con precisión de ± 0.01 . Estos valores de pH medidos experimentalmente ($w^s\text{pH}$) se convirtieron en los valores de $s^s\text{pH}$ correspondientes a la misma mezcla de disolvente y agua en la que se mide el pH como estado estándar utilizando la ecuación (1).¹⁰⁷

$$s^s\text{pH} = w^s\text{pH} - \delta \quad (1)$$

Los valores de δ son -0.04 para MeCN al 30 %, ¹⁰⁸ 0.22 para MeOH al 70 % ¹⁰⁹ y -2.24 para MeOH al 100 %.¹⁰⁹ Los valores de pK_a determinados a partir de los perfiles de fluorescencia o absorbancia frente a $s^s\text{pH}$ expresan la acidez de cualquier ácido en la escala de actividad de iones de hidrógeno en cada medio de reacción. Los valores de pD en disolvente MeCN/D₂O al 30 % se calcularon a partir de los valores de pH experimentales utilizando la relación $pD = \text{pH} + 0.41$ desarrollada para agua pura.

5.3 Espectrofotometría UV-VIS y fluorescencia.

Se realizaron titulaciones espectrofotométricas UV-Vis y fluorométricas a diferentes valores de pH empleando el buffer adecuado (AcOH, NaH₂PO₄, NH₄Cl, MES, MOPS o CHES 0.05 M). Para obtener los perfiles de asociación, los huéspedes se añadieron como alícuotas de una disolución madre preparada en presencia del anfitrión correspondiente, para mantener constante la concentración del receptor durante la titulación. Antes de obtener cada lectura, las mezclas se dejaron estabilizar durante 3 minutos después de cada adición del titulante. Las mediciones espectrofotométricas UV-Vis se realizó en un equipo Thermo Scientific Evolution Array, de doble haz con arreglo de diodos, ventana espectral de 190–1100 nm, redisolución de 1 nm y precisión de longitud de onda de $< \pm 0.5$ nm, equipados con compartimentos termostáticos a 25 ± 0.1 °C mediante un baño de recirculación de agua. Las mediciones de intensidad de fluorescencia se realizaron en un espectrómetro marca Horiba. En ambas técnicas se usaron celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Las constantes de equilibrio observadas de la formación del complejo (K_{obs}) se calcularon a partir de los perfiles de intensidad de fluorescencia (I) frente a la

concentración de un huésped (G) en varias longitudes de onda mediante el ajuste de mínimos cuadrados no lineales a la ecuación (2), y los resultados se promediaron.

$$I = (I_0 + I_C K_{\text{Obs}} [G]_{\text{T}}) / (1 + K_{\text{Obs}} [G]_{\text{T}}) \quad (2)$$

En la ecuación (2), el subíndice T representa la concentración total, I_0 es la intensidad de fluorescencia inicial del ácido borónico **1** medido en ausencia de G e I_C es la intensidad de fluorescencia del complejo huésped de ácido borónico. La ecuación (2) es válida en condiciones de alto exceso del huésped sobre el receptor de ácido borónico que se cumplen en todos los experimentos de titulación.

5.4 Resonancia magnética nuclear.

Se obtuvieron espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C y ^{11}B para la caracterización de algunos ligantes y de ésteres borónicos. Los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C se obtuvieron en un equipo Varian Unity Inova.

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

5.4.1 Titulaciones de RMN.

A una disolución 5 mM del anfitrión en DMSO-d_6 o MeCN-d_3 se agregaron porciones de disolución concentrada de sal aniónica en el mismo disolvente y la mezcla se incubó durante al menos 10 min después de cada adición antes de registrar el espectro. Las constantes de asociación observadas (K_A) se calcularon a partir de los perfiles de desplazamiento químico (K_{Obs}) frente a la concentración del huésped (L) mediante el ajuste de mínimos cuadrados no lineales a la ecuación (3).

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_0 + 0.5\Delta\delta \{ [L]_{\text{T}} + [B]_{\text{T}} + 1/K_{\text{Obs}} - (([L]_{\text{T}} + [B]_{\text{T}} + 1/K_{\text{Obs}})^2 - 4[L]_{\text{T}}[B]_{\text{T}})^{0.5} \} / [B]_{\text{T}} \quad (3)$$

En la ecuación (3), el subíndice T representa la concentración total, δ_0 es el desplazamiento químico de un protón dado del ácido borónico libre B medido en ausencia de L, y $\Delta\delta$ es la diferencia en los desplazamientos químicos de un protón dado entre el complejo y el ácido borónico libre.

5.5 Difracción de rayos X de monocristal.

Los cristales de los compuestos **1**·HBr y **2** adecuados para la difracción de rayos X se hicieron crecer mediante evaporación lenta a partir de disoluciones de acetonitrilo. Los detalles relevantes de los cristales, la recopilación de datos y el refinamiento de la estructura se pueden encontrar en la Tabla A1. Los datos para **1**·HBr y **2** se recopilaron en un difractorómetro Bruker APEX II CCD a 100 K, utilizando radiación Mo-K α ($k = 0,71073 \text{ \AA}$) y radiación Cu-K α ($k = 1,54178 \text{ \AA}$) para **1**·HBr y **2**, respectivamente, de una fuente Incotec μS y un monocromador óptico Helios. Los cristales adecuados se recubrieron con aceite de hidrocarburo, se recogieron con un bucle de nailon y se montaron en la corriente de nitrógeno fría del difractorómetro. Las estructuras se resolvieron mediante métodos directos y se refinaron mediante mínimos cuadrados de matriz completa en *F2* utilizando la interfaz gráfica de usuario shelXle. Los átomos de hidrógeno de los enlaces C–H se colocaron en posiciones idealizadas, para las fracciones O–H y N–H, los átomos de hidrógeno se encontraron en el mapa de densidad residual y sus posiciones se fijaron usando una distancia estándar (instrucción DFIX) con $U_{\text{iso}} = aU_{\text{eq}}$ (donde a es 1,5 para los restos $-\text{CH}_3$, $-\text{OH}$ y $-\text{NH}$ y 1,2 para los demás). Los datos cristalográficos de las dos estructuras cristalinas se han depositado en el Centro de datos cristalográficos de Cambridge, con números de identificación CCDC 2043138 – 2043139.

5.6 Síntesis de receptores.

Las reacciones de microondas se llevaron a cabo usando un instrumento CEM Discover (CEM Corporation), en un tubo de vidrio de 10 mL de sistema abierto, bajo una atmósfera de nitrógeno.

1-(antracen-9-il)-N,N-dimetilmetanamina. Este compuesto fue sintetizado como se describe en la literatura¹¹¹ y fue caracterizado a partir de RMN de ^1H (figura 18) y ^{13}C , encontrando sus señales características, además de que también se logró obtener y caracterizar por RMN de ^1H y ^{13}C a su clorhidrato correspondiente.

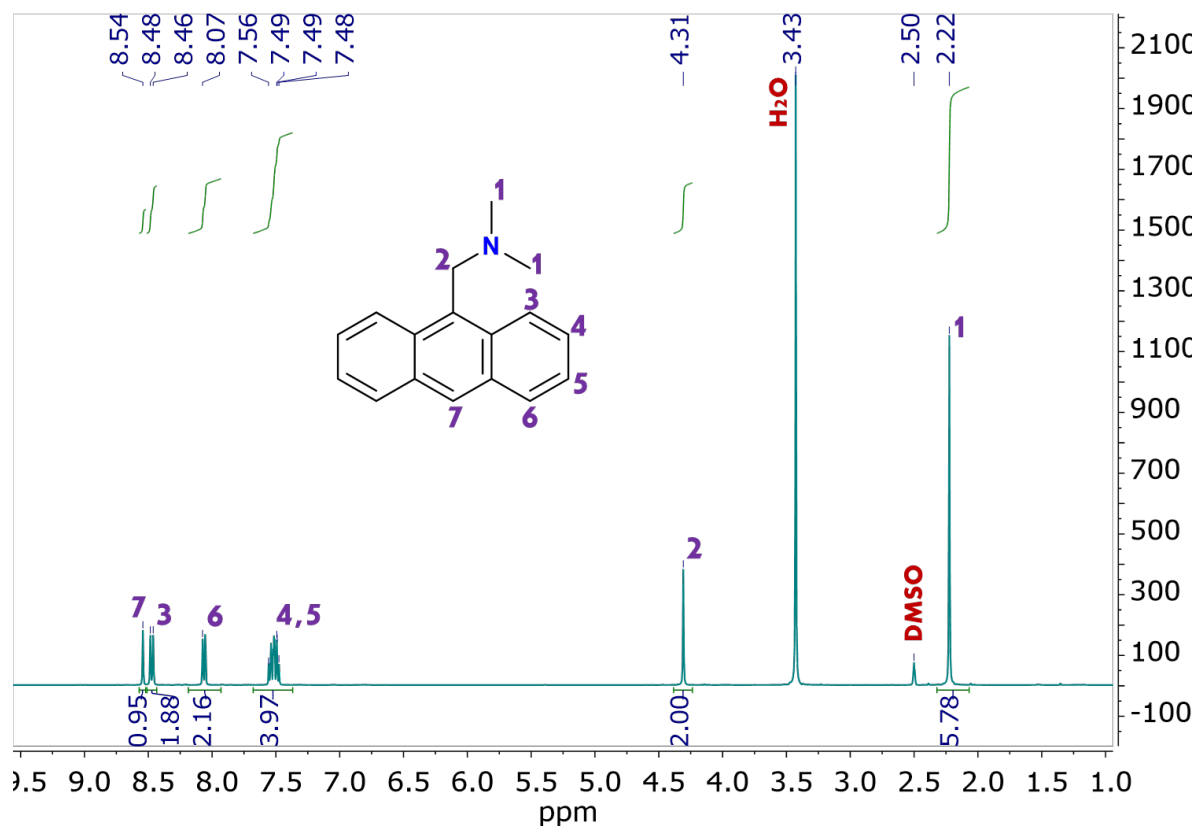


Figura 19. Espectro ¹H RMN de 1-(antracén-9-il)-N,N-dimetilmetanamina en DMSO-d₆.

La síntesis de los compuestos **1** y **2** se realizó como se describe en la literatura¹¹⁰ con modificaciones menores. Se preparó una mezcla de 3 mmol (664 mg) de 9-(metilaminometil) antraceno, 3.3 mmol del correspondiente bromuro aromático y 4,2 mmol (425 mg) de trietilamina, en THF (35 mL). La mezcla de reacción se dejó a reflujo durante 24 horas. Posteriormente, se decantó para eliminar los cristales generados, se eliminaron todos los volátiles al vacío, el producto crudo se disolvió en una mezcla de metanol al 5 % en diclorometano, y el compuesto se separó con una columna de alúmina neutra, utilizando una mezcla al 1,5 % de metanol en diclorometano. Y se identificaron por RMN de ¹H como se muestran en las figuras 20 y 21. En ambos casos se obtuvieron sólidos cristalinos de color amarillo pálido con rendimiento 58% para **1** y 42% para **2**.

Cloruro de 1-(antracen-9-il)-N-(2-boronobencil)-N,N-dimetilmetanamonio (3): En un tubo de reacción que contiene una disolución de 1-(antracen-9-il)-N,N-dimetilmetanamina (0.3 g, 1.27 mmol) y ácido (2-(bromometil)fenil)borónico (0.4 g, 1.9 mmol) en disolución seca THF (3 mL), el tubo se calentó mediante irradiación de microondas a 65 °C (potencia máxima 110 W) durante 30 min. Posteriormente, todos los volátiles se eliminaron al vacío, y el producto bruto se disolvió en metanol, por último, el producto de reacción se precipitó mediante la adición de éter isopropílico. Rendimiento: 0.24mg (47%)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.9 (1H, s, Ar-H), 8.71 (2H, d, Ar-H), 8.29 (2H, s, B(OH)₂) 8.22 (2H, d, Ar-H) 7.71 (4H, m, Ar-H), 7.60 (2H, t, Ar-H), 7.53 (2H, m, Ar-H), 5.96 (2H, d, N-CH₂-), 5.05 (2H, d, N-CH₂-), 5.05 (3H, s, N-CH₃); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ^{13}C 139.66, 135.45, 134.63, 133.39, 132.59, 132.23, 131.44, 130.08, 129.69, 128.10, 125.79, 125.14, 119.62, 66.22, 60.11, 49.27; **HRMS** (ESI-TOF) para $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{BNO}_2^+$ $[\text{M}]^+$ *calculado*: 370.2000; *encontrado*: 370.1988

5.7 Cálculos computacionales.

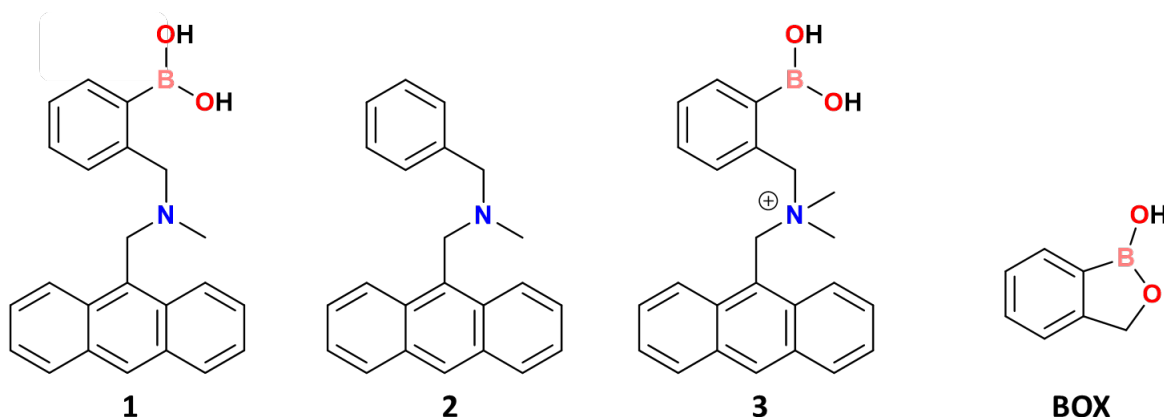
La optimización estructural se realizó a partir de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT por sus siglas en inglés), Para el caso de **1** y sus complejos con diferentes aniones se usó un conjunto funcional B97D3 con corrección de dispersión y una base 6-311+G(d,p) como se implementa en Gaussian 16. Al mismo tiempo, se realizaron cálculos de frecuencias y no se detectaron frecuencias imaginarias en todos los casos. Los cálculos se llevaron a cabo utilizando el método de solvatación Polarizable Continuum Model (PCM) utilizando como disolvente al DMSO.

Para los complejos de **1** con dioles, y **BOX** con diferentes aniones, se usó la base M062X funcional y Def2TZVP como se implementa en Gaussian 16. La estructura de benzoxaborol libre se optimizó a partir de las coordenadas de la estructura cristalina informada. No hay frecuencias imaginarias en el análisis de todas las estructuras calculadas. Los cálculos se realizaron con el método Solvation Model Based on Density (SMD) para tener en cuenta el efecto de solvatación.

6. Resultados y discusión

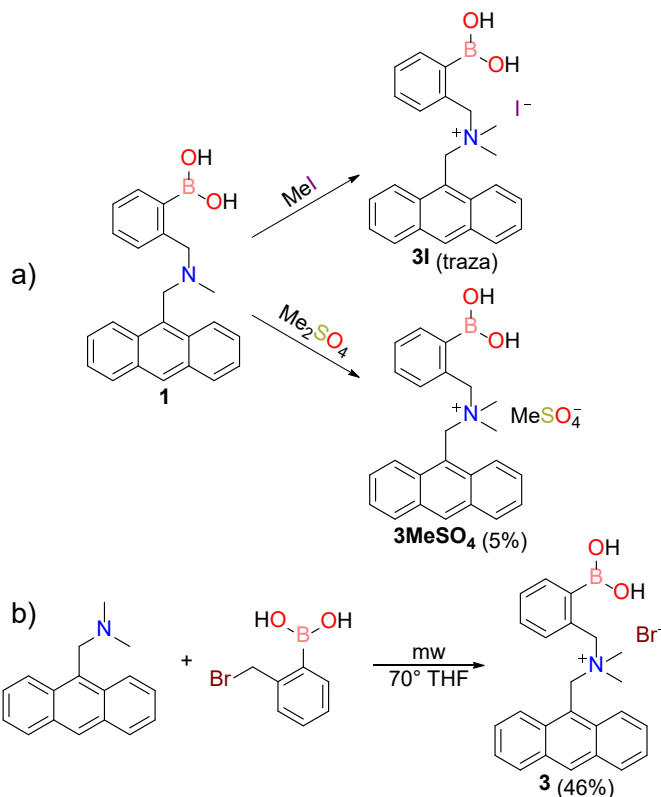
6.1 Síntesis de moléculas receptoras

Los estudios de reconocimiento molecular de azúcares y aniones se realizaron con cuatro receptores:



Los compuestos **1** y **2** fueron preparados por métodos reportados (ver Metodología) y BOX es un reactivo comercial. En la preparación de **3** sin embargo encontramos dificultades significativas.

Después de mucho esfuerzo se logró aislar con rendimientos favorables y caracterizar al compuesto **3**, el cual es de suma importancia para la elucidación del mecanismo de recepción de azúcares y de esta manera entender el papel que desempeña el par libre de electrones del nitrógeno. A pesar de los diferentes intentos de la metilación de **1** con distintos agentes metilantes, (esquema 6a y Tabla A2) nunca se llevó con éxito esta reacción, sin embargo, el compuesto se logró aislar a partir de una reacción de condensación entre el ácido 2-(bromometil)fenilborónico y el 1-(9-Antril)-N,N-dimetilmetanamina. (esquema 6b)



Esquema 6 Rutas para la síntesis de 3.

El yoduro de metilo es un buen agente metilante, debido a que el yoduro es un grupo saliente muy bueno, el yoduro de metilo es un sustrato excelente para las reacciones S_N2 .¹¹² Sin embargo a pesar de los múltiples intentos y condiciones probadas nunca se logró observar de manera considerable al compuesto **3I**. Posteriormente se decidió utilizar al dimetilsulfato, a pesar de su alta toxicidad, tiene una mayor reactividad que el MeI, y además presenta una mayor economía atómica.¹¹³ Para este caso, se logró una conversión de tan solo el 5%, lo que es un gran inconveniente como ruta sintética, además de tener como anión $MeSO_4^-$ el cual sigue teniendo una alta toxicidad, y un paso adicional para cambiar el contraion, representaba una ruta inviable.

En vista del éxito no obtenido, se planteó una ruta alterna, en donde el grupo nucleófilo ahora sea el 1-(9-antril)-N,N-dimetilmetanamina y el electrófilo será el ácido 2-(bromometil)fenilborónico (esquema 6b), sin embargo al hacer en THF y a reflujo, se encuentran trazas del producto. Un problema que se encuentra al realizar en esta reacción es que el ácido 2-(bromometil)fenilborónico tiene dos centros electrofílicos, siendo el punto de ataque deseado el carbono bencílico, mientras que un nucleófilo también podría atacar al orbital p disponible del átomo de boro, lo que podría suponer en

la formación del aducto ácido-base, lo que baja el rendimiento de la reacción. Una forma que se encontró para evitar la formación de este aducto y promover la formación de **3**, fue realizando la reacción por microondas. Esto mejora de manera drástica los rendimientos de reacción, llegando a obtener un rendimiento de hasta el 46%.

6.2 Identificación de **3** por RMN

6.2.1 RMN de ^1H

Al ya poder obtener al compuesto **3** con rendimientos aceptables se identificó primeramente por RMN de ^1H (figura 22), como se puede notar en el espectro obtenido, es fácil la identificación de los metilenos adyacentes al átomo de nitrógeno, se encuentran 5.05 y 5.93 ppm, estos desplazamientos químicos se encuentran a valores relativamente altos para un metileno, debido que al no estar solo unidos al átomo de nitrógeno, el otro grupo vecinal son fragmentos aromáticos, lo que aumenta el desplazamiento químico que tienen los metilenos, siendo el antraceno el que causa un mayor efecto, y por ende el debería ser el metileno con la señal a mayor desplazamiento químico.

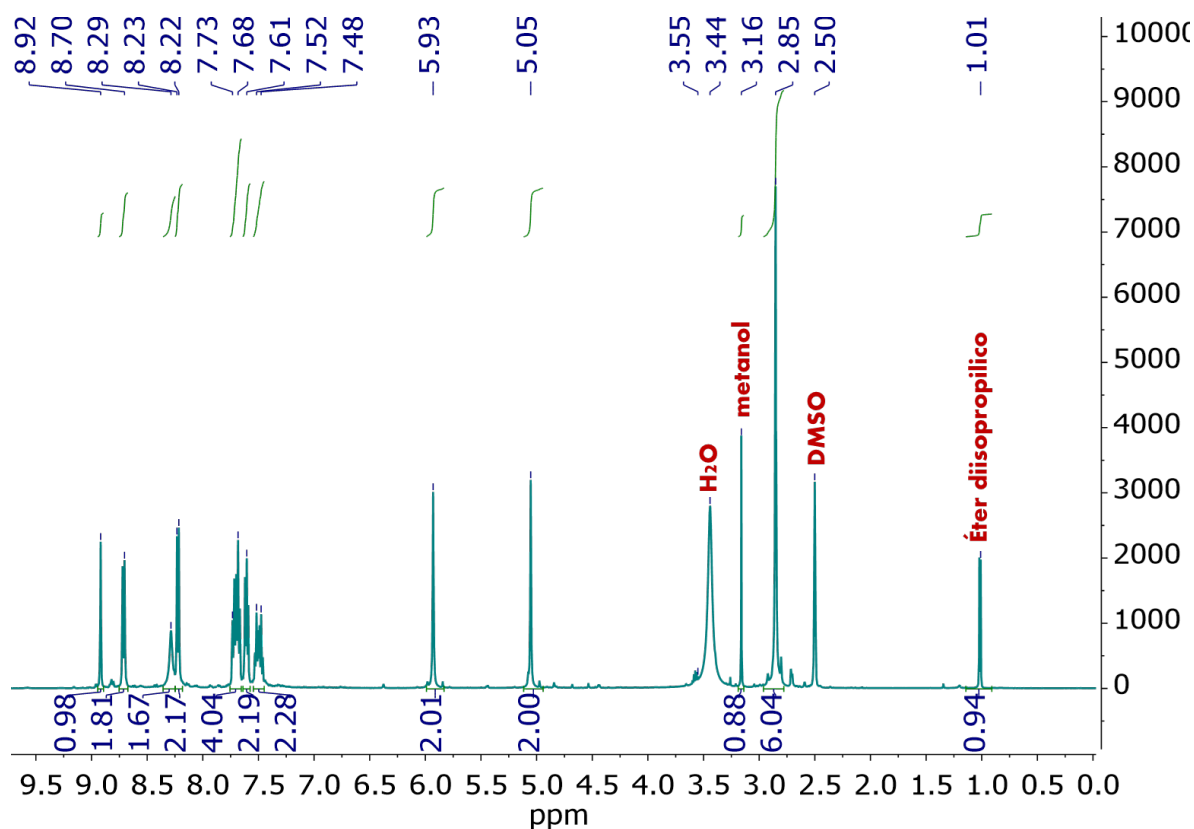


Figura 22 Espectro de RMN ^1H del compuesto **3**

Otra señal que tiene una fácil interpretación es la encontrada en 2.85 ppm, el cual corresponde a los metilos unidos al nitrógeno, los cuales se encuentran en un desplazamiento químico típico para metilos adyacentes al grupo amonio. Terminando de interpretar la parte de los carbonos alifáticos, se observan las señales para el diisopropil éter, una señal simple en 1.01 ppm correspondiente a sus metilos, y una señal septuple en 3.55 ppm correspondiente al *CH* de la molécula, además de observar metanol debido al protón del metilo en 3.16 ppm, ambos disolventes utilizados en su proceso de purificación.

Por último, falta interpretar las señales en la zona aromática, por lo que es importante tomar en cuenta las señales del antraceno reportadas hasta el momento, estas generalmente están conformadas por dos multipletes, uno en 7.42 y la otra en 8 ppm correspondientes a los protones 1 y 2 equivalentes en el antraceno, y los protones 3 y 8 respectivamente, estos deberían corresponder a una multiplicidad de ddd. Para nuestro caso ese juego de señales sería equivalente a las tres señales ubicadas en 7.52, 6.61 y 7.70 ppm, esto debido a que ahora **3** rompe con la alta simetría que poseía el antraceno, lo que complica su elucidación, además el antraceno tiene un señal simple más, correspondiente a los *CH* equivalentes 4 y 9 del antraceno (en el caso de **3**, la posición 9 es la que esta sustituida) el cual siempre se encuentra a campo más alto que las señales múltiples, sin embargo en nuestro caso poseemos dos señales con estas características, una a 8.23 y la otra en 8.92 ppm, por lo que para hacer una elucidación más adecuada fue necesario el realizar experimentos bidimensionales para una correcta interpretación.

6.2.2 HSQC

En el espectro bidimensional obtenido (figura 23), la parte alifática correlaciona sin problema con los carbonos correspondientes a lo que se discutió anteriormente, centrándose más en la parte aromática, cabe resaltar que hay un par de dobletes que aún no se han identificado de manera adecuada. Uno a 8.22 y 8.71 ppm, los cuales corresponden a los protones aromáticos del anillo que contiene al ácido borónico, siendo la señal con mayor desplazamiento químico el protón más cercano el ácido borónico, ya que este grupo genera un efecto de desprotección a los protones adyacentes a él, en comparación con el grupo metileno.

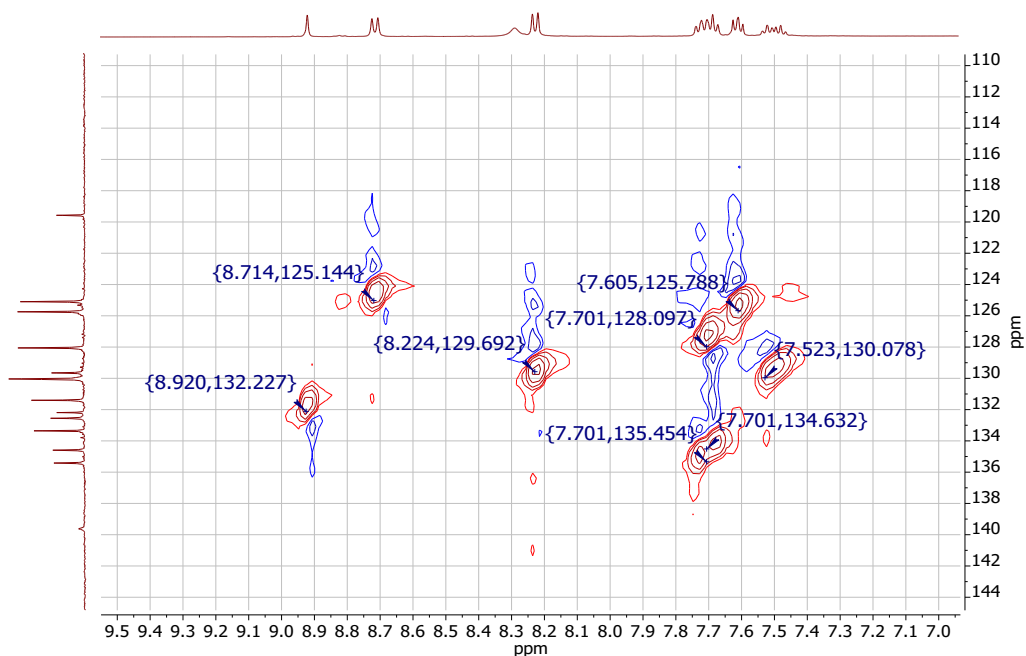


Figura 23 Espectro de RMN HSQC del compuesto **3**

Para el caso de las señales del antraceno, encontramos un multiplete a 7.52 ppm, la cual corresponde a un solo tipo de carbono, y a dos protones por integración, al ser el de campo más alto, y ser una señal compleja, debe corresponder al hidrógeno en posición 2 del antraceno, ya que este debería conservar una multiplicidad ddd, y al estar más alejado del sustituyente (una cadena de carbonos) tiende a ir a frecuencias más bajas en comparación con la posición 1. Mientras que se observa un triplete en 7.60 ppm, la cual, de igual manera íntegra para 2 átomos de hidrógeno, esto corresponde al protón en posición 1, que presenta en realidad una multiplicidad dd, ya que al estar sustituido en posición 9 del receptor **3**, deberá bajar su multiplicidad, simulando un triplete. El multiplete a mayor desplazamiento químico (7.70 ppm) correlaciona a 2 átomos de carbono, y a 4 protones, lo que nos indica que deberían corresponder a las posiciones 3 y 8 del antraceno, las cuales generalmente presentan un mayor desplazamiento químico en el antraceno no sustituido (con excepción de la posición 9 y 4 los cuales son singuletes de manera general). Habiendo aclarado la mayoría de las señales observadas por RMN, solo nos queda una señal que correlaciona con un carbono, la cual está ubicada en 8.92 ppm, y al integrar para un solo hidrógeno nos deja que es el ubicado en posición 4, mientras que la señal en 8.29 ppm debe corresponder al protón del grupo $-B(OH)_2$, no viendo su integración debido a que puede haber intercambio isotópico con las trazas de agua

deuterada, además de interactuar por puentes de hidrógeno con el mismo disolvente lo que también provoca el ensanchamiento de señales.

6.3 Recepción de carbohidratos

6.3.1 Comportamiento de **1** en MeCN/agua

Una de las primeras limitaciones al estudiar el receptor **1**, es que tiende a autoagregarse, además de tener una baja solubilidad en distintos medios. Debido a esto, los estudios anteriores se han realizado en mezclas de disolventes, como puede ser agua-metanol. Sin embargo, se ha demostrado que incluso en agua-metanol 2:1, el receptor todavía se autoagrega fuertemente.¹⁰ Por lo que fue necesario el probar distintos codisolventes, donde se notó que el receptor **1** es más soluble en acetonitrilo que en metanol, además de que es posible controlar el pH a partir del uso de sistemas buffer en mezclas 7:3 agua-acetonitrilo. Esto nos indicó que el acetonitrilo acuoso proporciono las condiciones deseables para el estudio.

Para corroborar la falta de autoagregación de **1**, se midió la intensidad de fluorescencia a concentraciones micromolares, la cual fue estrictamente proporcional a la concentración del receptor, y no se observaron cambios después de sonicar las disoluciones de manera prolongada (6 horas), a parte no mostró una emisión en el rango característico de 500-580 nm para la forma agregada.

La figura 24a ilustra la valoración de fluorescencia de **1** con una concentración 5 μ M en acetonitrilo 30% vol. en agua que contiene una mezcla buffer de acetato, fosfato y amoníaco 5 mM a pH variable. La Figura 24b muestra la intensidad de fluorescencia frente a los perfiles de pH obtenidos, tanto en dirección creciente del pH como decreciente, esto demuestra la reversibilidad completa de los cambios espectrales. A partir de estos gráficos se calcularon dos valores de pK_a : $pK_{a1} = 6.09 \pm 0.02$ y $pK_{a2} = 10.9 \pm 0.02$. De acuerdo con el comportamiento ácido-base establecido de **1**,¹³ el primer pK_a se refiere a la disociación del grupo ácido borónico convirtiendo el $\mathbf{1H}^+$ en el ión bipolar $\mathbf{1}^\pm$ y el segundo pK_a corresponde a la disociación del grupo amonio que produce el anión de $\mathbf{1OH}^-$ (Esquema 2). La intensidad de fluorescencia de $\mathbf{1}^\pm$ es 4 veces menor que la del **1** protonado. Todas estas observaciones concuerdan bien con los resultados encontrados en la literatura.¹³

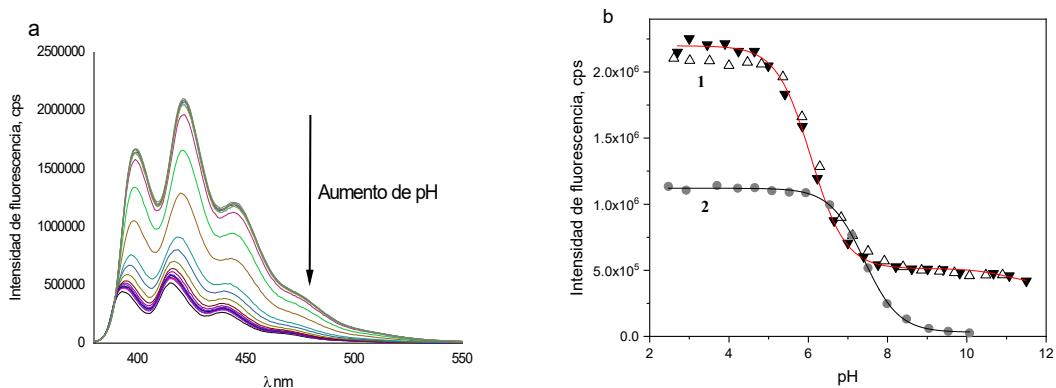


Figura 24 a) Espectros de fluorescencia de 5 μM **1** a diferentes pH (2.7-11.5) en mezcla acetronitrilo-agua 30%, $\lambda_{\text{excitación}} = 368 \text{ nm}$. b) Perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. pH para los compuestos **1** y **2**. $\lambda_{\text{excitación}} = 367 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{emisión}} = 416 \text{ nm}$. Los triángulos negros corresponden a un perfil en la dirección creciente del pH y los triángulos blancos a la dirección decreciente.

El perfil de pH de fluorescencia para el compuesto de referencia **2** también se muestra en la figura 24b. El ajuste arroja un $\text{pK}_a = 7.41 \pm 0.02$, que pertenece a la desprotonación de su grupo amonio. Puede compararse con $\text{pK}_a = 7.9$ correspondiente al bis(dimetilaminometileno) antraceno estructuralmente relacionado en agua-metanol 8:2.¹¹⁴ También se obtuvo un $\text{pK}_a = 10.00 \pm 0.02$ para ácido fenilborónico (AFB) en acetonitrilo al 30% mediante la titulación potenciométrica (Figura 25).

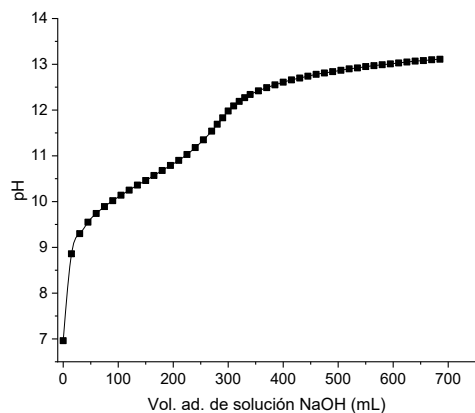


Figura 25 Valoración del ácido fenilborónico (10.1 mM) en acetonitrilo 30% en agua, valorante: $[\text{NaOH}] = 0.25 \text{ M}$.

Así, en comparación con sus fragmentos monofuncionales, **1** tiene el pK_a del grupo borónico disminuido en 3.9 unidades logarítmicas y el pK_a del grupo amonio aumentado en 3.5 unidades como resultado de la estabilización del par iónico intramolecular en **1**[±].

Una manifestación clásica de la detección de azúcar por **1** es el cambio del perfil de fluorescencia de pH a una intensidad de fluorescencia más alta a pH > pK_{a1} en presencia de azúcar agregada.¹¹⁰ El experimento respectivo se muestra en la Figura 26a con fructosa agregada y sorprendentemente, demuestra una fuerte irreversibilidad de los gráficos de titulación al aumentar o disminuir el pH en un amplio espectro. Sin embargo, cuando la titulación se detuvo a pH 10.5 (Figura 26b) los perfiles se volvieron completamente reversibles. Aparentemente, el receptor sufre degradación en medios fuertemente alcalinos, muy probablemente una reacción de protodeboronación¹¹⁵⁻¹¹⁷ promovida por la complejación con fructosa. En todos los experimentos posteriores, los valores de pH se limitaron a un pH < 10.5 para evitar este efecto.

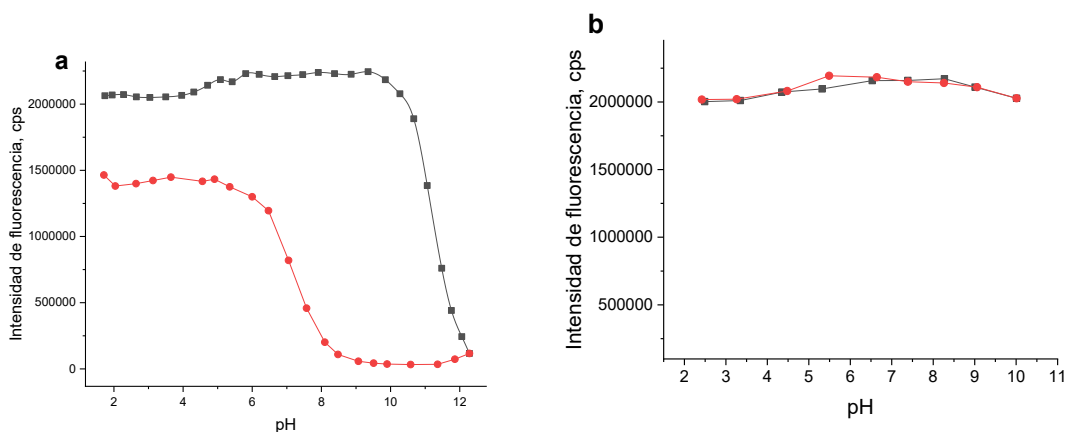


Figura 26. Perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. pH de 5 mM **1** con fructosa (0.05M) en acetonitrilo al 30% en agua con buffer de acetato-amonio-fosfato, $\lambda_{\text{excitación}} = 367 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{emisión}} = 416 \text{ nm}$. Los puntos negros corresponden a un perfil en la dirección creciente del pH y los puntos rojos a la dirección decreciente; (a) intervalo de pH 2 – 12, (b) intervalo de pH 2-10.5.

La Figura 27a ilustra los perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. pH obtenidos con diferentes di- y polioles, en conjunto denominados polioles a través del texto para mayor facilidad. Los perfiles de concentración de polioles obtenidos a valores de pH fijos por encima del pK_a del receptor se muestran en la figura 27b

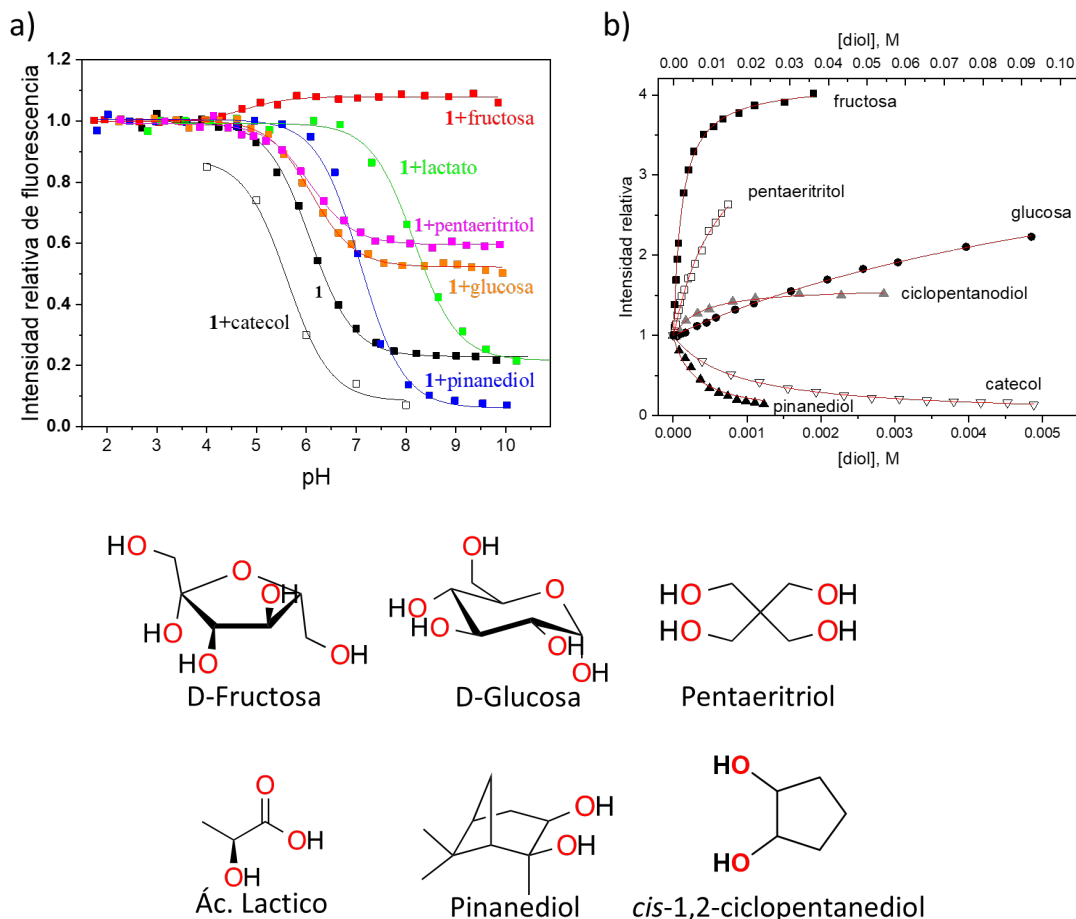


Figura 27 a) Perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. pH de 5 mM **1** con diferentes polioles, 30% acetonitrilo, $\lambda_{\text{excitación}} = 367$ nm, $\lambda_{\text{emisión}} = 416$ nm. Concentraciones: fructosa 0.05 M, pentaeritritol 0.01 M, glucosa 0.05 M, lactato 0.1 M, pinanediol 1 mM, catecol 2 mM. b) Fluorescencia relativa de **1** 5 μ M en función de la concentración de polioles a valores de pH fijos (7.00-9.00) indicados en la Tabla 1, $\lambda_{\text{excitación}} = 367$ nm, $\lambda_{\text{emisión}} = 416$ nm.

Las adiciones de todos los polioles ensayados excepto el catecol no cambió la intensidad de fluorescencia de **1** en medio ácido, que es cuando está en la forma catiónica **1H⁺** con un grupo ácido borónico trigonal neutro. Esto puede ser el resultado de la inestabilidad de los complejos de ácido borónico trigonal o de la ausencia de cualquier efecto de activación (o desactivación) durante la formación del complejo trigonal. Si, como se suele observar en medios acuosos, K_{trig} es menor que K_{tet} , el pK_{a} aparente del receptor ($\text{pK}_{\text{a,obs}}$) debe desplazarse a valores más bajos en presencia de diol (D) de acuerdo con la ecuación (4). Sin embargo, la inspección de la figura 27a muestra que esto puede ser el

caso solo para el catecol y la fructosa, mientras que otros dioles tienen poco efecto sobre $pK_{a,obs}$ o incluso lo desplazan en la dirección opuesta.

$$pK_{a,obs} = pK_a - \log\left\{\frac{1 + K_{tet}[D]}{1 + K_{trig}[D]}\right\} \quad (4)$$

Todos los perfiles de pH en la figura 26a se ajustan muy bien a la ecuación habitual para un proceso controlado por ionización de un solo grupo ionógeno con valores de $pK_{a,obs}$ aparentes dados en la Tabla 1. El análisis de estos perfiles de pH requiere el conocimiento del grado de complejación de **1** con diferentes polioles, que pueden estimarse a partir de las respectivas constantes de unión determinadas a partir de los perfiles de titulación a valores de pH fijos que se muestran en la Fig. 27b. Las constantes de unión observadas (K_{obs}) y los efectos de activación o desactivación en saturación (I_c/I_o) para cada diol se dan en la Tabla 1

Tabla 1 Constantes de equilibrio en 30% MeCN acuoso para **1**.

diol	Perfiles de pH			Perfiles de asociación		
	$pK_{a,obs}$	[diol], M	$pK_{a,calc}^a)$	K_{obs}	I_c/I_o	pH
Ninguno	6.09				4.05 ^{b)}	
Fructosa	4.8	0.05	4.7	480	4.15	7.73
Glucosa	6.10	0.05	5.94	8.3	4.02	7.7
pentaeritritol	6.08	0.01	5.84	80	4.05	7.35
cis-1,2-ciclopentenediol	ND ^{c)}			140	1.61	7.4
pinanediol	7.08	0.001	5.41 ^{d)}	3800	0	9.0
lactato	8.17	0.1	8.16 ^{e)}	150	3.14	7.05

a) Calculado con la ecuación (4) asumiendo $K_{trig}[D] \ll 1$.

b) Proporción de la intensidad de fluorescencia a pH 5 y 9 para el receptor libre.

c) No determinado

d) $pK_{a,calc} = 6.62$ considerando la formación de un éster trigonal, ver el texto

e) Calculado con la ecuación (4) modificada como esta descrito en el texto

Todas las titulaciones en la figura 27b se realizan a $pH > pK_a + 1$ y, por lo tanto, K_{obs} debe ser igual a K_{tet} para todos los polioles excepto el lactato que se analizará por separado. Las K_{obs} 's son significativamente más pequeños que la K_{tet} informado para el ácido fenilborónico (AFB) con los mismos polioles en agua y para **1** en metanol acuoso, lo que indica un efecto desfavorable del acetonitrilo como codisolvente sobre la estabilidad del anión del éster borónico (por ejemplo con fructosa: $K_{obs} = 1000 \text{ M}^{-1}$ a pH 7.77, $I_{sat}/I_o = 3.1$ en 33.3% MeOH⁶⁾ Suponiendo que $K_{obs} = K_{tet}$ y $K_{trig}[D] \ll 1$, se puede estimar a partir de la ecuación (4) el pK_a esperado, observable en presencia de cada poliol a la concentración empleada en los perfiles de pH (Fig. 27a, Tabla 1) para el caso en el que la formación de complejos trigonales es insignificante. Los valores respectivos de $pK_{a, calc}$

mostrados en la tabla 1 en todos los casos son menores que los valores experimentales de $pK_{a,obs}$. Esto significa que, de hecho, el supuesto $K_{trig} [D] \ll 1$ no es válido en menor o mayor grado dependiendo del poliol, y se produce la formación de complejos trigonales, que no afectan la fluorescencia de $1H^+$ exceptuando el caso del catecol, que muestra la extinción de fluorescencia inclusive en disoluciones ácidas.

El catecol se tratará por separado de otros polioles porque apaga la fluorescencia del antraceno a través de la transferencia de electrones fotoinducida (PET), y por lo tanto, induce el efecto de apagado opuesto a los efectos de encendido de los azúcares. El efecto de extinción del catecol se utilizó para determinar sus constantes de unión a **1** a pH variable y para obtener $K_{tet} = 1200 M^{-1}$ y $K_{trig} = 100 M^{-1}$ a partir del perfil de K_{obs} frente a pH Figura A2. Por lo tanto, la relación K_{tet} / K_{trig} es solo 12, lo que contrasta fuertemente con los valores K_{tet} / K_{trig} del orden de 10^3 reportados para ácidos fenilborónicos con diferentes polioles.⁶¹ Esto está en línea con la observación de un pequeño cambio en pK_a inducido por polioles para un compuesto modelo estructuralmente relacionado con **1**.⁶² El pequeño cambio en el pK_a observado implica valores similares de K_{trig} y K_{tet} de acuerdo con la ecuación (4), que se deriva de la naturaleza cíclica de los procesos de complejación en el esquema 2. Incidentalmente, la formación del éster trigonal conduce a la sustitución de protones en $B(OH)_2$ con el fragmento de poliol, que de acuerdo con el mecanismo de “loose bolt” debería potenciar la fluorescencia, pero no observa algún efecto

Regresando a los resultados de Tabla 1 podemos observar que las desviaciones de $pK_{a,calc}$ de los valores experimentales están en los límites de 0.2 unidades logarítmicas en todos los casos, excepto el pinanediol. Para pinanediol el desplazamiento de pK_a experimental es opuesto a predicho, esto puede ser explicado por el hecho de que al contraste a otros dioles, pinanediol forma ésteres trigonales mas estables que tetraédricos, con una relación $K_{tet}/K_{trig} < 1$.¹¹⁷ Con el valor $K_{trig}/K_{tet} \approx 4$ reportado para el ácido 2-fluorfenilborónico y asumiendo que K_{obs} dado en la Tabla 1 es igual a K_{tet} obtenemos de la ecuación (4) un $pK_{a,calc} = 6.62$ que predice correctamente un aumento de pK_a en la presencia de este diol.

Otro ligante que aumenta el valor de $pK_{a,obs}$ es lactato (Fig. 26a). El perfil de pH con ácido láctico tiene una forma diferente ya que tiene un pK_a bajo y se desprotona antes de que tenga lugar la ionización del ácido borónico a valores crecientes de pH. El pH óptimo (pH_{opt}) para la formación del éster de boronato con un diol, el cual sufre de desprotonación con un pK_a^D , viene dado por la ecuación $pH_{opt} = (pK_a^D + pK_a^B)/2$, donde

pK_a^B corresponde al ácido borónico. Se determinó un $pK_a^D = 4.07 \pm 0.03$ para el ácido láctico en MeCN acuoso al 30% por titulación potenciométrica, por lo tanto obtenemos $pH_{opt} = 5.08$ para este ligante. De hecho, la titulación de fluorescencia por lactato a pH 5.0 (Figura A3) da $K_{obs} = 1160 \pm 140 M^{-1}$, un valor muy superior al de pH 7 (tabla 1). Por su significado físico este valor de K_{obs} corresponde a la complejación del anión lactato con la forma neutra del ácido borónico (K_{tet}').¹³³ La ecuación (4) para $pK_{a,obs}$ en este caso toma la forma $pK_{a,obs} = pK_a^B + \log(1 + K_{tet}'[D])$, lo que da, bajo las condiciones de la figura 27b, $pK_{a,calc} = 8.16$. El efecto de activación a la saturación (Tabla 1, valores de I_c/I_0) para los polioles es de aproximadamente 4 veces y es similar con la mayoría de los ligantes, de acuerdo con las observaciones previas,^{6,11,110} pero es solo de 1.6 veces para los cis-1,2-ciclopentanodiol y se transforma en una señal de apagado para el pinanediol. La posible razón de estas desviaciones se discutirá más adelante.

6.3.2 Efecto isotópico del disolvente en 1

Con las mismas condiciones en cuanto a la proporción de acetonitrilo, se probó también el uso de agua deuterada para ver el efecto que tiene el deuterio al ser intercambiado en **1**. En acuerdo con resultados de Ref. 9 el receptor **5** pierde su capacidad de detección en agua deuterada que los autores interpretan como comprobante del mecanismo de “loose bolt”. El perfil de fluorescencia vs. pD para **1** no fue reportado. Nosotros observamos que el perfil de pD con el receptor **1** en D₂O es muy similar al perfil de pH en H₂O solo con un valor de pK_a elevado en D₂O ($pK_{aD} = 7.41 \pm 0.02$), (figura 28). De la misma manera se presentan los perfiles de asociación con fructosa en agua y agua pesada con constantes de asociación muy cercanos ($K_A = 568 \pm 16 M^{-1}$ en D₂O) lo cual no representa un cambio fuera de lo ordinario, y sigue la misma tendencia de aumento de la fluorescencia en presencia de fructosa (figura 28). Esto contradice al mecanismo de “loose bolt” que considera que al existir un intercambio de hidrógeno por deuterio, este es más pesado y por lo tanto detiene el “loose bolt” aumentando la fluorescencia, de tal manera que no debería de existir cambio de fluorescencia entre el ácido borónico libre y el éster borónico, pero al ver un comportamiento similar en agua y agua pesada indica que el mecanismo de **1** debe ir por otra ruta.

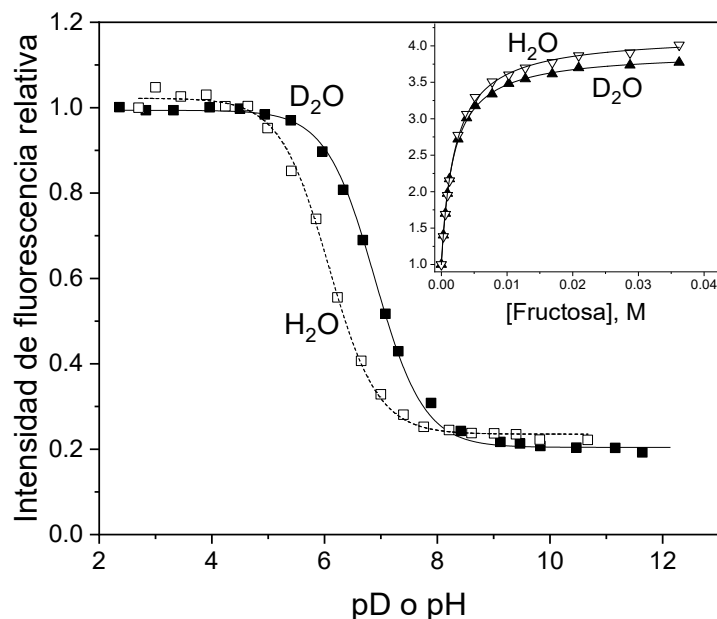


Figura 28 Perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. pH o pD de **1** en 30% de acetonitrilo acuoso, contiene una mezcla buffer de acetato, fosfato y amoníaco 5 mM, y perfiles de asociación de **1** con fructosa en 30% de acetonitrilo en agua.

La comparación entre los cambios de fluorescencia en H₂O y D₂O en el trabajo de James⁹ se realizan sin amortiguador y sin el control de pH. Por esta razón un problema en estos estudios es el efecto de aumento de pK_a en D₂O (Figura 28) que puede subir la fracción de la forma protonada del receptor y así bajar su sensibilidad a la adición del azúcar.

Sin embargo, parece más probable otra explicación en la discrepancia entre nuestros datos y los de James relacionada con la diferente naturaleza de los fluoróforos en los receptores **1** y **5**. El receptor **5**, usado por James emplea una naftalimida, que es un fluoróforo mucho más polar comparando con antraceno, y por lo general mucho más sensible a los cambios en solvatación en particular a un efecto isotópico. Esto se debe a la contribución de las transiciones de la transferencia de carga intramolecular (ICT) en el estado excitado de naftalimidias¹¹⁸ mientras que en el caso de antraceno hay la contribución de transiciones sencillas π - π^* principalmente y los fluoróforos de este tipo no muestran un efecto isotópico del disolvente.¹¹⁹ Un alto efecto isotópico del disolvente en la fluorescencia de naftalimidias se interpreta en términos del acoplamiento entre los movimientos electrónicos del soluto y el movimiento vibracional del disolvente¹²⁰ lo que es favorable en el mecanismo de "loose bolt".

Entonces, es posible que la generalización hecha en trabajos^{105,124} del mecanismo etiquetado como “loose bolt” a todos los receptores basados en ácidos arilborónicos orto-sustituidos con el grupo metilamina y acoplados con un fluoróforo no es válido. A continuación, encontraremos otros aspectos del funcionamiento de **1** que muestran un mecanismo de funcionamiento diferente al de “loose bolt”.

6.3.3 Comportamiento de **1** en metanol

Par analogía con sistemas acuosos en primera instancia se realizaron perfiles de fluorescencia vs. pH con dos sistemas buffer, para ver el efecto de este en la fluorescencia de **1**, por lo que se probó utilizando un sistema AcOH/AcO⁻ y HNEt₃⁺/NEt₃, y se calcularon los valores de pH a partir del número de equivalentes adicionado de ácido al sistema esto tanto en el caso del receptor libre como en presencia de fructosa (Figura 29). En este y todos los experimentos subsiguientes, la escala de pH se expresa en valores de ^spH calculados para el mismo disolvente o la misma mezcla de disolvente y agua en la que se mide el pH como estado estándar. Esto se logró gracias a que los valores de pKa para AcOH y HNEt₃⁺ ya han sido reportados anteriormente en metanol puro.¹²¹

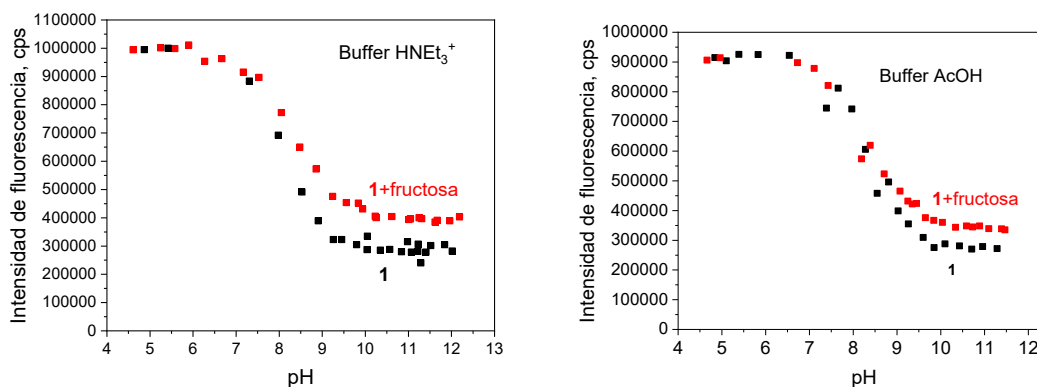


Figura 29 Perfiles de pH de **1** (5 mM) con y sin fructosa en metanol. a) utilizando buffer de HNEt₃⁺/NEt₃ 10 mM. b) utilizando buffer de AcOH/AcONa 10 mM

Se observaron cambios pequeños entre los perfiles de **1** como de **1** + fructosa, donde solo se hay un ligero aumento en la fluorescencia para el caso del éster borónico en su forma desprotonada. Posteriormente para poder trabajar en metanol de manera directa con un electrodo, implica realizar una corrección la cual ya ha sido reportado anteriormente en la literatura y corresponde a la ecuación ^swpH - ^spH = -2.24, donde ^swpH

es el pH medido directamente en un electrodo calibrado con buffers en agua y s_pH es el valor del pH real en metanol. De esta manera se realizaron los perfiles de pH de **2** como se muestran en la figura 30 e incluso se observó reversibilidad del sistema a pH arriba de 12.

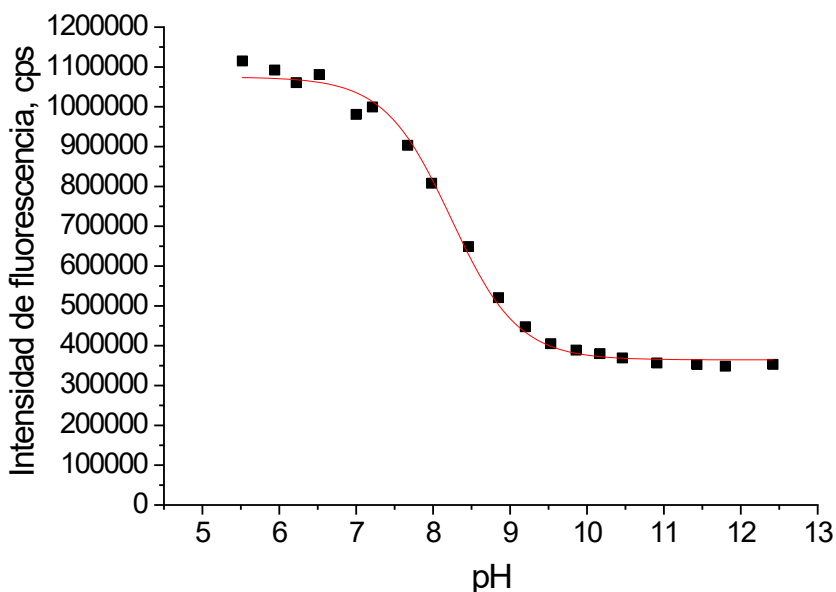


Figura 30 Perfil de pH de **2** 5 mM, con buffer de AcOH/AcO⁻ 10 mM

Para el caso de **1** se observó que tiene un $pK_a = 8.34 \pm 0.04$ el cual corresponde al grupo ácido borónico, este es casi 3 unidades menor que en el caso del AFB en metanol puro ($pK_a = 11.25 \pm 0.05$) lo cual concuerda con lo encontrado en las mezclas de acetonitrilo-agua presentadas anteriormente. Por otra parte, también se realizaron experimentos de **1** con diferentes polioles, en donde se observaron altos valores en las constantes de asociación en comparación con lo observado en acetonitrilo, sin embargo, los cambios de fluorescencia que se observan son mucho más pequeños, con excepción del catecol, el cual sigue teniendo un efecto de apagamiento pronunciado.

Tabla 2 Constantes de asociación en metanol para **1**.

diol	Perfiles de asociación		
	K_{obs}, M^{-1}	I_c/I_0	pH
Fructosa	1300±400	1.23	9.3
Glucosa	900±400	1.39	9.2
Sorbitol	8500±2300	1.33	9.3

Lactato	8500±2000	1.17	9.3
Manosa	400±160	1.40	9.2
Catecol	4200±400	0.23	9.5
Pinanediol ^{a)}	2700±900 ^{a)}	1.55	9.3

a) No se observaron cambios de manera directa por lo que la constante fue determinada por competencia con catecol 0.5 mM

Para entender los cambios pequeños de fluorescencia en metanol, se propuso ver el cambio de fluorescencia al incrementar el porcentaje de agua en el medio, para esto se realizaron diferentes mediciones en metanol, y se fue subiendo la proporción de agua, tanto en presencia de fructosa como en forma libre de **1** todo a pH controlado, Figura 31.

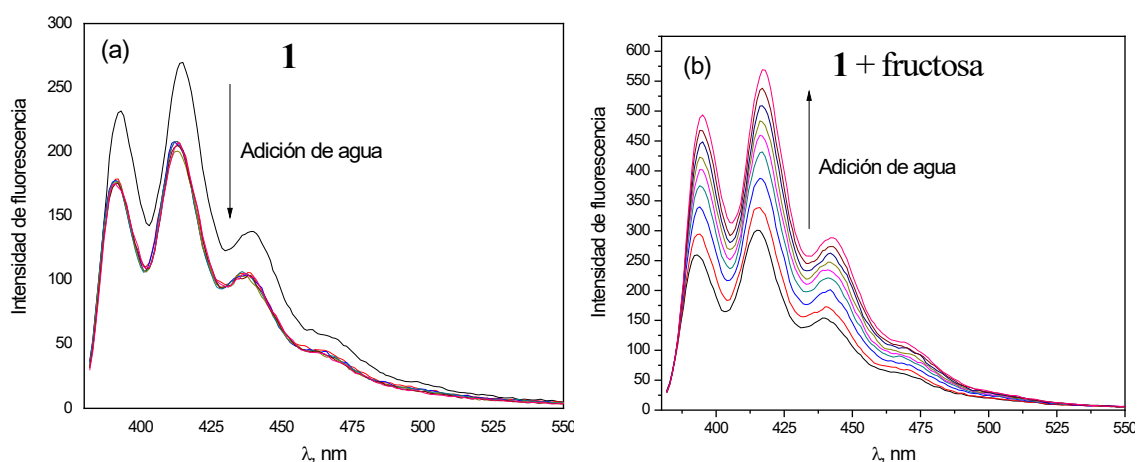


Figura 31 Emisión de fluorescencia de **1** 5 mM a pH 10.0 (0.05 M Et₃N/Et₃NHCl) con distintas proporciones de agua de 0 a 45 % vol. en $\lambda_{ex} = 370$ nm. (a) **1** libre, (b) **1** en presencia de 0.05 M fructosa.

Los perfiles de la intensidad de fluorescencia vs. cantidad de agua añadida están ilustrados en la Figura 32. En el caso de **1** libre, se observa una disminución de la fluorescencia inmediatamente al incorporar agua al medio y se mantiene constante de 10% al 44%. Mientras que en el caso de **1** con fructosa se observa un aumento de la intensidad de fluorescencia.

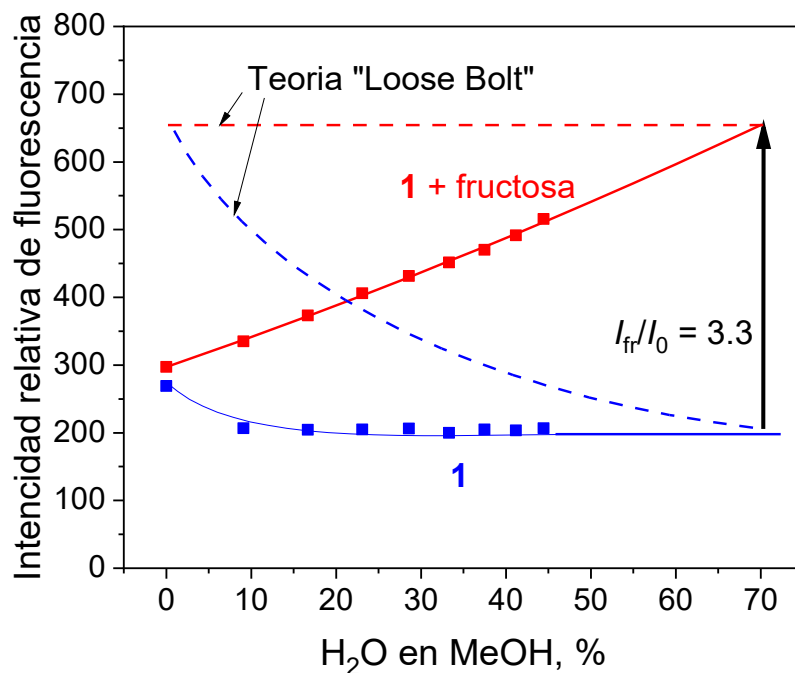


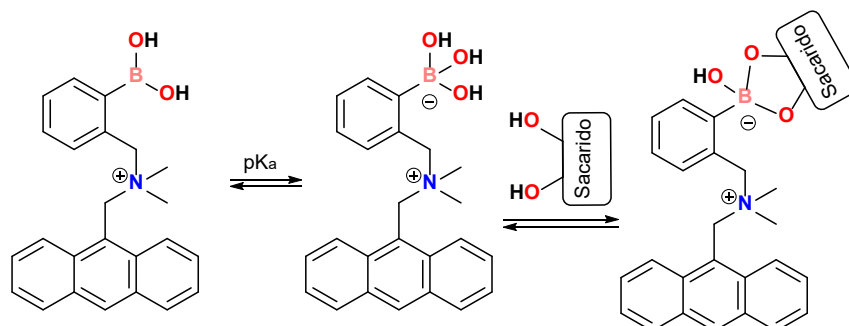
Figura 32 Efecto de la proporción de agua en metanol en la fluorescencia a 414 nm de **1** 5 mM y **1** con fructosa (50mM), en líneas punteadas se muestra el comportamiento esperado por teoría de "loose bolt"

El efecto esperado por "loose bolt" es que el grupo $-B(OH)_3^-$ en puro metanol se transforma en $-B(OMe)_3^-$ y la fluorescencia de **1** crece al mismo nivel como en el complejo con fructosa $-B(OR)_3^-$ por pérdida de grupos OH que sirven como apagadores (líneas punteadas en Fig.32). En realidad, todo es al revés: en puro metanol cae fluorescencia del complejo y casi no hay cambio en la fluorescencia de **1** libre. La interpretación en términos del mecanismo propuesto en este trabajo será presentada en la sección 6.3.5.

6.3.4 Comportamiento del receptor **3**

El compuesto **3** se aisló como la sal de cloruro. Era estable en estado sólido, pero en disolución sufre una degradación bastante rápida con cambios espectrales notables después de un par de días. Por lo tanto, todas las mediciones se realizaron con disoluciones madre frescas preparadas diariamente en metanol. La autoagregación de **3** fue significativa en agua y mezclas orgánicas acuosas que contenían menos del 50% vol. de codisolvente orgánico (MeOH o MeCN). Se obtuvieron resultados reproducibles y libres de

la influencia de la agregación en metanol/agua 7:3 v/v. La señal de encendido con **1** en presencia de fructosa en este medio representa una mejora doble de la fluorescencia (Fig. 27).



Esquema 7 Mecanismo de recepción de **3** con sacáridos.

La Figura 33a muestra los espectros de emisión de fluorescencia de **3** a diferentes valores de pH. La figura 33b muestra el perfil de la intensidad de fluorescencia a 420 nm frente al pH cuyo ajuste da un $pK_a = 9.05 \pm 0.08$. A partir de la titulación espectrofotométrica del ácido fenilborónico en el mismo disolvente se determinó un $pK_a = 9.79 \pm 0.01$ (Fig. A4). El valor disminuido de pK_a de **3** por 0.7 unidades puede atribuirse al efecto electrostático de la carga positiva del grupo amonio.

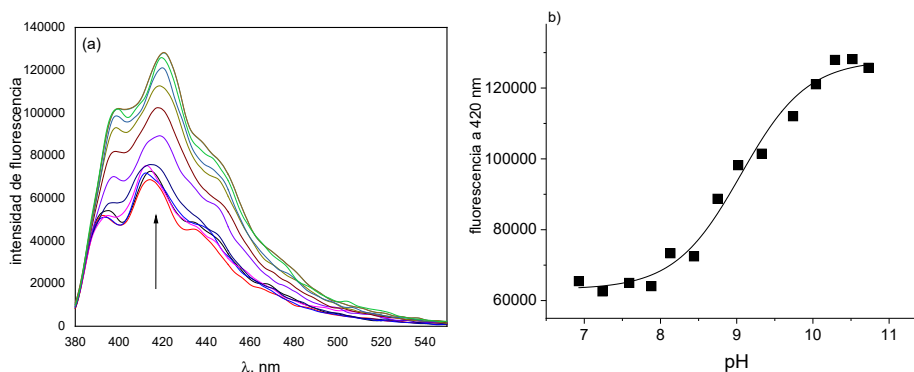


Figura 33 a) Espectros de emisión de fluorescencia de $2.5 \mu\text{M}$ **3** a pH variable en metanol/agua 7:3 v/v con buffer CHES 0.01 M. Longitud de onda de excitación 367 nm. b) Gráfica de la intensidad de la fluorescencia a 420 nm frente al pH.

Se realizaron valoraciones de fluorescencia de **3** con fructosa a dos valores de pH, por debajo y por encima del pK_a (Fig. 34b). La titulación a pH 7.8 por debajo de pK_a muestra un efecto de encendido 2.7 veces mayor, con una constante de unión observada $K_{obs} = 2300 \pm$

200 M⁻¹, mientras que la titulación a pH 9.8 (mayor al pK_a) muestra un pequeño efecto de encendido aproximado al 25 %. El gráfico con un pH de 9.8 no se ajustó, debido a que los datos estaban demasiado dispersos. La intensidad de fluorescencia a la saturación coincide en ambos casos, indicando la formación del mismo producto.

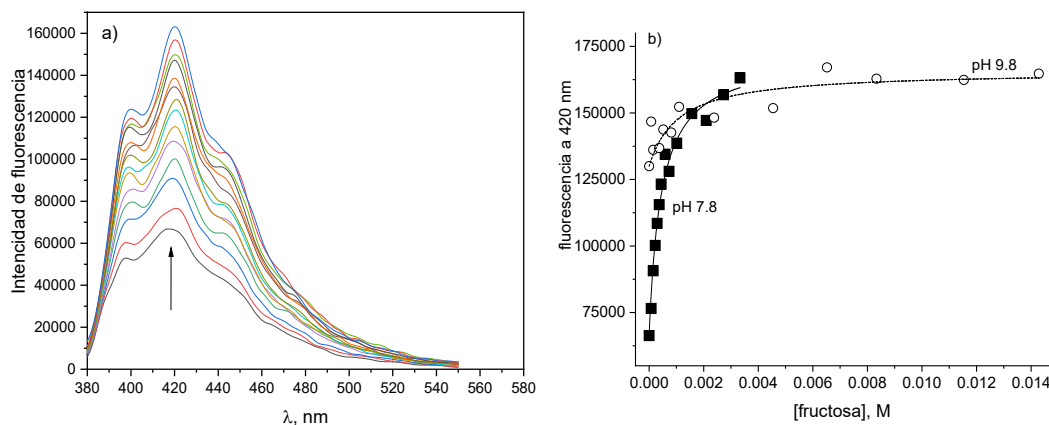


Figura 34 a) Titulación de fluorescencia de **3** 2.5 μM con fructosa a pH 7.78 en 7:3 v/v metanol/agua b) Gráficos de fluorescencia a 420 nm frente a la concentración de fructosa a pH 7.8 (cuadrados sólidos) y pH 9.8 (círculos blancos). Las flechas muestran tendencias a valores de pH o concentraciones de fructosa aumentados.

Para confirmar la unión de fructosa mediante una técnica diferente, se estudió espectrofotométricamente la interacción de **3** con fructosa. Los espectros de absorción a pH variable que se muestran en la figura A5, demuestran un proceso de desprotonación limpio con varios puntos isobésticos. Las adiciones de fructosa indujeron cambios muy pequeños en la absorción a cualquier pH, pero los gráficos de titulación obtenidos a diferentes concentraciones de fructosa (Fig 35) demostraron una disminución característica en el pK_a inducida por concentraciones crecientes de fructosa. El pK_a = 8.94 ± 0.02 en ausencia de fructosa añadida concuerda bien con el valor anterior determinado por la titulación de fluorescencia. En presencia de fructosa 10 mM el pK_a se reduce a 6.45 ± 0.03 y en presencia de fructosa 0.1 M es igual a 5.38 ± 0.04. Asumiendo que la interacción ocurre solo con **3** desprotonado, como se muestra en el esquema 7 se obtiene que la K_{tet} = 3.8×10⁴ M⁻¹. Con este valor de K_{tet}, la constante de unión observada a pH 7.8 se puede estimar como K_{obs} = 2700 M⁻¹ que está en concordancia con el valor determinado por las titulaciones de fluorescencia.

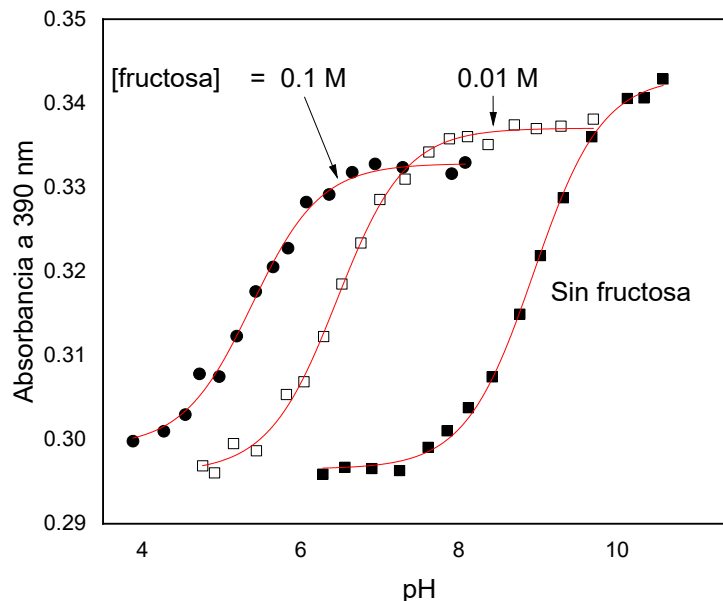


Figura 35 Perfiles de absorbancia vs pH para **3** 70 μM en metanol/agua 7:3 v/v con buffer CHES 10 mM en presencia de fructosa.

Los resultados para la fructosa demuestran que la señal de activación de la fluorescencia resulta principalmente del cambio de pK_a inducido por la complejación, pero también hay una contribución más pequeña del aumento de la fluorescencia que se puede atribuir a la sustitución de protones del grupo $-B(OH)_3^-$ con el residuo de azúcar de acuerdo con la teoría del "loose bolt". Si este efecto es de carácter general, debería manifestarse también en la complejación con el grupo $-B(OH)_2$ neutro.

Para probar este efecto, hemos estudiado la interacción de **3** con pinanediol, un diol que produce un éster trigonal altamente estable y un complejo tetraédrico menos estable.⁹ Como se desprende de los resultados de la Fig. 36a, la complejación de **3** con pinanediol a un pH por debajo de pK_a , induce un 20% de efecto de activación con una constante de unión $2200 \pm 500 \text{ M}^{-1}$. Cuando la titulación se realizó a pH por encima de pK_a , Fig. 36b, se observó un efecto de apagado con una constante de unión más pequeña de $900 \pm 200 \text{ M}^{-1}$ de acuerdo con la interacción más débil esperada del pinanediol con un anión boronato que induce un cambio opuesto en el pK_a de un ácido borónico.

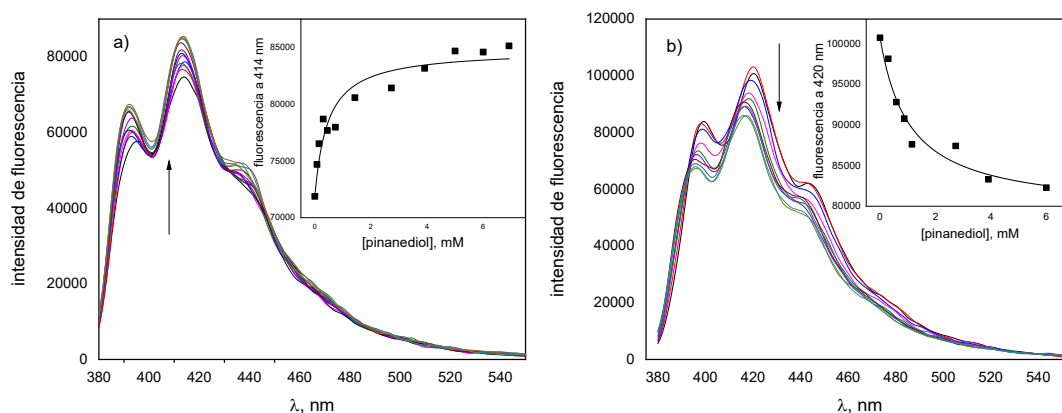
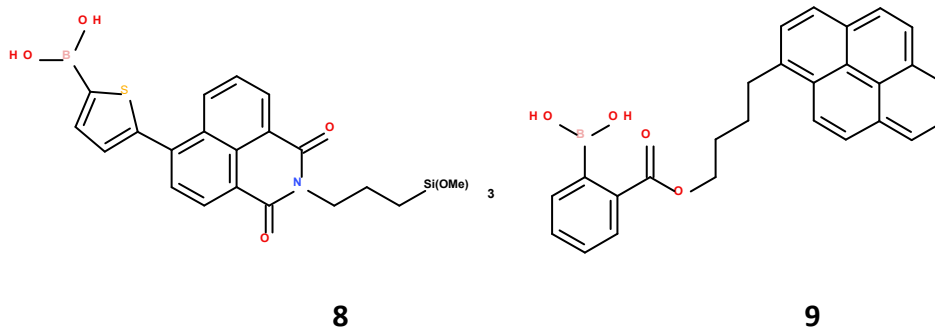


Figura 36 Espectros de emisión de fluorescencia de **3** 2.5 μ M 5 en metanol/agua 7:3 v/v con buffer CHES 10 mM a una concentración variable de pinanediol a pH 7.8 (a) y pH 9.2 (b). Los recuadros muestran los gráficos de fluorescencia a 414 nm (a) y 420 nm (b) frente a la concentración de pinanediol. Longitud de onda de excitación 367 nm.

En este resultado, vemos que la cuaternización del receptor **1** cambia completamente el perfil de fluorescencia vs pH, por lo tanto, también el mecanismo de detección, y se observó una pequeña pero notable contribución del efecto de encendido atribuido al mecanismo de "loose bolt". Este hallazgo indica que la presencia del fragmento NH^+ juega un papel muy importante, y no solo funciona como una carga positiva en la estructura de la forma zwitterionica de **1**.

Resultados obtenidos con el receptor **3** pueden compararse con los resultados reportados para otros receptores con un diseño similar, ácido borónico-espaciador-fluoróforo, pero que carecen de los átomos de nitrógeno puente, como **8** y **9**, nos pueden ayudar a entender un poco mejor el papel del átomo de nitrógeno en el mecanismo de **1**. Mientras que el receptor **8** se comporta esencialmente de la misma manera que el **5** (el mismo perfil de fluorescencia-pH con el efecto de activación de fructosa a pH por encima de pK_a),¹²² el receptor **9** muestra un perfil de pH de fluorescencia invertido, en comparación con **1** que tiene el efecto de activación de los azúcares observado a pH por debajo del pK_a como el resultado de una complejación simple induciendo un cambio de pK_a ,¹⁴ es decir comporta como el receptor **3**.



Así observamos que para un sensor con fluoróforo polar, como por ejemplo la naftalimida, la presencia del grupo NH^+ en el puente que conecta el ácido borónico con un fluoróforo no es esencial, como se supone en el mecanismo de "loose bolt", pero para un sensor con fluoróforo no-polar, en este caso pireno, la presencia del grupo NH^+ lleva a un cambio en el mecanismo de señalamiento.

6.3.5. Mecanismo de funcionamiento de **1** como sensor

A continuación, se resumirán los hallazgos más relevantes para la interpretación mecanicista de encendido en la emisión de **1** inducida por la complejación con dioles.

En primer lugar, el nitrógeno protonado juega un papel más fundamental que simplemente la carga positiva que reduce el pK_a del grupo ácido borónico. La cuaternización del nitrógeno en lugar de la protonación en el receptor modelo **3** conserva la carga positiva, pero reduce fuertemente el efecto de encendido de la fluorescencia cuando un diol interactúa con la forma zwitteriónica del receptor e invierte el perfil de pH con respecto a la intensidad de fluorescencia.

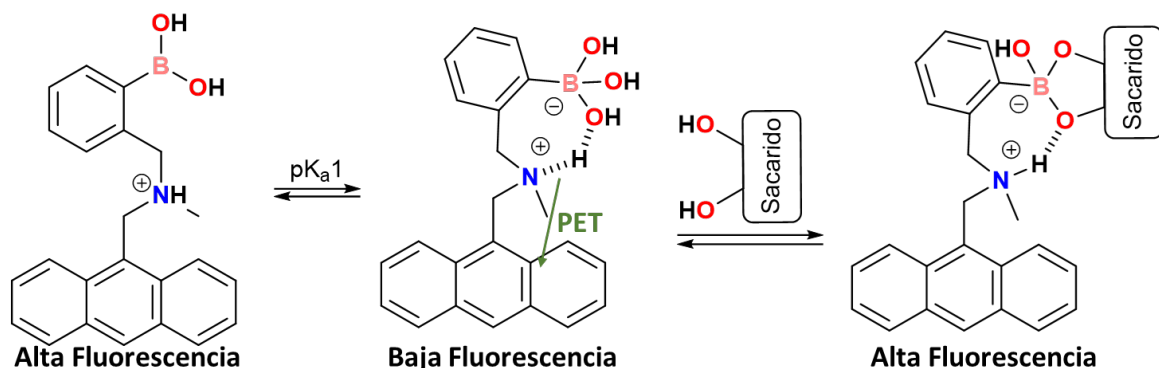
En segundo lugar, la fluorescencia de **1** en su forma zwitteriónica vuelve completamente al nivel observado para la forma catiónica del receptor en presencia de fructosa (un efecto de cuatro veces en la activación), glucosa o pentaeritritol en saturación, pero para el cis-1,2-ciclopentanodiol, el efecto de encendido es solo 1.6 veces mayor, y para el pinanodiol se observa un efecto de apagado.

Por lo tanto, la estructura del diol es esencial para el efecto de detección, ya que no está determinado únicamente por la conversión de grupos B-OH por grupos B-OR.

En tercer lugar, en metanol puro, el receptor **1** muestra un perfil de fluorescencia vs pH similar al observado en medio acuoso, pero las adiciones de dioles inducen efectos de

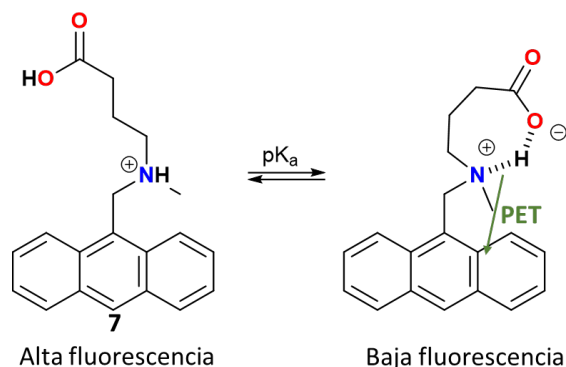
activación muy pequeños. La conversión del grupo $B(OH)_3^-$ en grupo $B(OMe)_3^-$ en metanol puro, mejora un poco la fluorescencia de **1** libre, lo que explica en parte este cambio. El efecto principal es un cambio en la fluorescencia del complejo **1**-fructosa significativamente menor en metanol puro.

Proponemos que una posible explicación de todas estas observaciones, en términos de un mecanismo de detección basado en la modulación de PET por la estrechez del enlace de hidrógeno iónico intramolecular $N-H^+ \cdots B(OR)^-$ descrito en el esquema 8.



Esquema 8 Cambios propuestos en la intensidad de fluorescencia de **1** inducidos por la disociación ácida y la formación de éster de boronato como resultado de la modulación PET.

En este mecanismo, una disminución de 4 veces en la fluorescencia de **1** después de la desprotonación del grupo ácido borónico (paso pK_{a1} , Esquemas 8) resulta de la formación del enlace de hidrógeno intramolecular entre el amonio NH^+ y el grupo boronato $B(OH)_3^-$, lo que aumenta la densidad electrónica en el átomo de nitrógeno donador de hidrógeno, lo que hace posible un apagado parcial por PET, en comparación con lo observado en la forma neutra de **2**. Se observó un efecto similar de una disminución de 4 veces en la intensidad de fluorescencia en la primera desprotonación del aminoácido **7**.¹²³



Luego, la ésterificación de **1**[±] por un diol (el segundo paso en los Esquemas 2 y 8) transforma el grupo B(OH)₃⁻ altamente básico en un grupo éster B(O₂R)(OH)⁻ menos básico, con el desplazamiento concomitante del protón más cercano al átomo de nitrógeno y debilitamiento el efecto PET. Se puede esperar que el éster sea menos básico porque su ácido conjugado, un éster de boronato trigonal, es más ácido que el ácido borónico libre, que es el ácido conjugado del trihidroxiboronato. Por supuesto, el aumento de la acidez del éster trigonal es correspondiente a la teoría de Lewis, mientras que la fuerza del enlace de hidrógeno del boronato con el amonio se correlaciona con la basicidad de Brønsted del boronato, pero es lógico esperar que un centro ácido de Lewis de boro más fuerte reduzca con mayor fuerza la densidad electrónica en el ligando hidroxilo- o alcoxi- adyacente, lo que hace que el anión también sea una base de Brønsted más débil.

En términos de esta hipótesis, el efecto de activación debería ser mayor para los dioles que acidifican más el ácido borónico. El efecto de acidificación de los dioles se manifiesta en el cambio de pK_a del ácido borónico inducido por la unión del diol, que a su vez se define por la relación de las constantes de estabilidad de los ésteres de hidroxiboronato tetraédrico (K_{tet}) y del boronato trigonal (K_{trig}): $\Delta pK_a = \log(K_{tet}/K_{trig})$. Los valores de ΔpK_a informados para azúcares típicos (glucosa, fructosa, galactosa, etc.) y ácidos fenilborónicos sustituidos están dentro de 2 a 4 unidades logarítmicas.^{1,124} Parece que la variación en estos límites no es significativa y los efectos de activación observados para tales dioles son de una magnitud similar. Para alcanzar una mayor variación en ΔpK_a incluimos en este estudio al pinanediol, para el cual se calculó una $K_{tet}/K_{trig} \approx 0.25 < 1$ ¹¹⁷ y por lo tanto $\Delta pK_a < 0$. Esto significa que la formación de ésteres con este diol reduce en lugar de aumentar la acidez de los ácidos borónicos haciendo que la base de hidroxiboronato conjugado sea una base más fuerte que el grupo B(OH)₃⁻ y, por lo tanto, debería producir un efecto de apagado en lugar de un efecto de encendido como se observa experimentalmente. Otro diol que demuestra un valor significativamente menor que el de los azúcares típicos es el cis-1,2-ciclopentanodiol con $K_{tet}/K_{trig} \approx 10$ de acuerdo con nuestra hipótesis, induce un efecto de activación mucho menor que los azúcares (tabla 1).

Nuestros resultados en puro metanol confirman las observaciones de Anslyn y James⁹ que el señalamiento por complejacion con fructosa casi desaparece en puro metanol mientras que todos datos indican que el receptor **1** igual a el receptor **5** conserva su

estructura zwitterionica y alta afinidad a fructosa tanto en agua como en puro metanol. La única diferencia entre estos dos disolventes es que el par iónico $-B(OH)_3^{\cdot\cdot\cdot}+HN-$ en agua se transforma en $-B(OMe)_3^{\cdot\cdot\cdot}+HN-$ en puro metanol. Esta transformación es el punto clave en la teoría de "loose bolt" como se explica en la sección 2.6, el comportamiento esperado es que la fluorescencia del receptor libre en metanol crece aproximadamente al nivel de la fluorescencia del complejo con azúcar en agua debido a esta transformación y después la sustitución de metóxidos por azúcar no afecta la fluorescencia porque los protones de los grupos OH del ácido borónico ya están eliminados. Esto significa que adición de metanol a agua debe aumentar la fluorescencia del receptor libre y no afectar la fluorescencia del complejo con fructosa, pero como observamos en el caso de **1** todo va al revés. Los autores de la referencia 9 comparan solo los efectos de fructosa en pura agua y en puro metanol sin separar influencia del medio por los efectos individuales sobre fluorescencia del receptor libre y el complejo. Sin embargo, sus resultados para el receptor **5** permiten una estimación aproximada de efectos separados. De las figuras 37a y b podemos estimar que la fluorescencia de **5** libre crece por un factor de 3.6 en metanol, mientras que la fluorescencia de su complejo con fructosa crece solo por un factor de 2. Este último efecto es inespecífico para una naftalimida como se observa en el material suplementario a este trabajo para un compuesto modelo que es una naftalimida sin el grupo borónico. Entonces la disminución del turn-on señal de **2** en agua a 1.15 en metanol, observado en la figura A6, se debe casi por completo a un aumento de la fluorescencia del receptor libre en acuerdo con la teoría de "loose bolt". Esto nos da otra indicación a parte del efecto isotópico del disolvente (capítulo 6.3.2) de que la teoría de "loose bolt" puede ser adecuada para un sensor basado en naftalimida, pero no en antraceno.

La intensidad de fluorescencia disminuida del complejo de fructosa de **1** en presencia de mayores cantidades de metanol (Figura 32) puede explicarse en términos del mecanismo descrito en el esquema 8 como resultado de un efecto medio. Se ha señalado¹²⁵ que la posición relativa del protón dentro del enlace de hidrógeno intramolecular $N-H^{\cdot\cdot\cdot}B(OR)^{\cdot}$ depende de la polaridad del medio, el protón se mueve al oxígeno del anión boronato en un medio de baja constante dieléctrica, pero puede ir al átomo de nitrógeno en un medio de alta constante dieléctrica. Tal cambio en la posición del protón debería influir en el grado de extinción de PET haciéndolo más significativo en un medio menos polar. Entonces, planteamos la hipótesis de que la disminución en la intensidad de fluorescencia del complejo de **1**fructosa está relacionado con una constante dieléctrica más baja en el metanol. También se debe observar un efecto similar para el

zwitterión libre de **1**, pero aparentemente está sobrecompensado por el efecto de "loose bolt" debido a la sustitución de los grupos OH en el anión $B(OH)_3^-$ con grupos OMe que inducen la mejora de la fluorescencia. Además, por la mayor basicidad de los aniones $B(OH)_3^-$ y $B(OMe)_3^-$ que el anión del complejo con fructosa que es un éster cíclico acidificado, los pares iónicos con los dos primeros deben ser más apretados y menos sensibles al efecto del medio.

El debilitamiento postulado en el esquema 8 del enlace de hidrógeno $N-H^+ \cdots B(OR)^-$ como resultado de la formación del éster debería manifestarse en la ampliación del enlace $N-H \cdots O$ en ésteres de dioles suficientemente ácidos en comparación con el **1**[±] libre. Tal tendencia se encontró en una serie de estructuras minimizadas DFT de **1**[±] libre y sus ésteres modelos con etilenglicol y catecol.

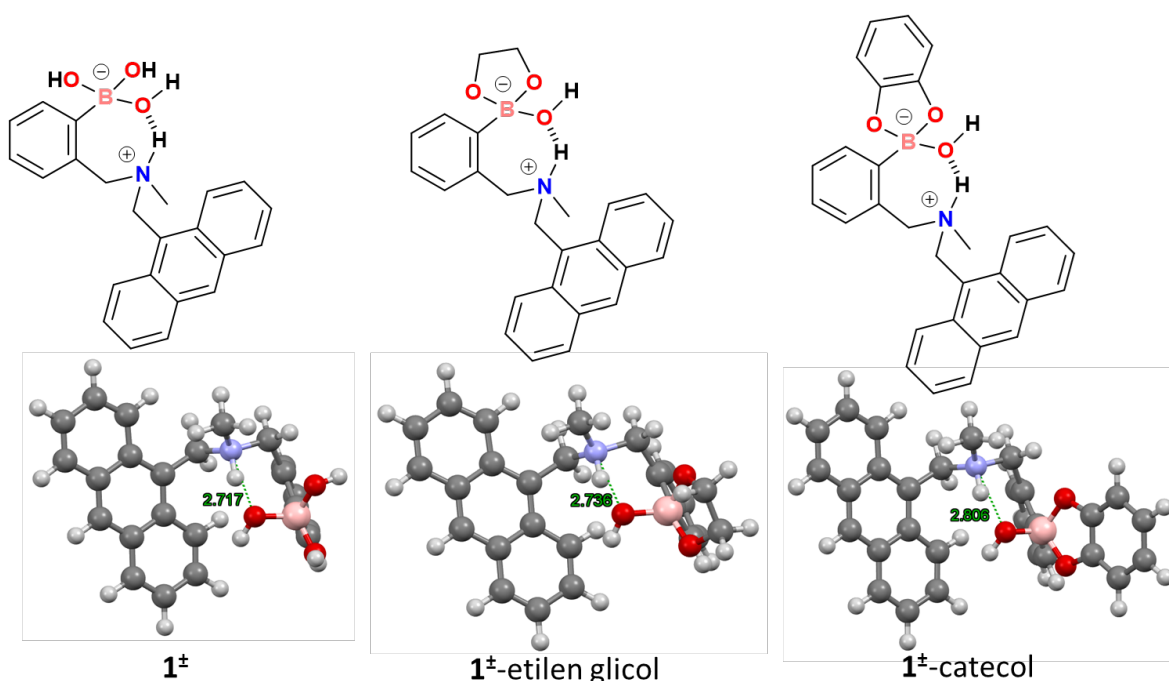


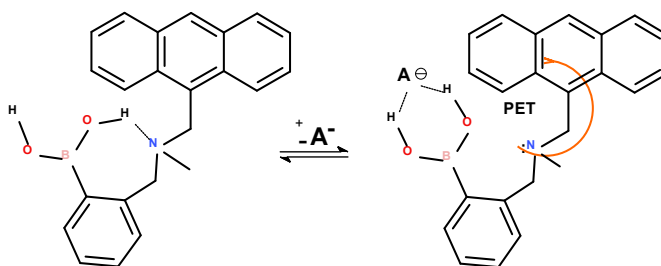
Figura 37 Estructuras calculadas por DFT para **1** y sus complejos con catecol y etilenglicol

En estas estructuras se observa que las distancias del enlace (figura 37) de hidrógeno sigue la tendencia $1^{\pm} < 1^{\pm}\text{-etilenglicol} < 1^{\pm}\text{-catecol}$, lo que corrobora la hipótesis, ya que la distancia correlaciona con la fuerza del puente de hidrógeno, y como es sabido, los ésteres borónicos de catecol son más ácidos que los de etilenglicol, que a su vez es más ácido que el ácido borónico libre, lo que correlaciona con la hipótesis propuesta.

6.4 Recepción de aniones con **1**

A parte de sus aplicaciones como receptor para azúcares, el receptor **1** y sus derivados en la forma de un éster cíclico fue exitosamente empleado como un receptor fluorescente para presencia de agua en disolventes orgánicos.^{126,127} El mecanismo propuesto está basado en el proceso de solvólisis o inserción (figura 9) que induce la forma protonada del nitrógeno y elimina el apagamiento por PET. El sistema funciona a muy bajas cantidades de agua en disolventes no polares donde el grado de ionización en el complejo insertado debe ser muy bajo con el protón de agua no transferido a nitrógeno por completo. Esto significa que la variación del PET puede realizarse mediante la formación de los puentes de hidrógeno no necesariamente involucrando la protonación de nitrógeno completa. Se sabe que **1** y sus análogos pueden formar puentes de hidrógeno intramoleculares con el átomo de nitrógeno del grupo metilamino posiblemente modificando el grado de PET y que aniones por su parte pueden formar puentes de hidrógeno con grupos OH de los ácidos borónicos aun en disolventes relativamente polares como DMSO (ver Antecedentes). Con estas consideraciones planteamos un posible uso del receptor **1** para detección de aniones por una posible competencia entre enlaces BOH-N y BOH-Anion esperando que de esta manera se lograra una modificación del PET.

En la primera etapa se realizaron valoraciones de fluorescencia de **1** con acetato en DMSO (Fig. 38a), en estas se observó un efecto la extinción de fluorescencia esperada para los aniones. Por comparación, también se valoró con acetato a un compuesto modelo **2** que carece del grupo ácido borónico (Fig. 38b). Es importante resaltar que **2** se usó previamente como compuesto de referencia para el receptor **1** para probar su autoagregación en medios acuosos,^{10,12} pero esto no debería ser un problema en DMSO. Las líneas gruesas rojas y negras en la Figura 13b muestran los espectros de emisión de **1** y **2** libres respectivamente.



Esquema 9 Mecanismo de funcionamiento de **1** como sensor de aniones

Se observo un aumento de más de tres veces en la intensidad de fluorescencia inducida por la presencia del grupo ácido borónico en **1**, esto puede atribuirse a la atenuación del efecto PET debido al enlace de hidrógeno del grupo amino. Las adiciones de acetato a **1** apagan la fluorescencia aproximadamente al nivel observado para **2**, lo que puede explicarse por la restauración del PET como se muestra en el esquema 9. Las adiciones de acetato a **2** inducen un aumento en la intensidad de fluorescencia a concentraciones más altas de aniones, probablemente debido a la agregación inducida por la sal de **2**. Estas observaciones prueban la participación del ácido borónico en el efecto de extinción del acetato y concuerdan con el mecanismo de detección del esquema 9.

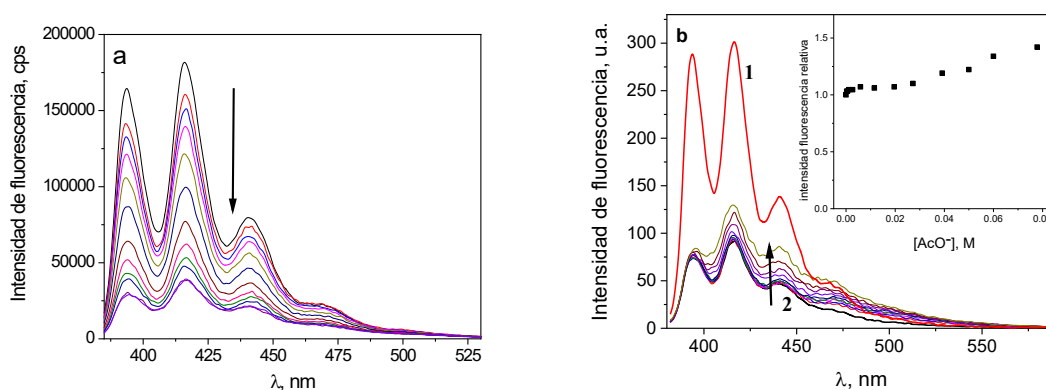


Figura 38 (a) Titulación por fluorescencia de **1** 10 μM en DMSO con acetato 0-0.08 M, longitud de onda de excitación 370 nm. (b) Espectros de emisión de **1** y **2** 10 μM en DMSO (líneas gruesas) y espectros de **2** en presencia de una concentración creciente de acetato. El recuadro muestra la intensidad de emisión relativa a 416 nm como un perfil frente a la concentración de acetato. Las flechas muestran la dirección de los cambios espectrales al aumentar la concentración de acetato.

La interacción del acetato con **1** también fue seguida por espectroscopía de RMN ^1H y ^{11}B . La figura 39a ilustra los resultados de la titulación por RMN ^1H . La señal de los protones $\text{B}(\text{OH})_2$ en el receptor libre se observa a 9.09 ppm desplazada 1 ppm campo abajo en comparación con su posición a 8.04 ppm en el AFB libre en el mismo disolvente.⁹⁷ Este cambio confirma la implicación de protones $\text{B}(\text{OH})_2$ en el enlace de hidrógeno intramolecular incluso en un disolvente polar como DMSO. Las adiciones de acetato inducen una fuerte característica para la formación de puentes de hidrógeno en cambios a mayor desplazamiento químico de las señales de B-OH y pequeños cambios de campo hacia menor desplazamiento químico de la mayoría de las señales aromáticas, que

se pueden atribuir a un efecto de protección inducido por el anión unido. Al mismo tiempo, el doblete a 8.22 ppm que pertenece a los protones del antraceno H¹ (H⁸) sufre un pequeño desplazamiento hacia campo bajo, generalmente atribuido a una interacción de enlace de hidrógeno a través del espacio con los aniones.¹²⁸ La señal de RMN ¹¹B de **1** se observa a 29.38 ppm y permanece sin cambios con la adición de acetato. Esta observación confirma que el boro conserva su estructura trigonal y que el enlace de hidrógeno del acetato al grupo B(OH)₂ es el único modo de unión del anión con **1**.

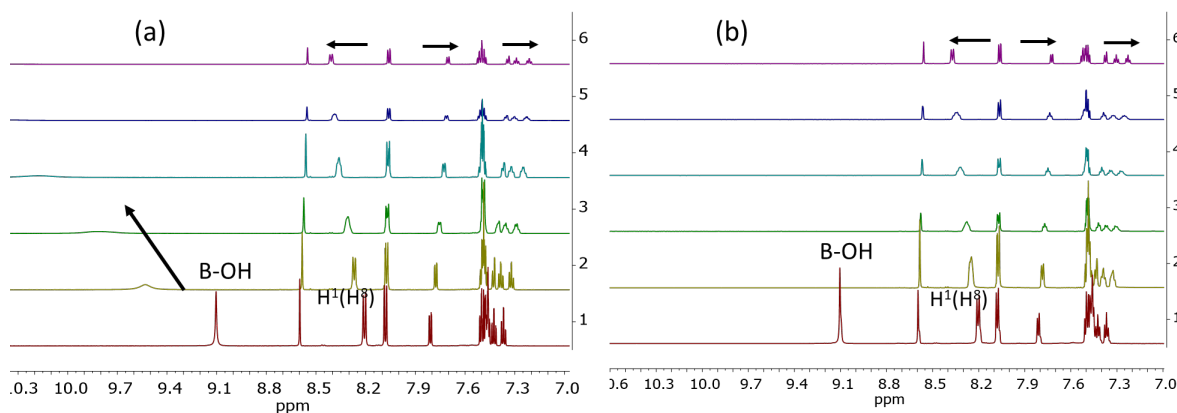


Figura 39 a) Valoración de ¹H RMN de **1** en DMSO-*d*₆ con acetato (a) y fosfato de dihidrógeno (b); (a) **1** 11.2 mM , los espectros 1 a 6 se registran en presencia de 0, 5, 10, 19, 27 y 35 mM (Bu₄N) OAc; (b) **1** 19.3 mM , los espectros 1 a 6 se registran en presencia de 0, 10.9, 21.1, 40.3, 57.5 y 73.1 mM (Bu₄N) H₂PO₄.

Para entender mejor la estructura del complejo de acetato, se llevaron a cabo cálculos, con un nivel de teoría DFT / B97D3 / 6-311 + G (d, p). La estructura resultante **10** del complejo **1AcO**⁻ se muestra en la Fig. 40 Demuestra una estructura cíclica bidentada del complejo con enlaces de hidrógeno entre los grupos COO⁻ y B(OH)₂ casi coplanares y un enlace de hidrógeno corto con distancias O...O de 2.62-2.63 Å de acuerdo con la estructura establecida experimentalmente del complejo aniónico PBA-benzoato con distancias O...O de 2.68 y 2.72 Å.¹²⁹ El protón del antraceno H¹ (H⁸) está demasiado lejos del acetato unido para cualquier interacción detectable a través del espacio, pero está cerca del nitrógeno del grupo amino a una distancia de 2.72 Å ligeramente más corto que la suma de los radios de Van der Waals de los átomos de N e H. Este estrecho contacto CH...N probablemente sea la razón del aumento del desplazamiento químico observado de la señal del protón del antraceno H¹ (H⁸) en presencia de acetato.

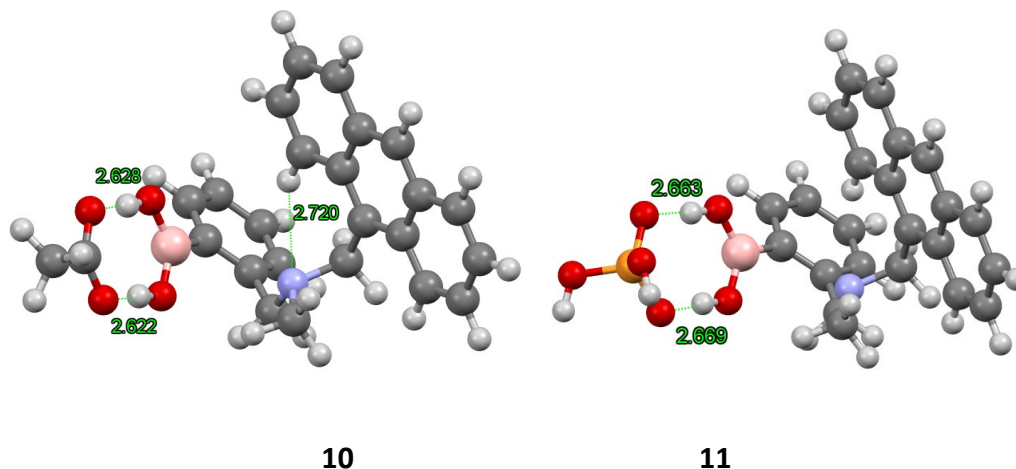


Figura 40 Estructuras simuladas por DFT de los complejos de acetato (**10**) y dihidrógeno fosfato (**11**) de **1**.

La interacción de **1** con H_2PO_4^- se caracteriza por cambios espectroscópicos similares tanto en las valoraciones por fluorescencia como de ^1H NMR (Fig. 38). La única diferencia en el caso de ^1H NMR es que la señal del protón B-OH desaparece ya después de la primera adición del anión, aparentemente como resultado de un ensanchamiento aún más fuerte que en el caso del acetato (ver Fig. 38). Además, como en el caso del acetato, no hay desplazamiento de la señal en el espectro de RMN ^{11}B de **1** en presencia de fosfato de dihidrógeno. Todas estas observaciones concuerdan con la asociación de enlaces de hidrógeno de **1** con H_2PO_4^- .

Tabla 3 Suma de energías libres electrónicas y térmicas, y el número de frecuencias imaginarias para estructuras calculadas

Anión	Sitio de union	Energía (Eh)	Número de frecuencias imaginarias
AcO ⁻	B	-1348.08936	0
	H	-1348.11046	0
H ₂ PO ₄ ⁻	B	-1763.270405	0
	H	-1763.27913	0
HPO ₄ ²⁻	B	-1762.792521	0
	H	-1762.795419	0
SO ₄ ²⁻	B	-1818.91203	0
	H	-1818.920523	0

Previamente se estableció que el AFB se une al anión dihidrógeno fosfato, a diferencia del acetato, como un ácido de Lewis a través de la coordinación con el átomo de boro.^{92,95}

Este tipo de interacción fue confirmada también por cálculos.⁹⁷ Sin embargo, en el caso de **1**, ambos aniones prefieren la interacción de puentes de hidrógeno. La posibilidad de interacción de enlaces de hidrógeno de ácidos borónicos con aniones fosfato se demostró recientemente como un motivo sintético $-B(OH)_2 \cdots O(O)=P$ en estructuras cristalinas de sales orgánicas de fosfato de ácidos quinolinborónicos con distancias promedio entre átomos $O \cdots O$ con enlaces de hidrógeno de 2,74 Å. El cálculo de DFT confirma la estabilidad del complejo con enlaces de hidrógeno entre **1** y $H_2PO_4^-$ con una distancia de $O \cdots O$ de 2.67 Å, en la estructura **11** en la Fig. 40. Al mismo tiempo, la minimización de energía de un complejo de tipo ácido de Lewis con $H_2PO_4^-$, mostró una mayor energía para este complejo. Esto podría ser explicado debido a que **1** tiene un *o*-sustituyente voluminoso lo que podría generar problemas estéricos. Es bien sabido que la incorporación de solo un pequeño grupo metilo en la posición orto del AFB aumenta su pK_a de 8.86 a 9.74, lo que significa una disminución de la afinidad del anión hidróxido por el ácido borónico en casi un orden de magnitud. Al mismo tiempo, el complejo de tipo Brønsted respectivo está libre del efecto estérico.

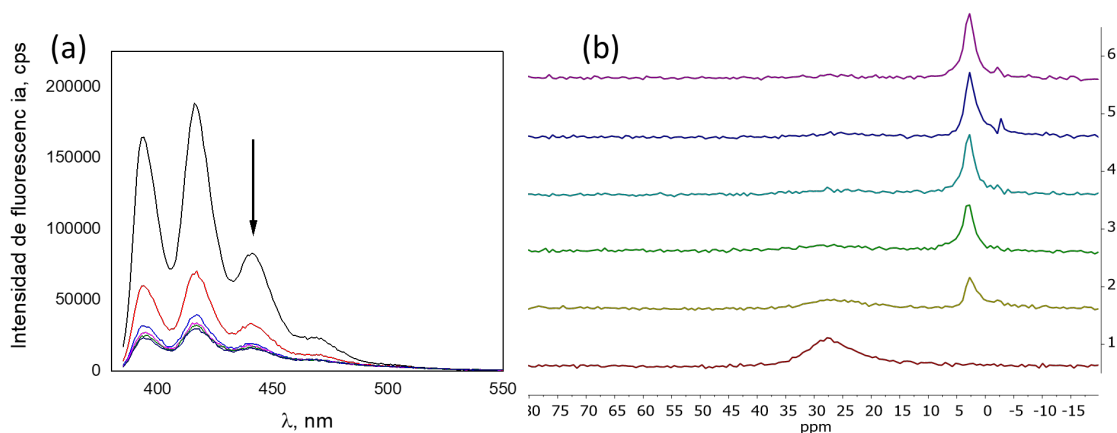


Figura 41 a) Espectros de fluorescencia de **1** 10 μ M en DMSO por 0.25 – 1.2 mM F^- , longitud de onda de excitación 370 nm. b) Valoración por RMN de ^{11}B NMR de **1** 17,7 mM con $Bu_4N F$ en $DMSO-d_6$ los espectros de abajo hacia arriba contiene 0, 8, 15,5, 30, 44 y 57 mM de $Bu_4N F$.

El anión de fluoruro induce un fuerte efecto de extinción, que se "satura" por debajo de 1 mM del anión (Fig. 41a). Los resultados de la valoración de 1H NMR por fluoruro indican la formación de una mezcla compleja de productos, que puede resultar de una agregación inducida por complejación de **1**, Fig. 41b. La formación de especies oligoméricas en la interacción del anión fluoruro con AFB en DMSO se informó

anteriormente.⁹² Los datos respectivos de ^{11}B NMR, muestran la aparición de una señal no resuelta a 2.5 ppm, que pertenece a un aducto de tipo Lewis tetraédrico con fluoruro, pero no muestra la multiplicidad de doblete esperada, muy probablemente debido a la superposición de señales de formas agregadas desplazadas de manera diferente. La titulación de fluorescencia se realizó a una dilución mucho mayor de **1** y no debería complicarse por el proceso de agregación, pero la unión de tipo Lewis de F^- a **1**, inferida de los datos de ^{11}B NMR, debe ser válida también en disolución diluida. El efecto de extinción de F^- se puede atribuir a un debilitamiento o incluso a la ruptura del enlace $\text{BOH}\cdots\text{N}$ intramolecular en **1** como resultado de la conversión del grupo $\text{B}(\text{OH})_2$ neutro en el grupo $\text{B}(\text{OH})_2\text{F}^-$ aniónico con una disminución de la carga positiva en los protones de los grupos OH.

Para caracterizar cuantitativamente las interacciones de los aniones con **1**, se calcularon las respectivas constantes de asociación K_A (M^{-1}) para la formación del complejo a partir de los resultados de las valoraciones de fluorescencia. Las curvas de ajuste para los aniones inorgánicos y monocarboxilato se ilustran en la Fig. 42. Las constantes de unión calculadas y los efectos de extinción en la "saturación" I_C/I_0 se resumen en la Tabla 4.

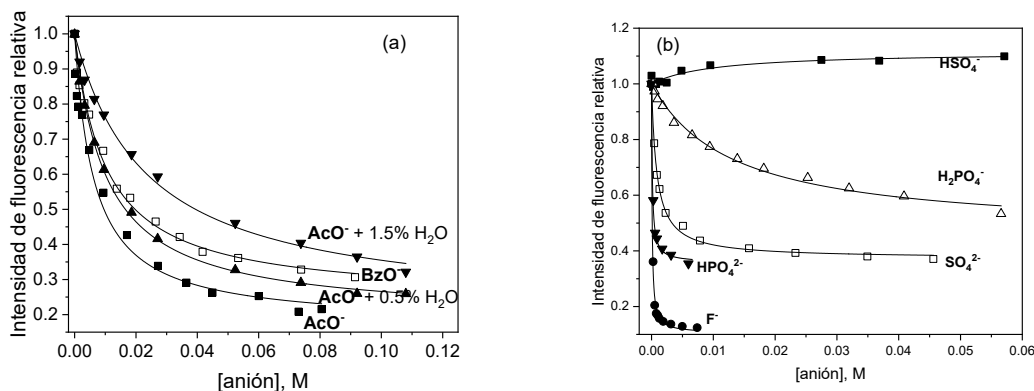


Figura 42 Titulaciones de fluorescencia de **1** con aniones de ácidos monocarboxílicos (a) y con aniones inorgánicos (b) en DMSO. Emisión a 416 nm, excitación a 370 nm.

Tabla 4 Constantes de estabilidad K_A (M^{-1}) de complejos aniónicos de **1** en DMSO, efectos inducidos por complejación en saturación (I_c/I_0) y pK_a de ácidos conjugados para aniones.

Anion	K_A	I_c/I_0	pK_a en agua	pK_a en DMSO	Anion	K_A	I_c/I_0	pK_a en agua	pK_a en DMSO
AcO ⁻	150	0.14	4.76	12.3	Glu ²⁻	630	0.44	5.42	
BzO ⁻	80	0.23	4.2	11.1	GluH ⁻	100	0.62	4.32	
H ₂ PO ₄ ⁻	60	0.12	2.12	10.8	Suc ²⁻	640	0.34	5.64	
HPO ₄ ²⁻	8000	0.36	7.2		SucH ⁻	140	0.76	4.21	
F ⁻	1.1×10^4	0.095	3.17	15	Mal ²⁻	740	0.23	5.70	
HSO ₄	90	1.12			MalH ⁻	15.4	3.38	2.95	
SO ₄ ²⁻	1150	0.37	2.0	9.1	Ox ²⁻	990	0.26	4.27	
iso-Pht ²⁻	145	0.32	4.6		OxH ⁻	700	0.34	1.25	
iso-PhtH ⁻	50	0.77	3.7		Lact ⁻	460	0.50	3.70	
Pht ²⁻	600	0.21	5.43		AcO ⁻ ^{b)}	94	0.18		
PhtH ⁻	- ^{a)}		2.94		AcO ⁻ ^{c)}	36	0.18		

a) Sin interacción; b) 0,5% de H₂O; c) 1.5% H₂O

Normalmente, la estabilidad de los complejos con enlaces de hidrógeno es muy sensible a la polaridad del disolvente. Por ejemplo, las constantes de estabilidad de los complejos aniónicos con donantes de protones NH como ureas o amidas aumentan aproximadamente 100 veces en MeCN menos polar en comparación con DMSO.²⁰ Sin embargo, **1** muestra relativamente poca sensibilidad a la polaridad del disolvente: las constantes de estabilidad para acetato, benzoato y dihidrógenofosfato medidas en MeCN son iguales a 470, 154 y 74 M^{-1} respectivamente, siendo solo 2-3 veces más grande que en DMSO. Además, las constantes de unión para el acetato muestran una disminución modesta en presencia de agua añadida (ver la Fig. 38a y la Tabla 4). Este efecto relativamente pequeño de la polaridad del disolvente puede explicarse en términos del Esquema 9 por efectos del disolvente aproximadamente iguales sobre los enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares en el receptor libre y en su complejo aniónico, respectivamente.

La complejación de **1** con benzoato es más débil que con acetato (Fig. 42a, Tabla 4), como se observa típicamente para los receptores de enlace de hidrógeno. Las pruebas de interacciones con aniones inorgánicos muestran que HSO₄⁻ induce un efecto de activación muy pequeño y opuesto a otros aniones con la constante de asociación mayor que para el benzoato mucho más básico. Esto puede explicarse por la unión ditópica de este anión

que implica un enlace de hidrógeno simultáneo al grupo ácido borónico mediante la aceptación de protones y al grupo amino mediante la donación de protones. Tal modo de unión induce un efecto mucho más pronunciado con el monoanión del ácido malónico. Dianion SO_4^{2-} se comporta como un aceptor de enlaces de hidrógeno muy fuerte (Tabla 4). El dianión fosfato HPO_4^{2-} también supera fuertemente la afinidad del monoanión respectivo H_2PO_4^- . Los resultados de estos dianiones se discutirán más adelante en el contexto de las tendencias generales en la estabilidad de los complejos aniónicos de **1**.

6.4.1 Reconocimiento de mono y dianiones de ácidos dicarboxílicos y tendencias generales en la estabilidad de complejos aniónicos de **1**

A partir de los resultados obtenidos y las observaciones hechas para la detección de azúcares es posible proponer un mecanismo de detección a partir de la ruptura y formación de puentes de hidrógeno intramoleculares y con el anión lo cual se muestra a continuación:

A pesar de que los resultados con monoaniones simples confirman el mecanismo de detección propuesto, las constantes de unión con acetato y dihidrógenofosfato a **1** son significativamente más pequeñas que las constantes de unión de los mismos aniones a PBA.⁹² Aunque este resultado puede verse como un inconveniente, indirectamente apoya el esquema 9 porque el enlace de hidrógeno del grupo ácido borónico al anión debería verse obstaculizado por el enlace intramolecular del ácido borónico al grupo amino.

En un estudio adicional de las propiedades de reconocimiento de aniones de **1**, probamos las interacciones del receptor con mono y di-aniones de ácidos dicarboxílicos. Con el receptor **1** se puede esperar una unión más fuerte de dianiones en comparación con los monocarboxilatos debido a su mayor basicidad, pero es más interesante la posibilidad de la complejación selectiva de monoaniones de ácidos dicarboxílicos mediante la unión ditópica simultánea de grupos COO^- y COOH a los grupos ácido borónico y amino de **1** respectivamente. La Figura 43 a y b muestran los perfiles de titulación de **1** con mono y dianiones de varios ácidos dicarboxílicos. Las constantes de asociación respectivas se recogen en la tabla 4 y se presentan como el gráfico de Brønsted de $\log K_A$ frente a $\text{p}K_a$ del ácido conjugado del anión en la Figura 43a. La Figura 43b ilustra el tamaño del cambio inducido por la complejación en la intensidad de la fluorescencia por diferentes aniones calculados como $(I_c - I_0)/I_0$.

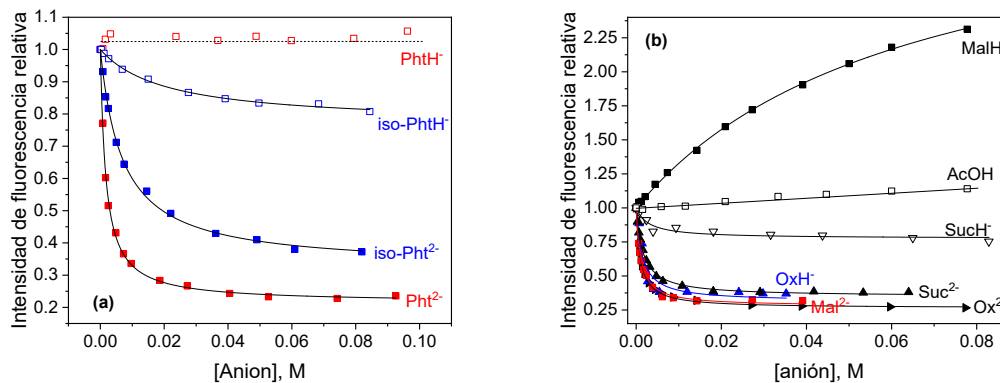


Figura 43 Perfiles de titulación de fluorescencia para mono y dianiones con **1** (a) ácidos dicarboxílicos aromáticos y (b) alifáticos en DMSO.

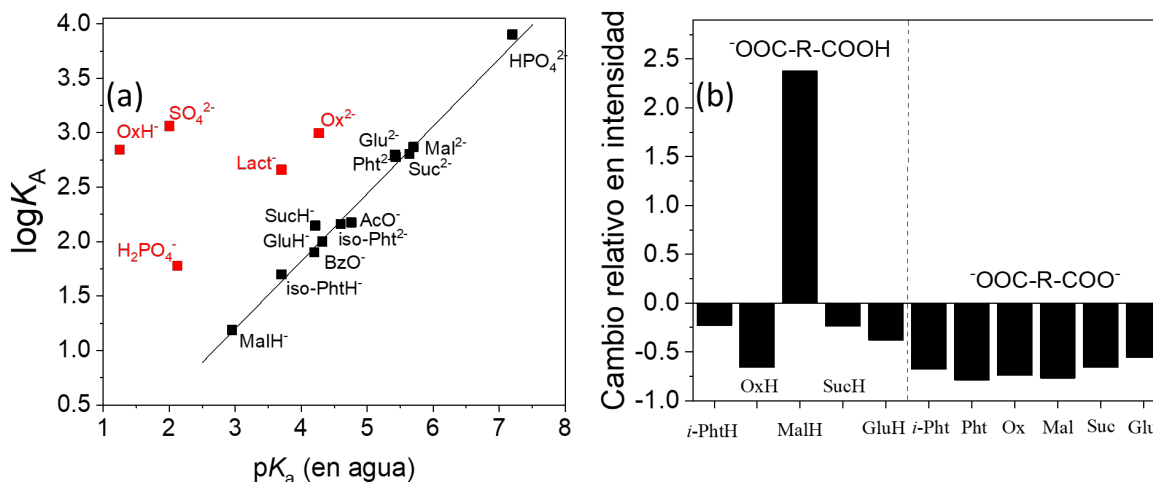


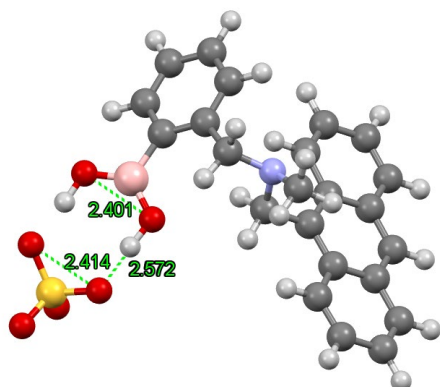
Figura 44 (a) Correlaciones de Brønsted para constantes de estabilidad. El recuadro muestra el gráfico frente a los valores de pK_a en DMSO. (b) El cambio relativo en la fluorescencia de **1** en presencia de mono y dianiones de ácidos dicarboxílicos.

De acuerdo con el mecanismo de enlace de hidrógeno del reconocimiento de aniones, las constantes de asociación para la mayoría de los aniones siguen la correlación de Brønsted mostrada como la línea continua en la Fig. 44a con los parámetros dados en la ecuación (4).

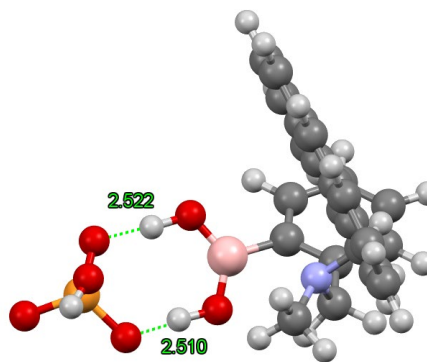
La ausencia de formación de complejos con biftalato (Fig. 43a, Tabla 4) se puede atribuir al fuerte enlace de hidrógeno intramolecular entre los grupos COOH y COO⁻ adyacentes, que evita el enlace de hidrógeno de este último al ácido borónico. Otros aniones que muestran desviaciones significativas del gráfico de Brønsted son H₂PO₄⁻, SO₄²⁻

, lactato y tanto mono como dianiones del ácido oxálico. Analizando estas desviaciones, se debe considerar el hecho de que la correlación se basa en valores de pK_a determinados en agua. Desafortunadamente, los valores de pK_a en DMSO están disponibles solo para unos pocos aniones entre los utilizados en este estudio. Los valores disponibles se recogen en la tabla 4 y la correlación con ellos, que se muestra como el recuadro en la Figura 44a, demuestra que en esta escala el $H_2PO_4^-$ aparece en la misma línea que los carboxilatos, pero la unión anómala con SO_4^{2-} no puede explicarse por este efecto. Por lo que el mecanismo de unión debe ser diferente para el sulfato, que puede actuar como una base de Lewis y se une directamente al centro B(III), sin embargo, la titulación por RMN confirma el enlace de hidrógeno para este anión.

La unión estrecha del dianión de sulfato por los receptores catiónicos de enlace de hidrógeno está bien documentada, pero con los donantes de enlaces de hidrógeno neutros, la alta carga negativa -2 del sulfato debería ser irrelevante y tales receptores pueden unirse mucho más fuerte a un acetato más básico, aunque con menos carga. Sin embargo, parece que los donantes de hidrógeno bidentados, incluido el ácido borónico, a menudo prefieren el sulfato que al acetato. Un ejemplo de esto es la N, N'-dietilurea que se une al sulfato en DMSO con una constante de asociación $K = 1405 M^{-1}$, pero para la unión de acetato a N, N'-dietilurea $K = 45 M^{-1}$ en el mismo disolvente.¹³⁰ Una razón probable de este efecto es debido a una mejor complementariedad de estos donantes de protones bidentados con el sulfato tetraédrico, que con el acetato trigonal. La estructura simulada del complejo de sulfato **12** muestra de hecho la combinación perfecta de distancias O...O en el grupo ácido borónico y el anión, mientras que en el acetato esta distancia es notablemente más corta (2.23 Å). Además, la distancia O-H...O entre átomos de oxígeno es más corta en el complejo de sulfato (estructura **10** y **12**) de acuerdo con su mayor estabilidad. Finalmente, la estructura calculada del posible complejo de tipo ácido de Lewis tiene una energía más alta, lo que confirma adicionalmente el tipo de enlace de hidrógeno preferible de la interacción.



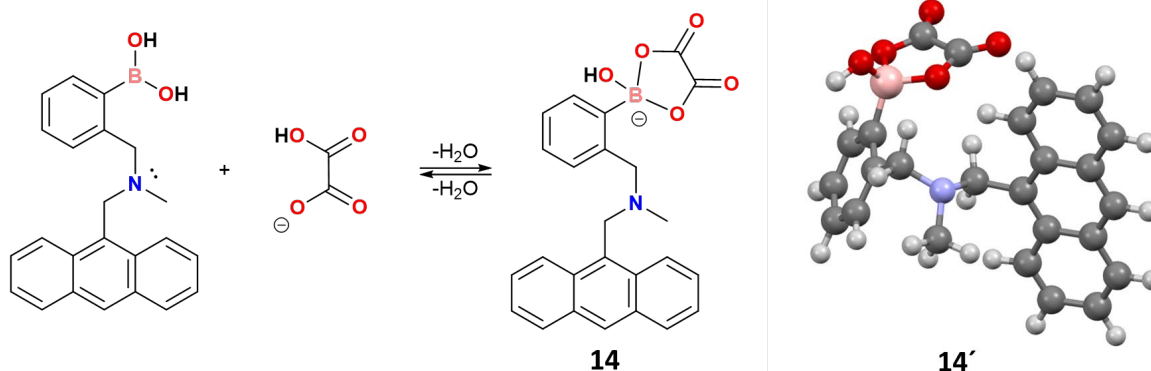
12



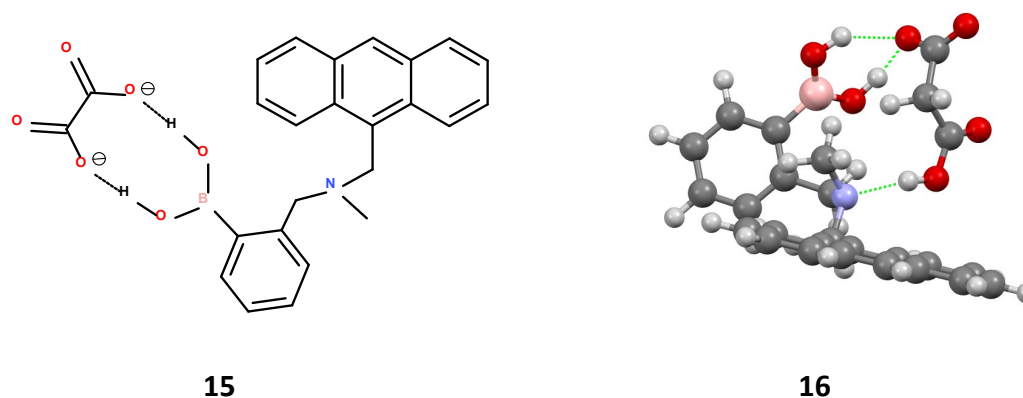
13

A modo de comparación, la estructura del complejo **13** de fosfato de hidrógeno aún más estable (Tabla 4) también se calculó y mostró un enlace O-H...O esperado más corto entre los grupos que interactúan. El enlace de hidrógeno preferible para este anión se confirma por la energía más alta para el complejo de tipo ácido de Lewis respectivo (Tabla 3).

Una desviación positiva muy fuerte para el monoanión de oxalato de hidrógeno (OxH⁻) puede explicarse por el modo de unión diferente. Se sabe que el ácido oxálico interacciona con los ácidos borónicos como un "diol" dando el éster tetraédrico cíclico, que en el caso de **1** tiene la estructura **14**. El éster **14** todavía contiene el fragmento B-OH, pero pertenece a un grupo con carga negativa y difícilmente puede formar un enlace de hidrógeno con nitrógeno. La estructura simulada de DFT **14'** confirma la ausencia del enlace de hidrógeno intramolecular, lo que explica la señal de apagado de OxH⁻ (Fig. 39b). La constante de asociación correspondiente al equilibrio para OxH⁻ y AFB en agua es igual a 35.5 M⁻¹.²⁸ El valor fuertemente incrementado en DMSO (Tabla 4) es un resultado esperado de un contenido de agua muy bajo en el disolvente orgánico. Se observa un modo de unión covalente similar para el lactato con un menor K_A = 18.6 M⁻¹ para AFB en agua.²⁸ La titulación de **1** por lactato en DMSO también da un valor de K_A menor, que sin embargo es mucho mayor de lo esperado por la basicidad de este anión. (Tabla 4 y Fig. 38a) de acuerdo con un modo de unión similar de ambos aniones.



El dianión Ox^{2-} no puede formar el éster **14** porque esto requeriría obviamente una liberación desfavorable del anión hidróxido. Por lo tanto, Ox^{2-} debería formar un complejo con enlaces de hidrógeno del tipo que se muestra en la figura 40 para el acetato. Una posible razón de la desviación positiva del punto para este anión de la gráfica de Brønsted en la Fig.44a es su capacidad potencial para formar dos tipos de complejos cíclicos con enlaces de hidrógeno: involucrando un grupo carboxilato como en el caso de acetato, o involucrando tanto los grupos carboxilato como en la estructura **15**.



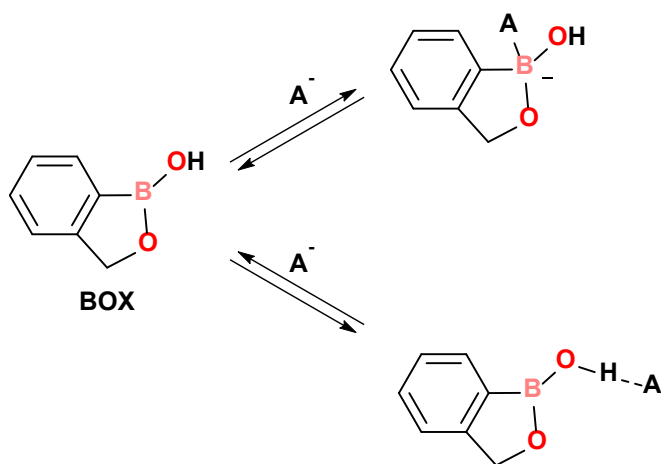
Al examinar la magnitud de la respuesta de fluorescencia, se observa que todos los dianiones inducen una disminución significativa de aproximadamente tres veces en la fluorescencia de **1** (Fig. 42b), de acuerdo con el mecanismo del Esquema 9. Al mismo tiempo, los monoaniones, excluyendo OxH^- y MalH^- , muestran efectos de extinción más pequeños, menos del doble y MalH^- induce una fuerte mejora de la fluorescencia (Fig. 39). Cabe destacar que el ácido malónico, al igual que los ácidos oxálico y láctico, puede formar un éster cíclico covalente con los ácidos borónicos, aunque de menor estabilidad ($K_A = 10 \text{ M}^{-1}$ para AFB en agua).²⁸ Sin embargo, K_A para la interacción de HMal^- con **1** no

muestra ninguna desviación positiva de la gráfica de Brønsted general (Fig. 43a), lo que indica la unión de manera covalente.

Una explicación plausible de los pequeños efectos de extinción con monoaniones de ácidos dicarboxílicos es que el grupo COOH no disociado del huésped puede alcanzar al átomo de nitrógeno y así reducir el efecto PET mediante la formación de un enlace de hidrógeno COOH...N, como se ilustra en la estructura modelo **16** para el anión malonato. En la serie de ácidos dicarboxílicos con diferentes distancias entre los grupos carboxílicos, esta interacción es aparentemente óptima para el efecto de activación que produce HMal⁻, pero incluso en este caso la interacción es más bien débil. Esto se deriva de la ausencia de una estabilización adicional notable de los complejos de todas estas especies por encima de lo que se espera de la basicidad de su grupo COO⁻ (ver la correlación en la Figura 44a). La valoración de **1** con ácido acético libre (Fig. 43b, cuadrados blancos) produce un efecto de activación muy pequeño que confirma una interacción COOH...N intermolecular débil incapaz de competir eficazmente con el enlace BOH...N intramolecular.

6.5 Benzoxaborol como receptor de aniones

Se decidió estudiar la interacción de **BOX** con diferentes aniones proponiendo dos modelos probables de interacción (Esquema 10) Para esto se realizaron experimentos por RMN siguiendo los núcleos de ¹H y ¹¹B con los aniones; CN⁻, HPO₄²⁻, HPhPO³⁻, PhPO³⁻ y SO₄²⁻



Esquema 10 Formas de recepción de **BOX** ante aniones

Con anterioridad en el grupo de investigación ya se habían probado los aniones AcO^- y H_2PO_4^- observando que al interactuar con **BOX** formaba principalmente interacciones por enlaces de hidrógeno, eso a partir del corrimiento a mayor desplazamiento químico de la señal correspondiente B-OH, además de observar un menor desplazamiento químico para las señales del anillo aromático con excepción de la señal encontrada en 7.73 ppm la cual aumenta su desplazamiento químico seguramente debido a la interacción de este protón con el anión. (Tabla 5) Sin embargo, me enfoqué principalmente en aniones dicargados en donde se observaron que se unían principalmente directamente al átomo de boro esto observado debido a la desaparición de la señal correspondiente al ácido borónico y en la resonancia de ^{11}B se observa un corrimiento de la señal de 31.22 a 8 ppm lo que indica el cambio de hibridación en el átomo de boro. (Figura 45a)

Tabla 5 Constantes de estabilidad K_A (M^{-1}) de complejos aniónicos de **BOX** en DMSO, desplazamientos químicos de los complejos a la saturación seguidos por RMN de ^1H y ^{11}B .

Anion	Benzoxaborol (BOX)						Ácido fenilborónico (AFB)			
	$\text{p}K_a^{\text{a)}$	K_A	BOH	ArH ^{b)}	CH_2	^{11}B	K_A	BOH	ArH ^{b)}	^{11}B
CN^-	12.9	14.7		7.655	4.83	21.72	12.2	11.14	7.77	28.42
SO_4^{2-} d)	9.1	800	9.7	7.86	4.86	31.18	6.3×10^3	10.76	7.69	26.86
SO_4^{2-} e)		640			4.57	8.35				
HPO_4^{2-}		- ^{c)}			4.58	8.71	- ^{f)}			
PhPO_3^{2-}		- ^{c)}			4.58	8.06	5.0×10^4	12.9	7.68	27.79

a) $\text{p}K_a$ de los ácidos conjugados en DMSO: H_2PO_4^- ,²⁶ SO_4^{2-} ,²⁷ otros aniones.²⁸

b) El protón en posición -orto al grupo borónico.

c) Muy grandes para ser determinados

d) proceso rápido

e) proceso lento

f) Patrón complejo que impide la estimación de K_A

La asociación del **AFB** con SO_4^{2-} procede a través de puentes de hidrógeno debido a que aumenta el desplazamiento químico en la señal de BOH y se observa en ^{11}B una señal en 26.86 ppm a la saturación, con una constante de unión bastante grande. La interacción de **BOX** con SO_4^{2-} es más compleja, se observan dos juegos de señales (Figura 45b) en

presencia del ion sulfato lo que indica la formación lenta del complejo con respecto a la escala de resonancia magnética nuclear, pero las señales correspondientes a **BOX** libre se mueve notablemente al incrementar la presencia del anión, lo que indica la existencia de un proceso simultáneo rápido de complejación. Una explicación plausible a estas observaciones es que el anión sulfato forma de manera simultánea dos complejos isométricos con **BOX**, uno es un proceso rápido a comparación del otro, siendo lo más probable que el proceso rápido de complejación se ha atribuido a la formación de enlaces de hidrógeno mientras que el proceso lento es debido a la formación del del aducto tipo Lewis. La formación de dos complejos también se corrobora debido a que se ven 2 señales en RMN ^{11}B , Una a 31.18 ppm correspondiente al boro en forma trigonal mientras se observa otra a 8.35 ppm, lo que es un desplazamiento típico para un boro tetraédrico.

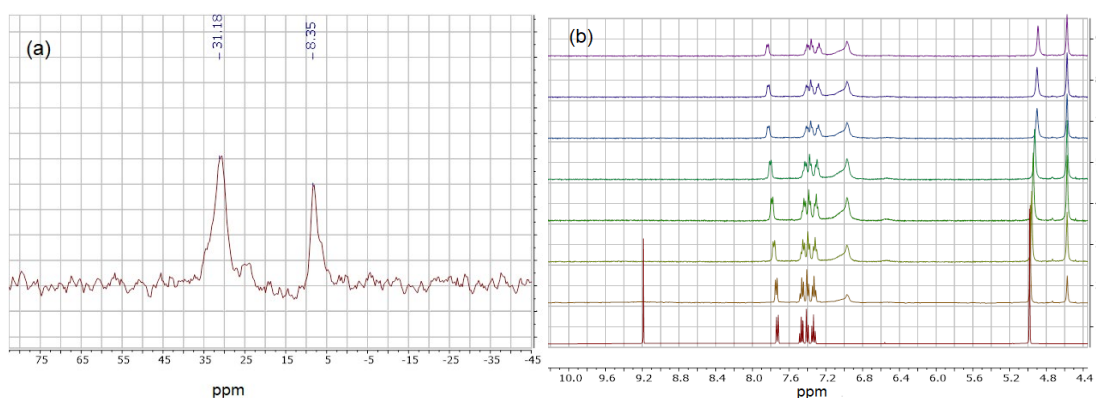
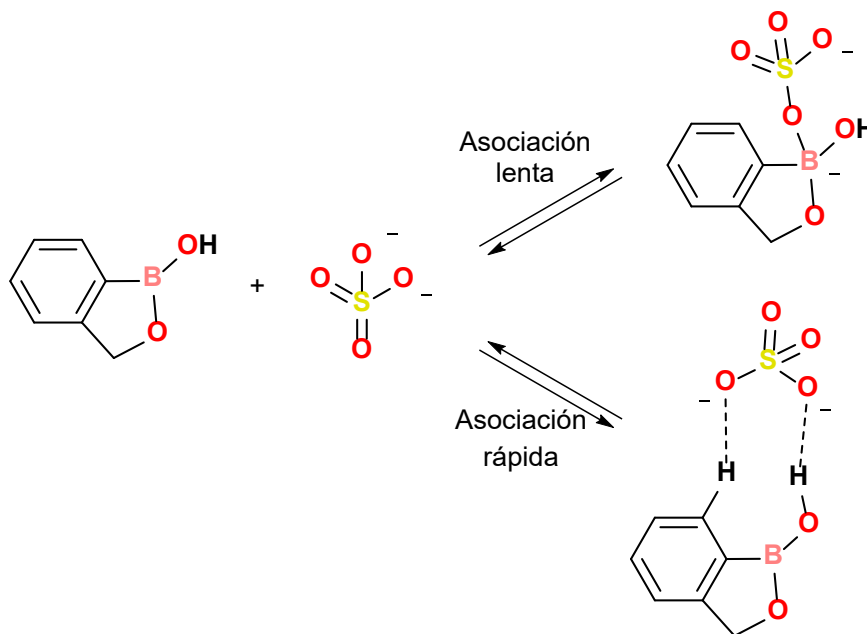


Figura 45 (a) Espectro de ^{11}B a la saturación de SO_4^{2-} (b) Espectros de RMN ^1H de **BOX** en $\text{DMSO-}d_6$ con 0, 1.3, 2.6, 3.8, 5.0, 6.2, 7.3, 8.5 y 9.5 mM de SO_4^{2-}

Las constantes de formación para los complejos BOXSO_4^{2-} no puedan ser obtenidas de manera sencilla con el promedio de las señales integradas, ya que la señal de **BOX** libre en verdad incluye a la especie libre como a la enlazada en el proceso rápido con el grupo borónico. Por lo que se usó el siguiente procedimiento; la concentración del proceso lento fue calculado con las intensidades relativas de las señales correspondientes a los protones del metileno y la concentración total del ion sulfato, obtenido de la suma de la concentración de la especie libre y enlazada en el proceso rápido del complejo sulfato. Mientras que el desplazamiento químico para los protones aromáticos se ajustó con la ecuación 3 para el intercambio de un proceso rápido dando un valor de K_A es igual a 800 M^{-1} . Para el caso de los aniones fosfato y fosfonato son especies más básicas que el sulfato dando especies mucho más estables del complejo cuaternizado.



Esquema 11 Formación simultánea de complejos de sulfato de intercambio lento y rápido con **BOX**.

Los resultados de la titulación entre **BOX** y cianuro se muestran en la figura 46. Para este caso todas las señales en el espectro de protón se recorrieron a menor desplazamiento químico mientras que la señal correspondiente a BOH desaparece del espectro, lo que indica una interacción de tipo Lewis, la cual se confirma por RMN de ^{11}B . El ajuste de los perfiles de concentración para los protones aromáticos y los correspondientes al metileno son los que nos dan la constante de asociación mostrada en la tabla, y el análisis de los resultados de la titulación por RMN de ^{11}B , extrapolando el desplazamiento químico a la saturación, nos da un valor de 22.5 ppm. Esto es un claro desplazamiento hacia el campo alto, sin embargo, no corresponde a la señal típica para un boro tetraédrico, la cual es típica para un enlace B-CN que es de 10 ppm. Una posible explicación para este caso es que **BOX** se une a partir de un enlace coordinado con el ion isocianato, lo que sí ha sido caracterizado anteriormente, aumentando el desplazamiento químico hasta 20 ppm en comparación con el enlace B-CN coordinado.

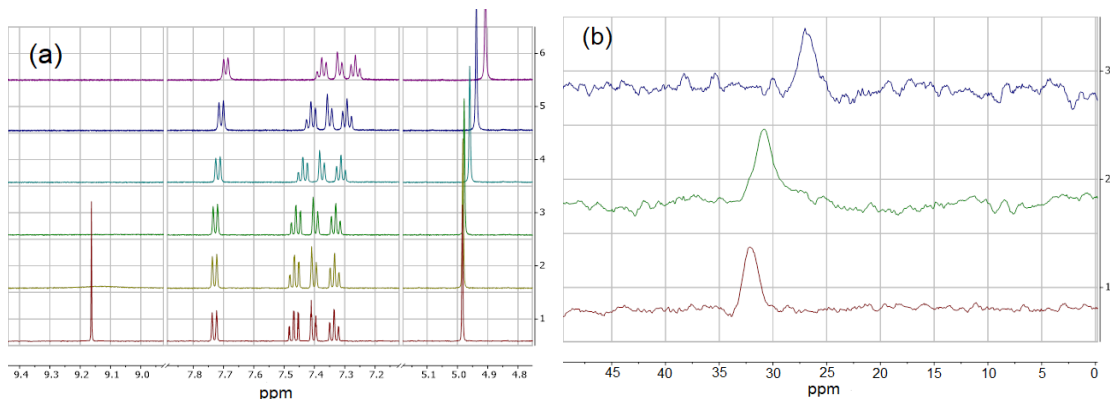


Figura 46 (a) Espectros de RMN ^1H de **BOX** 5 mM en presencia de (abajo a arriba) 0, 3.0, 5.0, 26, 50 y 76 mM de Bu_4NCN en DMSO-d_6 ; (b) Espectros de RMN ^{11}B NMR (160.5 MHz) de **BOX** 5 mM en presencia de 0, 5.0 y 76 mM Bu_4NCN en DMSO-d_6 .

Por otro lado, también se optimizaron las estructuras de los complejos entre **BOX** y distintos aniones por DFT/M06-2X/Def2TZVP (Figura 47). Los resultados óptimos de estos cálculos mostraron que en el caso de la estructura **BOXAcO** se confirma la formación simultánea del enlace de hidrógeno débil entre el CH aromático y el oxígeno con una distancia 0.18 Å menor que la suma de los radios de van der Waals que es 2.72 Å. Sin embargo el complejo respectivo ácido de Lewis tiene tan solo una energía ligeramente mayor de 0.74 Kcal/mol lo que nos dice que prefiere la formación de puentes de hidrógeno.

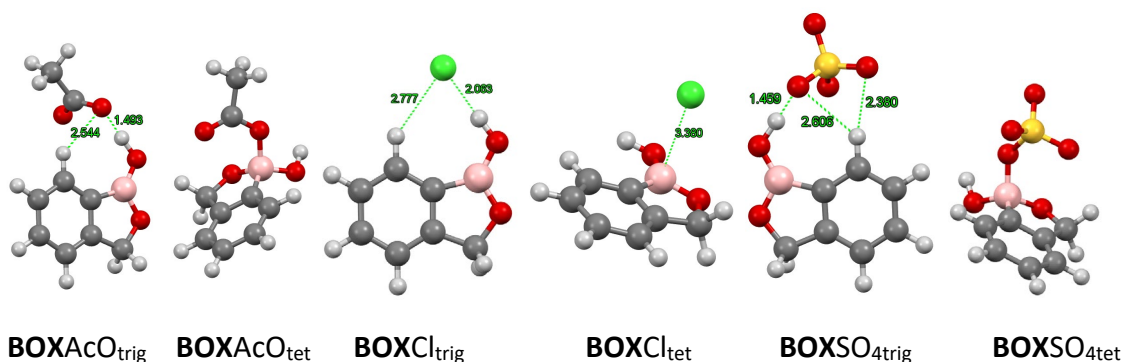


Figura 47 Estructuras calculadas por DFT entre **BOX** y AcO^- , Cl^- y SO_4^{2-}

También se estudió la interacción de **BOX** con cloruro, confirmando que la estructura más estable es la del tipo puentes de hidrógeno de igual manera encontrando el enlace $\text{CH}\cdots\text{Cl}$ con una distancia de 2.95 Å, mientras que se encontró que el Cl^- no interactúa directamente con el átomo de boro.

Otra de las estructuras más interesantes a estudiar fueron las calculadas a partir de **BOX** y sulfato, las cuales tienen una energía muy similar teniendo una diferencia solamente de 0.28 Kcal/mol (Tabla 6). E incluso haciendo un cálculo de distribución de especies a partir de la ecuación 5, se encuentra que coexisten el complejo de Brønsted y de Lewis con una proporción molar 1:0.6 siendo más estable el complejo por puentes de hidrógeno, estos datos concuerdan con la información obtenida en resonancia magnética nuclear de ^{11}B .

$$\frac{N_j}{N_i} = e^{-(E_j - E_i)/kT} \quad (5)$$

Tabla 6 Energías absolutas de las estructuras calculadas de los complejos con **BOX**

Structure	Anion	Solvent	Total Energy, E_h
BOXAcO _{trig}	AcO ⁻	DMSO	-674.876000
BOXAcO _{tet}	AcO ⁻	DMSO	-674.874635
BOXH₂PO₄ _{trig}	H ₂ PO ₄ ⁻	DMSO	-1090.046791
BOXH₂PO₄ _{tet}	H ₂ PO ₄ ⁻	DMSO	-1090.040419
BOXPhPO₃H _{trig}	PhPO ₃ H ⁻	DMSO	-1245.739580
BOXPhPO₃H _{tet}	PhPO ₃ H ⁻	DMSO	-1245.734793
BOX(PhO)₂PO₂ _{trig}	(PhO) ₂ PO ₂ ⁻	DMSO	-1551.958354
BOX(PhO)₂PO₂ _{tet}	(PhO) ₂ PO ₂ ⁻	DMSO	-1551.946605
BOXCl _{trig}	Cl ⁻	MeCN	-906.660893
BOXCl _{tet}	Cl ⁻	MeCN	-906.649651
BOXF _{tet}	F ⁻	DMSO	-546.297306
BOXSO₄ _{trig}	SO ₄ ²⁻	DMSO	-1145.685707
BOXSO₄ _{tet}	SO ₄ ²⁻	DMSO	-1145.685262
BOXHPO₄ _{trig}	HPO ₄ ²⁻	DMSO	-1089.556050
BOXHPO₄ _{tet}	HPO ₄ ²⁻	DMSO	-1089.562290
BOXPhPO₃ _{trig}	PhPO ₃ ²⁻	DMSO	-1245.254476
BOXPhPO₃ _{tet}	PhPO ₃ ²⁻	DMSO	-1245.259536

Por lo tanto, en general, los cálculos respaldan el tipo de enlace de hidrógeno o coordinado observado experimentalmente de anión que se une a **BOX**

7. Conclusiones

Los receptores fluorescentes construidos con el uso de un ácido borónico unido a través del grupo orto-metilamino a un fluoróforo representan un importante grupo de sensores ópticos para azúcares. El mecanismo de generación de la señal por interacción de estos receptores con azúcares fue un objeto de controversia en el transcurso de los últimos 20 años. En este trabajo se analiza la validez del mecanismo más reciente conocido como la teoría de “loose bolt” para el funcionamiento del receptor **1**, ensamblado por el ácido fenilborónico unido a antraceno como fluoróforo a través del grupo orto-metilamino. En particular, se presta la atención al papel del átomo de nitrógeno que en acuerdo a la teoría no es esencial para el señalamiento y solo sirve en su forma protonada como una carga positiva que desplaza el pK_a del ácido borónico.

Para elucidar el papel del grupo orto-metilamino protonado se sintetizó el receptor modelo **3** con el grupo amino cuaternizado que conserva la carga positiva del grupo NH^+ , pero es incapaz de formar el puente de hidrógeno intramolecular con el grupo boronato aniónico. Se estableció que el receptor **3** funciona por un mecanismo totalmente diferente al de **1** mostrando el perfil de fluorescencia vs. pH inverso al observado con **1** y produciendo la señal óptica por un efecto de desplazamiento de pK_a inducido por complejación con azúcar bien conocido en la química de ácidos borónicos. Entonces la presencia del grupo NH^+ es indispensable para el mecanismo de señalamiento de **1**.

Se realizaron estudios de complejación de **1** con diferentes polioles incluyendo a parte de tradicionalmente usados azúcares, que inducen una fuerte disminución de pK_a de los ácidos borónicos, algunos dioles que tienen este efecto mínimo (cis-1,2-ciclopentanol) o inverso (pinanol) observando en estos casos la disminución o aun inversión de la señal inducido por complejación con **1**.

Se observó que en el agua deuterada sucede un aumento del pK_a de **1**, que es un efecto esperado, sin embargo, prácticamente no hay cambio en la magnitud de la señal óptica inducida por complejación con fructosa. Esto indica un mínimo contribución del efecto “loose bolt” que debe estar acompañado por casi completa pérdida de la señal en D_2O .

Se observó que la intensidad de fluorescencia del complejo **1** con fructosa disminuye notablemente mientras que la fluorescencia del receptor libre aumenta ligeramente en puro metanol comparando con el medio acuoso. Como consecuencia, el señalamiento casi desaparece en puro metanol en acuerdo con lo esperado según la teoría de “loose bolt”,

sin embargo, la teoría predice las tendencias en comportamiento del complejo y receptor libre opuestos a los observados. El comportamiento observado se explica como un efecto del medio en términos del mecanismo propuesto en este trabajo.

Resumiendo, todas observaciones de este estudio proponen un nuevo mecanismo de señalamiento para el receptor **1**, que atribuye el efecto principal a la modificación de la fuerza del puente de hidrógeno intramolecular $-B(OH)_3^- \cdots ^+HN-$ existente en el receptor libre por transformación del grupo $-B(OH)_3^-$ al grupo $-B(OR)_3^-$ donde R es el fragmento del diol. Debido a la menor basicidad del grupo boronato sustituido, la interacción con el protón se debilita ocasionando una menor distancia N-H y por consiguiente la eliminación del apagamiento por PET, que resulta en la señal observada. El mecanismo propuesto está en acuerdo con la necesidad de la presencia del grupo NH^+ , observando que la señal más intensa es ocasionada con dioles más ácidos, con efecto del metanol como el medio de reacción menos polar, esto corroborado mediante cálculos computacionales.

Se descubrió una nueva aplicación de **1** como un receptor de aniones (carboxilatos, fosfatos, sulfato) en medios apróticos, DMSO y MeCN, se estableció el mecanismo de recepción que consiste en la formación de enlaces de hidrógeno entre aniones y el grupo $-B(OH)_2$ del receptor. Únicamente con el anión F^- el receptor se comporta como un ácido de Lewis interaccionando a través del átomo de boro.

La complejación de aniones induce el apagamiento de fluorescencia de **1**, interpretado como la competencia entre aniones y el átomo de nitrógeno del receptor, a través de enlaces de hidrógeno con los grupos B-OH, modificando el grado de PET y consecuentemente la intensidad de fluorescencia.

Las constantes de asociación de aniones en DMSO varían en el rango de 10 a $10^4 M^{-1}$, mostrando una buena correlación de tipo Brønsted entre $\log K_A$ y pK_a de los ácidos conjugados de los aniones. Se estableció la detección selectiva de monoaniones de los ácidos dicarboxílicos debido a su capacidad de interacción ditópica. Este mecanismo de señalización de aniones a partir de la ruptura y formación de enlaces de hidrógeno ha servido para explicar el comportamiento de algunos sensores para agua utilizados por Ooyama.¹³¹

Otro ácido borónico con un átomo donador, en este caso oxígeno, en posición orto estudiado como un receptor de aniones es el benzoxaborol. Por sus propiedades estructurales y físico-químicas (tiene solo un grupo OH y alta acidez del tipo Lewis) se

esperaría que su modo de interacción con aniones principal debe ser la coordinación directa al átomo de boro. Sin embargo, esto es cierto solo para aniones de tamaño chico (F^- , OH^-) o de muy alta basicidad (HPO_4^{2-} , $PhPO_3^{2-}$) mientras que la mayoría de monoaniones tales como AcO^- , Cl^- , $H_2PO_4^-$ prefieren la formación de enlaces de hidrógeno. El modo de complejación fue corroborado mediante cálculos computacionales de sus estructuras minimizadas. La razón de preferencia de la formación de enlaces de hidrógeno con aniones relativamente voluminosos es inesperadamente alto, producido por el efecto estérico del orto metileno. Se concluye que los receptores de aniones en base de benzoxaborol como el sitio de reconocimiento pueden ser eficientes para detección de algunos aniones importantes altamente básicos como el pirofosfato.

8. Referencias

- (1) James, T. D.; Phillips, M. D.; Shinkai, S. *Boronic Acids in Saccharide Recognition*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2006**.
- (2) Yan, J.; Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. *Tetrahedron* **2004**, *60* (49), 11205–11209.
- (3) Mader, H. S.; Wolfbeis, O. S. *Microchim. Acta* **2008**, *162* (1–2), 1–34.
- (4) Nishiyabu, R.; Kubo, Y.; James, T. D.; Fossey, J. S. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (4), 1106–1123.
- (5) Christensen, J. B.; Hansen, J. S.; Hoeg-Jensen, T.; Petersen, J. F.; Norrild, J. C. *Sensors Actuators B Chem.* **2011**, *161* (1), 45–79.
- (6) Peters, J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- (7) James, T. D.; Sandanayake, K. R. A. S.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 477–478.
- (8) Collins, B. E.; Sorey, S.; Hargrove, A. E.; Shabbir, S. H.; Lynch, V. M.; Anslyn, E. V. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (11), 4055–4060.
- (9) Zhu, L.; Shabbir, S. H.; Gray, M.; Lynch, V. M.; Sorey, S.; Anslyn, E. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (4), 1222–1232.
- (10) Sun, X.; James, T. D.; Anslyn, E. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (6), 2348–2354.
- (11) Chapin, B. M.; Metola, P.; Vankayala, S. L.; Woodcock, H. L.; Mooibroek, T. J.; Lynch, V. M.; Larkin, J. D.; Anslyn, E. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (15), 5568–5578.
- (12) Ni, W.; Kaur, G.; Springsteen, G.; Wang, B.; Franzen, S. *Bioorg. Chem.* **2004**, *32* (6), 571–581.
- (13) Sun, X.; Chapin, B. M.; Metola, P.; Collins, B.; Wang, B.; James, T. D.; Anslyn, E. V. *Nature Chemistry*, **2019**, *11*, 768–778.
- (14) Neupane, L. N.; Lohani, C. R.; Kim, J.; Lee, K. H. *Tetrahedron* **2013**, *69* (52), 11057–11063.
- (15) Tong, A. J.; Yamauchi, A.; Hayashita, T.; Zhang, Z. Y.; Smith, B. D.; Teramae, N. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (7), 1530–1536.
- (16) Rowe, S. M.; Miller, S.; Sorscher E. J. *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 1992 – 2001.
- (17) Delange, F. *Thyroid* **1994**, *4*, 107 – 128.
- (18) Cametti, M.; Rissanen, K. *Chem. Commun.* **2009**, 2809 – 2829.
- (19) Chang, S. G.; Littlejohn, D.; Hu, K. Y. *Science* **1987**, *237*, 756 – 758.
- (20) Moss, B. *Chem. Ind.* **1996**, 407 – 411.
- (21) Expediente científico sobre el glifosato y los cultivos GM, CONACyT 2019
- (22) Yoshihara, K. *Top. Curr. Chem.* **1996**, *176*, 17 – 35.
- (23) Dasgupta, P. K.; Dyke, J. V.; Kirk, A. B.; Jackson, W. A. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 6608 – 6614.
- (24) Smith, A. H.; Lingas, E. O.; Rahman, M. *Bull. World Health Organ.* **2000**, *78*, 1093 – 1103.
- (25) Lappert, M. F. *Chem. Rev.* **1956**, *56* (5), 959–1064.
- (26) Frankland, E. *J. Chem. Soc.* **1962**, *15*, 363–381.
- (27) Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.* **1959**, *24* (6), 769–774.

- (28) Westmark, P. R.; Gardiner, S. J.; Smith, B. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (45), 11093–11100.
- (29) Babcock, L.; Pizer, R. *Inorg. Chem.* **1980**, *19* (1), 56–61.
- (30) Cao, Z.; Cao, Y.; Kubota, R.; Sasaki, Y.; Asano, K.; Lyu, X.; Zhang, Z.; Zhou, Q.; Zhao, X.; Xu, X.; Wu, S.; Minami T.; Liu, Y. *Front. Chem.*, **2020**, *8*, 1-6.
- (31) Schneider, H. J.; Yatsimirsky, A. K. In *Artificial Receptors for Chemical Sensors*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, **2010**, 17–65.
- (32) Jelinek, R.; Kolusheva, S. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (12), 5987–6016.
- (33) Ferrier, R. In *Encyclopedia of Life Sciences*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, **2001**, 1–23.
- (34) Aoyama, Y.; Tanaka, Y.; Toi, H.; Ogoshi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110* (2), 634–635.
- (35) Hammarström, L. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, (3), 840–850
- (36) Watson, K. M.; Asbury, J. B. *Phys. Chem. C* **2022**, *126* (10), 4995–5003
- (37) Wang, Y.; Cui, X.; Gao, H.; Lu, R.; Zhou, W. *Spectrochim. Acta A* **2022**, *270*, 120833.
- (38) Meng, Y.; Zhang, N.; Li, J.; Xu, Y.; Yang, Q.; Yuan, Y.; Zhang, X.; Wu, J.; Zhao, L. *Spectrochim. Acta A* **2022**, *266*, 120419.
- (39) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaugsson, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566
- (40) de Silva, A. P.; Moody, T. S.; Wright, G. D. *Analyst*, **2009**, *134*, 2385–2393
- (41) Daly, B.; Ling, J.; de Silva, A. P. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 4203-4211
- (42) Cardona, M. A.; Mallia, C. J.; Baisch, U.; Magri, D. C. *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 3783–3791
- (43) Wulff, G. *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 2093–2102
- (44) Wulff, G.; Dederichs, W.; Grotstollen, R.; Jupe, C. in *Affinity Chromatography and Related Techniques*, Elsevier, **1982**, 207–216
- (45) Rowan, S. J.; Cantrill, S. J.; Cousins, G. R.; Sanders, J. K.; Stoddart, J. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 898–952
- (46) Cougnon, F. B. L.; Sanders, J. K. M. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 2211–2221
- (47) Wilson, A.; Gasparini, G.; Matile, S. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 1948–1962 (2014).
- (48) Weith, H. L.; Wiebers, J. L.; Gilham, P. T. *Biochemistry* **970**, *91*, 4396–4401
- (49) Cambre, J. N.; Sumerlin, B. S. *Polymer* **2011**, *52*, 4631–4643
- (50) Wulff, G.; Lauer, M.; Böhnke, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 741–742
- (51) Sun, X.; James, T. D. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8001–8037
- (52) Jin, S.; Wang, J.; Li, M.; Wang, B. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2795–2804
- (53) Zhai, W.; Sun, X.; James, T. D.; Fossey, J. S. *Chem. Asian J.* **2015**, *10*, 1836–1848
- (54) Sun, X.; Zhai, W.; Fossey, J. S.; James, T. D. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3456–3469
- (55) Crane, B. C.; Barwell, N. P.; Gopal, P.; Gopichand, M.; Higgs, T.; James, T. D.; Jones, C. M.; Mackenzie, C. M.; Mulavisala, K. P.; Paterson, W. J. *Diabetes Sci. Technol.* **2015**, *9*, 751–761

- (56) Lauer, M.; Wulff, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1987**, 745-749
- (57) Norrild, J. C.; Sotofte, I. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, 727-732
- (58) Toyota, S.; Oki, M. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1992**, 65, 1832-1840
- (59) Zhang, L.; Kerszulis, J. A.; Clark, R. J.; Ye, T.; Zhu, L. *Chem. Commun.*, **2009**, 2151-2153
- (60) James, T. D., Sandanayake, K. R. A. S.; Shinkai, S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2207-2209
- (61) Franzen, S.; Ni, W.; Wang, B. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 12942-12948
- (62) Springsteen, G.; Wang, B., *Tetrahedron* **2002**, 58, 5291-5300
- (63) Collins, B. E. A Kinetic Investigation of Boronic Acid/Diol Interactions and Pattern-Based α -Chiral Carboxylate Recognition. **2005**, PhD Thesis, Univ. Texas at Austin.
- (64) Kelly, A. M.; Pérez-Fuertes, Y.; Arimori, S.; Bull, S. D.; James, T. D. *Org. Lett.*, **2006**, 8, 1971-1974
- (65) Chaberek, S.; Courtney, R. C.; Martell, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 5057-5060
- (66) Arimori, S.; Bell, M. L.; Oh, C. S.; Frimat, K. A.; James, T. D. Modular fluorescence sensors for saccharides. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2001**, 803-808 (2002).
- (67) Norrild, J. *J. Chem. Soc.; Perkin Trans. 2* **1999**, 449-456
- (68) Matsumura, T.; Iwatsuki, S.; Ishihara, K. *Inorg. Chem. Commun.* **2005**, 8, 713-716
- (69) Collins, B. E.; Metola, P.; Anslyn, E. V. *Supramol. Chem.* **2013**, 25, 79-86
- (70) Chandross, E. A. *J. Chem. Phys.* **1965**, 43, 4175-4176
- (71) Chandross, E. A.; Ferguson, J.; McRae, E. *J. Chem. Phys.* **1966**, 45, 3546-3553
- (72) McVey, J. K.; Shold, D. M.; Yang, N. *J. Chem. Phys.* **1976**, 65, 3375-3376
- (73) Camara, J. N.; Suri, J. T.; Cappuccio, F. E.; Wessling, R. A.; Singaram, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 1139-1141
- (74) Arimori, S.; Phillips, M. D.; James, T. D. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 1539-1542
- (75) Phillips, M.; James, T. *J. Fluoresc.* **2004**, 14, 549-559
- (76) Xing, Z.; Wang, H.; Cheng, Y.; Zhu, C.; James, T. D.; Zhao, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 1223-1229
- (77) Sun, X.; Xu, Q.; Kim, G.; Flower, S. E.; Lowe, J. P.; Yoon, J.; Fossey, J. S.; Qian, X.; Bull, S. D.; James, T. D. *Chem. Sci.* **2014**, 5, 3368-3373
- (78) Dereka, B.; Vauthey, E. *Chem. Sci.* **2017**, 8, 5057-5066
- (79) Mirbach, M. J.; Mirbach, M. F.; Cherry, W. R.; Turro, N. J.; Engel, P. *Chem. Phys. Lett.* **1978**, 53, 266-269
- (80) Shizuka, H.; Tobita, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6919-6927
- (81) Lewis, G. N.; Magel, T. T.; Lipkin, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 2973-2980
- (82) Kortüm, G.; Dreesen, G. *Chem. Ber.* **1951**, 84, 182-203
- (83) Guesten, H.; Mintas, M.; Klasinc, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7936-7937
- (84) Lewis, G. N.; Calvin, M. *Chem. Rev.* **1939**, 25, 273-328

- (85) Hofer, L. J. E.; Grabenstetter, R. J.; Wiig, E. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 203–209
- (86) Ogunsipe, A.; Chen, J. Y.; Nyokong, T. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 822–827
- (87) Chen, L.; Berry, S. N.; Wu, X.; Howe, E. N.W.; Gale, P. A. *Chem*, **2020**, *6*, 61–141.
- (88) Kubo, Y.; Kobayashi, A.; Ishida, T.; Misawa, Y.; James, T. D. *Chem. Commun.* **2005**, *22*, 2846-2848
- (89) Swamy, K. M. K. M.; Ju Lee, Y.; Lee, H. N. ; Chun, J.; Kim, Y.; Kim, S.J.; Yoon, J. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 8626-8628
- (90) Thakur, A.; Mandal, D.; Sao, S.; Ghosh, S. *J. Organomet. Chem.*, **2012**, *715*, 129-135
- (91) Xue, M.; Wang, X.; Duan, L.; Gao, W.; Ji, L.; Tang, B. *Biosens. Bioelectron.*, **2012**, *36*, 168-173
- (92) Martínez-Aguirre, M. A.; Yatsimirsky, A. K. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 10, 4985–4993.
- (93) Hughes, M. P.; Smith, B. D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4492
- (94) Bühlmann, P.; Amemiya, S.; Nishizawa, S.; Xiao, K. P.; Umezawa, Y. J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. *5Chem.* **1998**, *32*, 151
- (95) Martínez-Aguirre, M. A.; Martínez Otero, D.; Álvarez-Hernández, M. L.; Torres-Blancas, T.; Dorazco-González, A.; Yatsimirsky, A. *Heterocycl. Commun.* **2017**, *23*, 171-180
- (96) Hiscock, J.R.; Wells, N. J.; Ede, J. A.; Gale, P. A.; Sambrook, M. R. *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 9560–9567.
- (97) Hall, D. G. *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, *48*, 3475-3496
- (98) Pereira Orenha, R.; Haber Cintra, C.; Bermudes Peixoto, L.; Henrique da Silva, E.; Finoto Caramori, G.; Osmar Ortolan, A.; Jeomar Piotrowski, M.; Tame Parreira, R. L. *New J. Chem.*, **2020**, *44*, 5564–5571.
- (99) Kazmi, M. Z. H.; Rygus, J. P. G.; Ang, H. T.; Paladino, M.; Johnson, M. A.; Ferguson, M. J.; Hall, D. G. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 10143–10156.
- (100) Adamczyk-Woźniak, A.; Borys, K. M.; Sporzyński, A. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 5224-5247
- (101) Liu, C. T.; Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4462–4473.
- (102) Torssell, K. *Ark. Kemi* **1957**, *10*, 507
- (103) Berube, M.; Dowlut, M.; Hall, D. G. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6471–6479.
- (104) Torssell, K.; McClendon, J. H.; Somers, G. F. *Acta Chem. Scand.* **1958**, *12*, 1373-1385.
- (105) Martínez-Aguirre, M. A.; Flores-Alamo, M.; Medrano, F.; Yatsimirsky, A. K.. *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 2716–2726
- (106) Drago, R. S.; Wayland, B. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3571–3577.
- (107) Covington, A.K.; Paabo, M.; Robinson, R.A.; Bates, R.G. *Analyt. Chem.*; **1968**, *40*, 700-706.
- (108) Espinosa, S.; Bosch, E.; Rosés, M. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5193-5200.
- (109) Canals, I.; Portal, J. A.; Bosch, E.; Rosés, M. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1802-1809
- (110) James, T. D.; Sandanayake, K. R. A. S.; Iguchi, R.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117* (35), 8982-8987
- (111) Hussein, M. A.; Dinh, A. H.; Huynhb, V. T.; Nguyen, T. V. *Chem. Commun.*, **2020**, *56*, 8691-8694.

- (112) Sulikowski Gary, A.; Michelle, M. S.; Haukaas Michael, H.; Moon, B. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, **2005**, Wiley, Hoboken
- (113) Selva, M.; Perosa, A. *Green Chem.* **2008**, *10*, 457–464
- (114) de Silva, A. P.; Rupasinghe, R. A. D. D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1985**, 1669–1670
- (115) Thakur, A.; Zhang, K.; Louie, J. [Chem. Commun.](#), 2012, **48**, 203–205
- (116) Kinzel, T.; Zhang, Y.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (40), 14073–14075
- (117) Fleckenstein, C. A.; Plenio, H. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (8), 3236–3244
- (118) Duke, R. M.; Veale, E. B.; F. M. Pfeffer, P. E. Kruger, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 3936–3953
- (119) Stryer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 5708–5712
- (120) Khara, D. C.; Banerjee, S.; Samanta, A. *ChemPhysChem* **2014**, *15*, 1793 – 1798
- (121) Rived, F.; Rosés, M.; Bosch, E. *Anal. Chim. Acta*, **1998**, *374*, 309–324.
- (122) Seraj, S.; Rouhani, S.; Faridbod, F. *New J. Chem.*, **2018**, *42*, 19872–19880
- (123) Ooyama, Y.; Sumomogi, M.; Nagano, T.; Kushimoto, K.; Komaguchi, K.; Imae, I.; Harima, Y. *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 1314–1316
- (124) Marinaro, W.A.; Prankerd, R.; Kinnari, K.; Stella, V. J. *J. Pharm. Sci.* **2015**, *104*, 1399–1408
- (125) Kearns, F. L.; Robart, C.; Kemp, M. T.; Vankayala, S. L.; Chapin, B. M.; Anslyn, E. V.; Woodcock, H. L.; Larkin, J. D. *Acid. J. Chem. Inf. Model.* **2019**, *59*, 2150–2158.
- (126) Ooyama, Y.; Matsugasako, A.; Oka, K.; Nagano, T.; Sumomogi, M.; Komaguchi, K.; Imae, I.; Harima, Y. *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 4448–4450
- (127) Ooyama, Y.; Matsugasako, A.; Hagiwara, Y.; Ohshita J.; Harima, Y. *RSC Adv.*, **2012**, *2*, 7666–7668
- (128) Boiocchi, M.; Del Boca, L.; Esteban-Gomez, D.; Fabbrizzi, L.; Licchelli, M.; Monzani, E. *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 3097–3104
- (129) Rodriguez-Cuamatzi, P.; Arillo-Flores, O. I.; Bernal-Uruchurtu, M. I.; Hopfl, H. *Crystal Growth & Design*, **2005**, *5*, 167–175
- (130) Jia, C.; Wang, Q.-Q.; Begum, R. A.; Day, V. W.; Bowman-James, K. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13*, 6953–6957
- (131) Fumoto, T.; Imato, K.; Ooyama, Y. *New J. Chem.*, **2022**, *46*, 21037–21046

9. Apéndice

Tabla A1. Datos cristalograficos de **1·HBr** and **2**.

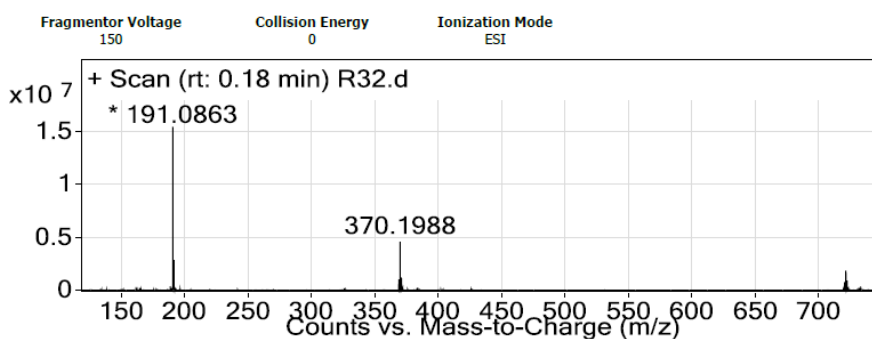
	1·HBr
Empirical formula	C ₂₃ H ₂₃ BBrNO ₂
Formula weight	436.14
Temperature	100(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 8.2825(4) Å b = 9.9237(5) Å c = 13.9515(6) Å α = 107.3957(8)° β = 93.2715(9)° γ = 112.7526(8)°
Volume	989.49(8) Å ³
Z	2
P_{calcd} (g cm ⁻³)	1.464
μ (mm ⁻¹)	2.096
Theta range for data collection	2.343 to 27.441°
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 10, -12 ≤ k ≤ 12, -18 ≤ l ≤ 18
Reflections collected	19093
Independent reflections	4525 [R(int) = 0.0224]
Data / restraints / parameters	4525 / 3 / 263
Goodness-of-fit on F ²	1.131
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0322, wR2 = 0.0784
R indices (all data)	R1 = 0.0345, wR2 = 0.0794
Largest diff. peak and hole	0.744 and -0.478 e.Å ⁻³

Tabla A2. Distancias de enlaces de hidrógeno **1**·HBr [\AA and $^\circ$].

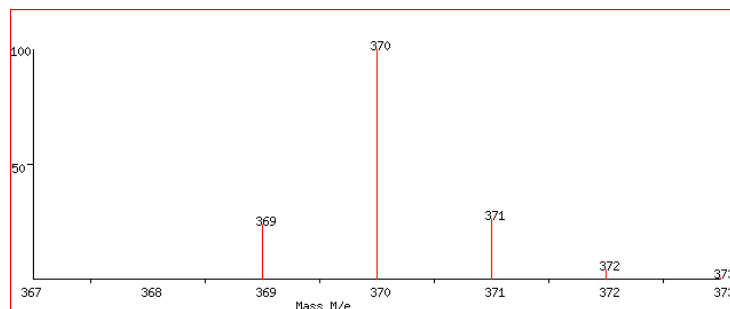
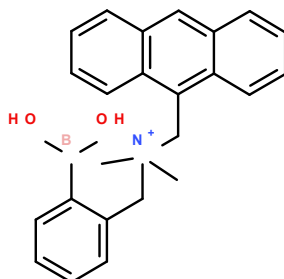
D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(1O)...Br(1)	0.831(10)	2.377(13)	3.1837(15)	164(3)
O(2)-H(2O)...Br(1)#1	0.843(10)	2.438(14)	3.2499(16)	162(3)
N(1)-H(1N)...O(1)	0.891(10)	1.974(19)	2.705(2)	138(2)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 -x+2,-y+2,-z+2



Peak List		
m/z	z	Abund
191.0863	1	16183180.18
191.1964		1201623.09
192.0893	1	2865959.96
369.2022		1031670.31
370.1988	1	4585197.45
371.2022	1	1218153.3
721.3801	1	1896602.87
722.3833	1	927924.51



Masa Exacta: 370.19785

Formula molecular: C₂₄H₂₅BNO₂

Figura A1. Espectroscopía de Masas de **3** y análisis isotópico teórico

Tabla A3. Resultados de la reacción entre **1** y CH₃I a diferentes condiciones, la proporción es correspondiente a R₂:CH₃I, *mw. Fueron reacciones realizadas en un equipo de microondas.

Disolvente / T	Proporción	Resultado
Acetona reflujo	1:3	Negativo
Acetona reflujo	1:10	Negativo
DMF t.a.	1:3	Negativo
DMF reflujo	1:3	Aparición
DMF reflujo	1:10	Aparición
CH ₃ I	exceso	Negativo
Metanol reflujo mw.*	1:10	Negativo
Etanol reflujo mw.*	1:10	Negativo

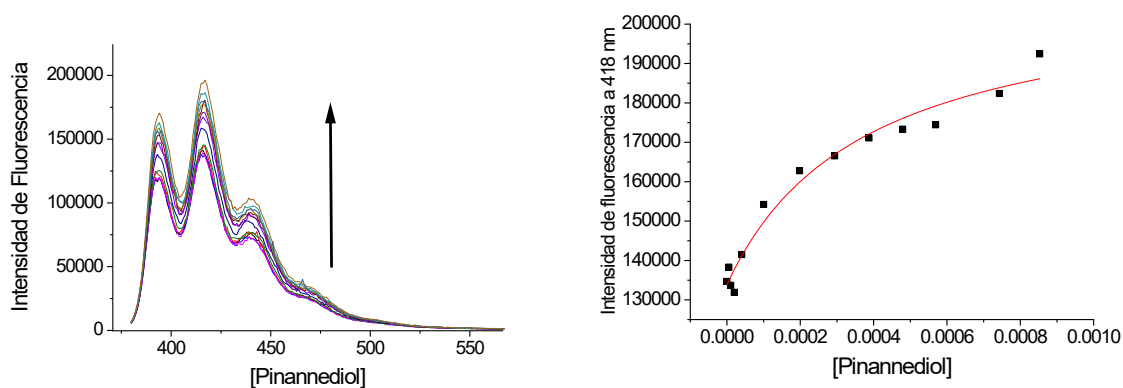


Figura A2. Espectros de emisión de **1** (5 μM) y catecol (5 mM) frente adiciones de Pinannediol en acetonitrilo al 30% en agua con buffer de AcOH/AcONa 50 mM, $\lambda_{\text{excitación}} = 370 \text{ nm}$ y Perfil de la intensidad de fluorescencia vs. [Pinannediol], $\lambda_{\text{emisión}} = 418 \text{ nm}$.

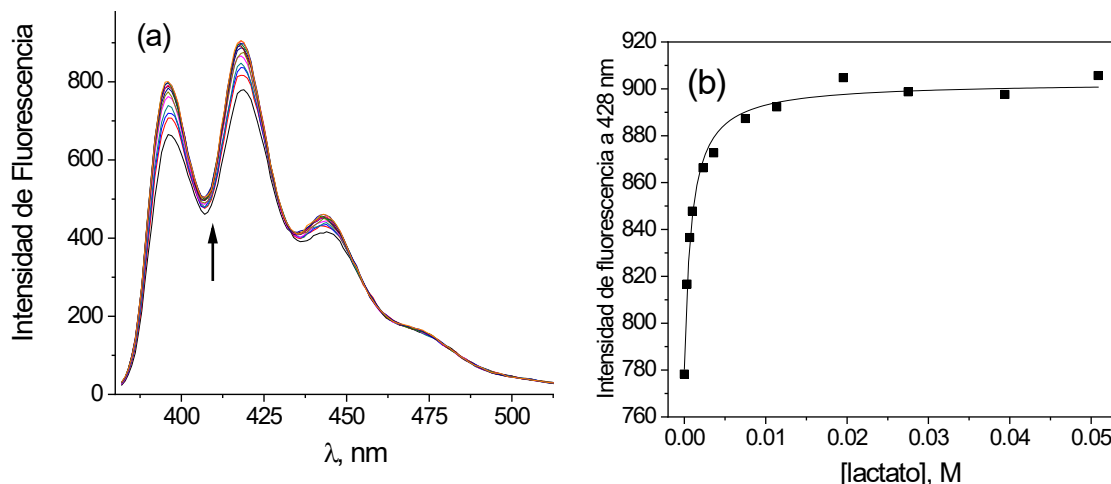


Figura A3. (a) Espectros de emisión de **1** (5 μ M) frente adiciones de Lactato en acetonitrilo al 30% en agua con buffer de AcOH/AcONa 50mM, $\lambda_{excitación} = 370$ nm b) Perfil de la intensidad de fluorescencia vs. [Lactato], $\lambda_{emisión} = 428$ nm.

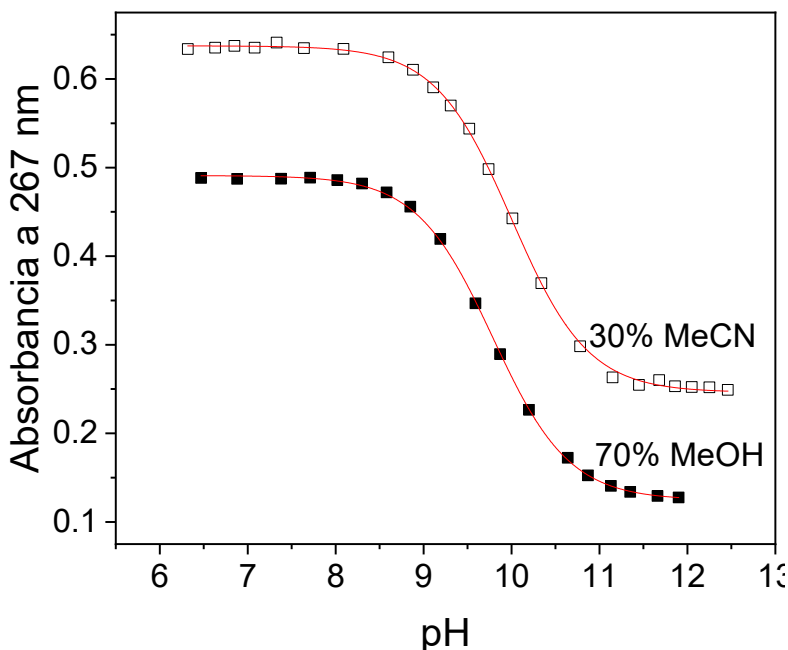


Figura A4 Absorbancia a 267 nm de PBA **1** mM en 70/30 v/v MeOH:agua (cuadros negros) y 30/70 v/v MeCN:agua (cuadros blancos). La escala de pH esta expresada en valores de Σ pH según la mezcla de disolventes utilizados

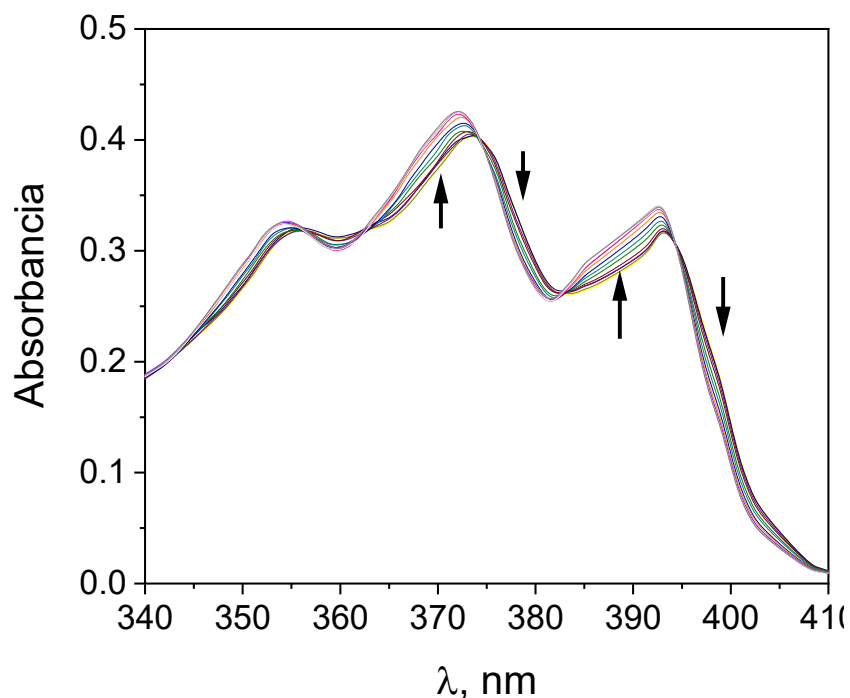


Figura A5 Espectros de absorción de **3** (0.07 mM) a pH variable en un intervalo de 6 a 11 en Lactato en MeOH al 30% en agua. Las flechas marcan la tendencia de los cambios en absorbancia al incrementar el pH.

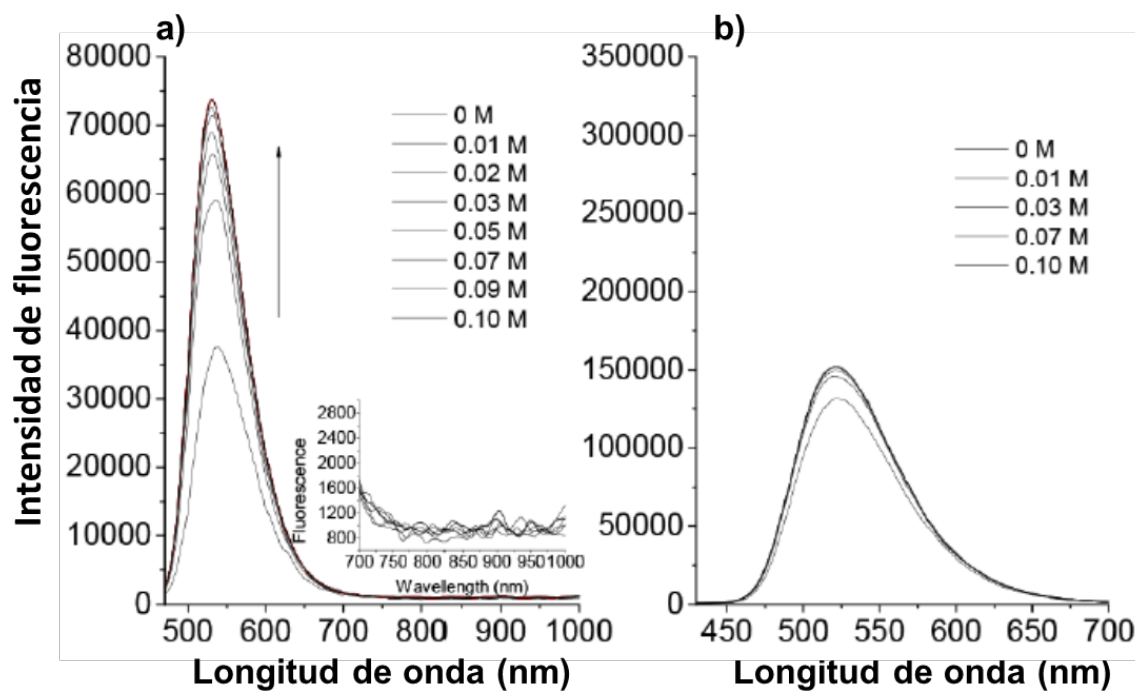


Figura A6 Titulación de fluorescencia para **7** ($4 \mu\text{M}$) con fructosa (0-0,1 M) en agua pura (A) (pH 7,4) y metanol puro (B). La figura insertada en (A) es una ampliación de 700–1000 nm región. $\lambda_{\text{excitación}} = 450 \text{ nm}$

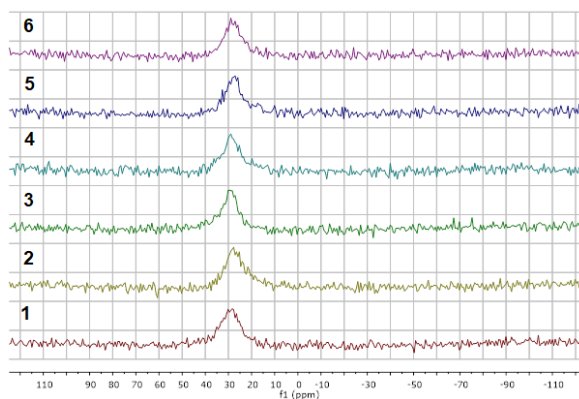


Figura A7. Titulaciones por RMN de ^{11}B NMR de **1** (11.2 mM) en DMSO-d_6 con acetato. Espectros del 1 al 6 fueron tomados en presencia 0, 5, 10, 19, 27 y 35 mM $(\text{Bu}_4\text{N})\text{OAc}$.

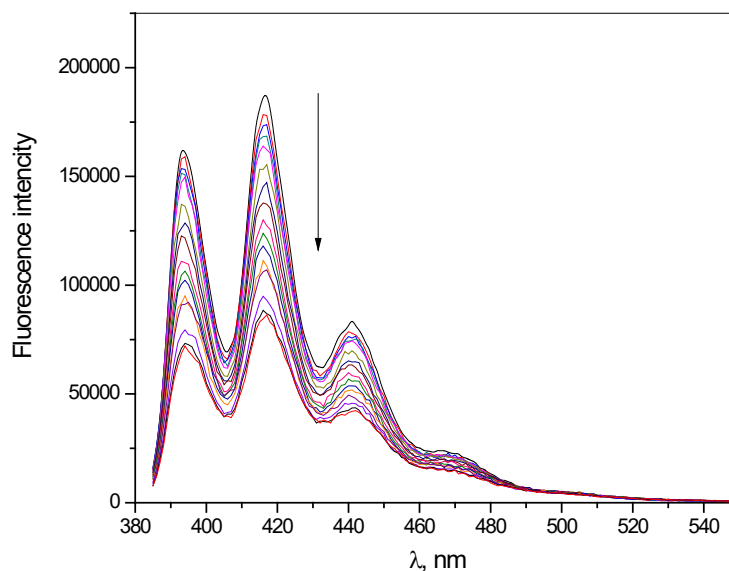


Figura A8. Espectros de fluorescencia obtenidos en la titulación de **1** ($10 \mu\text{M}$) en DMSO con 0.2 – 80 mM de H_2PO_4^- , $\lambda_{\text{excitación}} = 370 \text{ nm}$

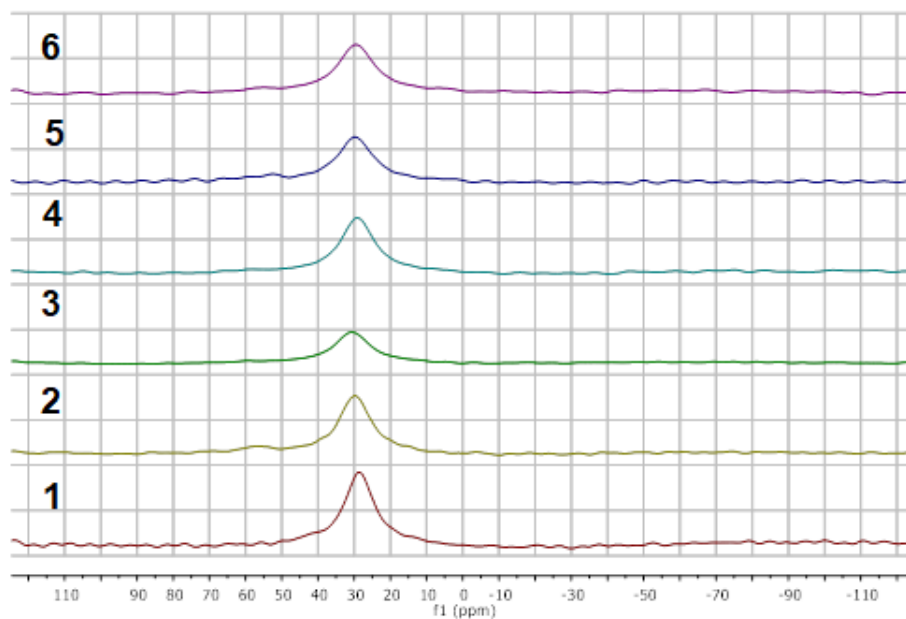


Figura A9. Titulación por RMN de ^{11}B de **1** (19.3 mM) en DMSO-d_6 con dihidrogenfosfato. Los espectros del 1 al 6 fueron obtenidos en presencia de 0, 10.9, 21.1, 40.3, 57.5 y 73.1 mM $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$.

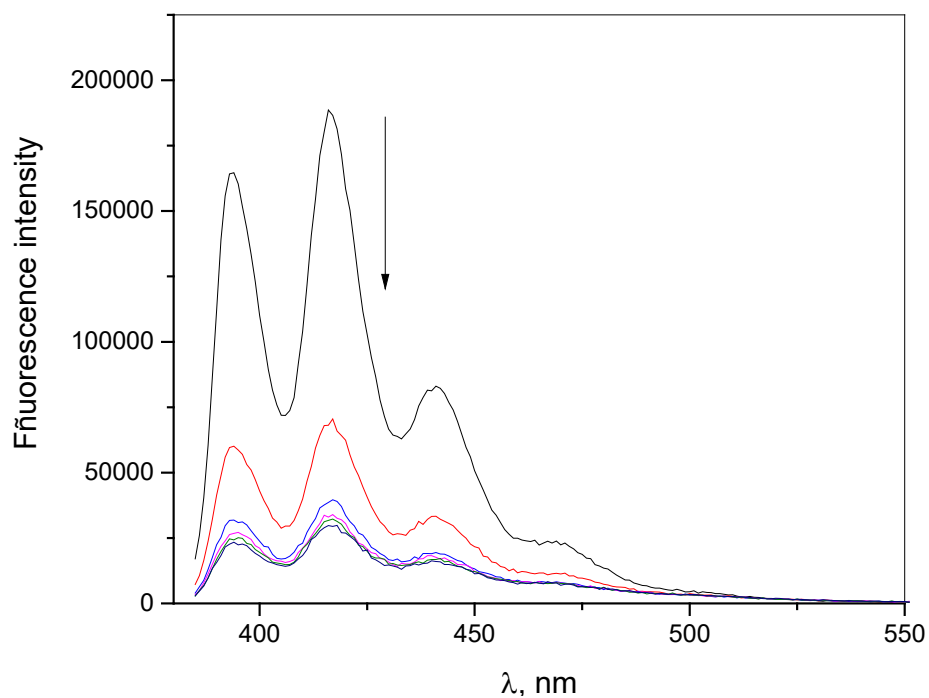


Figura A10. Espectros de fluorescencia obtenidos en la titulación de **1** (10 μM) en DMSO con 0.25 – 1.2 mM de H_2PO_4^- , $\lambda_{\text{excitación}} = 370 \text{ nm}$

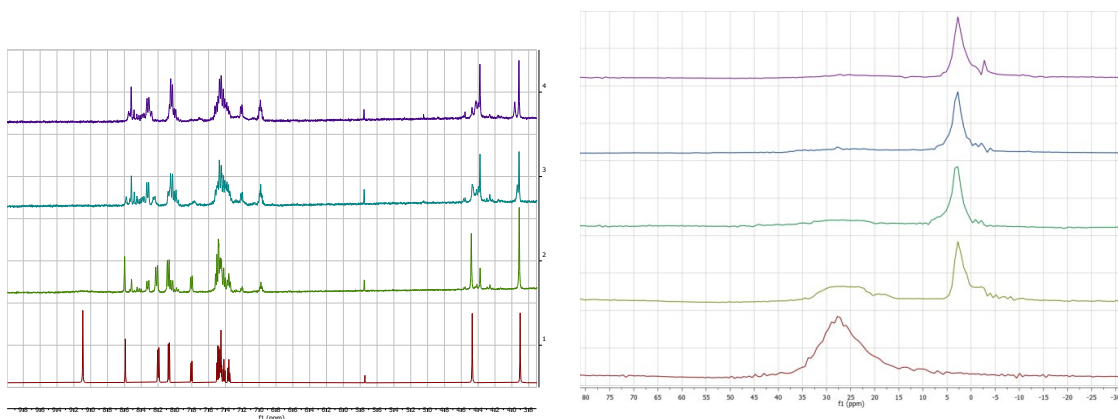


Figura A11. Titulación por RMN de ^1H y ^{11}B de **1** (1.3 mM y 17.1 mM respectivamente) en DMSO-d_6 con fluoruro. Los espectros de abajo a arriba fueron obtenidos en presencia de 0, 0.7; 1.3 and 2 mM de $(\text{Bu}_4\text{N})_2\text{F}$ por RMN ^1H y 0, 8, 15.5, 30, 44 y 57 mM de $(\text{Bu}_4\text{N})_2\text{F}$ por RMN ^{11}B .

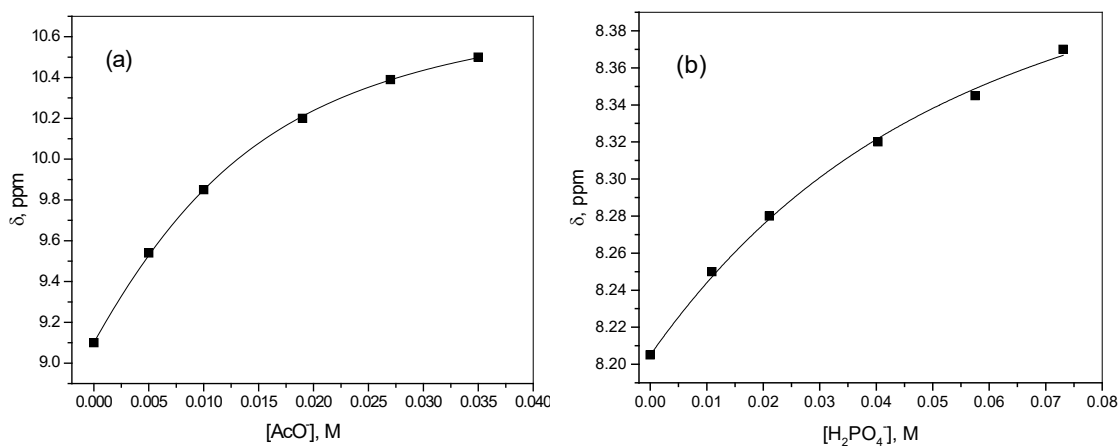


Figura A12. Perfiles de titulaciones por RMN de ^1H y de **1** (a 11.2 mM y b 19.3 mM) en DMSO-d_6 con dihidrogenofosfato. Los desplazamientos químicos corresponden al protón B-OH con acetato, mientras que para dihidrogenofosfato se sigue a los protones aromáticos

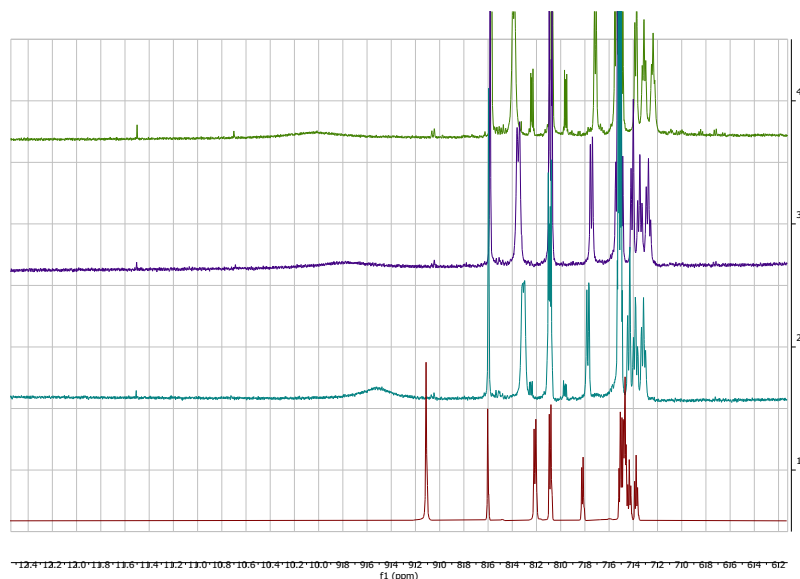
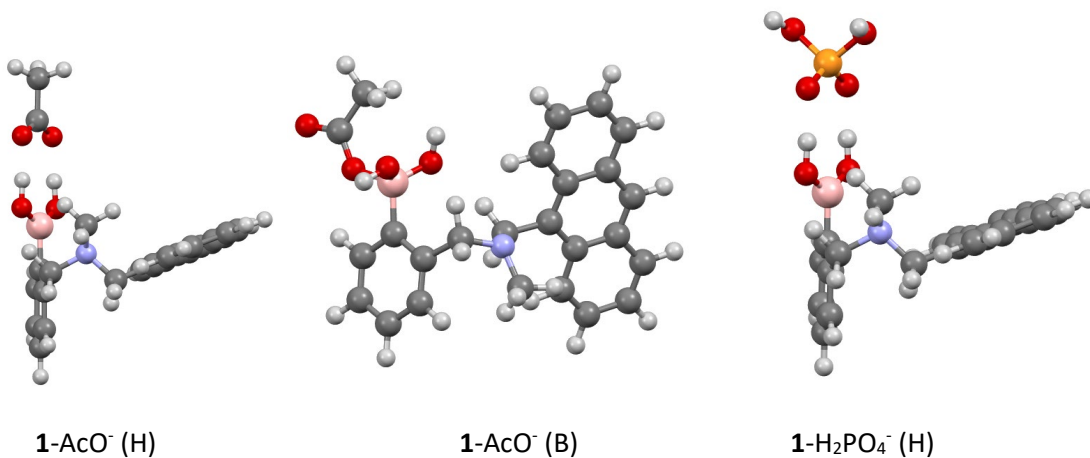


Figura A13. Titulación por RMN de ^1H de **1** (3 mM) en DMSO-d_6 con sulfato. Los espectros de abajo a arriba fueron obtenidos en presencia de 0; 1.5; 3.0 y 4.5 mM de $(\text{Bu}_4\text{N})_2\text{SO}_4$.

Tabla A3. Resultados de las titulaciones por fluorescencia de **1** (0.01 mM) en MeCN.

Anion	K_A, M^{-1}	I_c/I_0
AcO^-	470	0.12
H_2PO_4^-	74	0.25
BzO^-	154	0.39
F^-	3.3×10^4	0.07
HSO_4^-	3.1×10^3	2.27



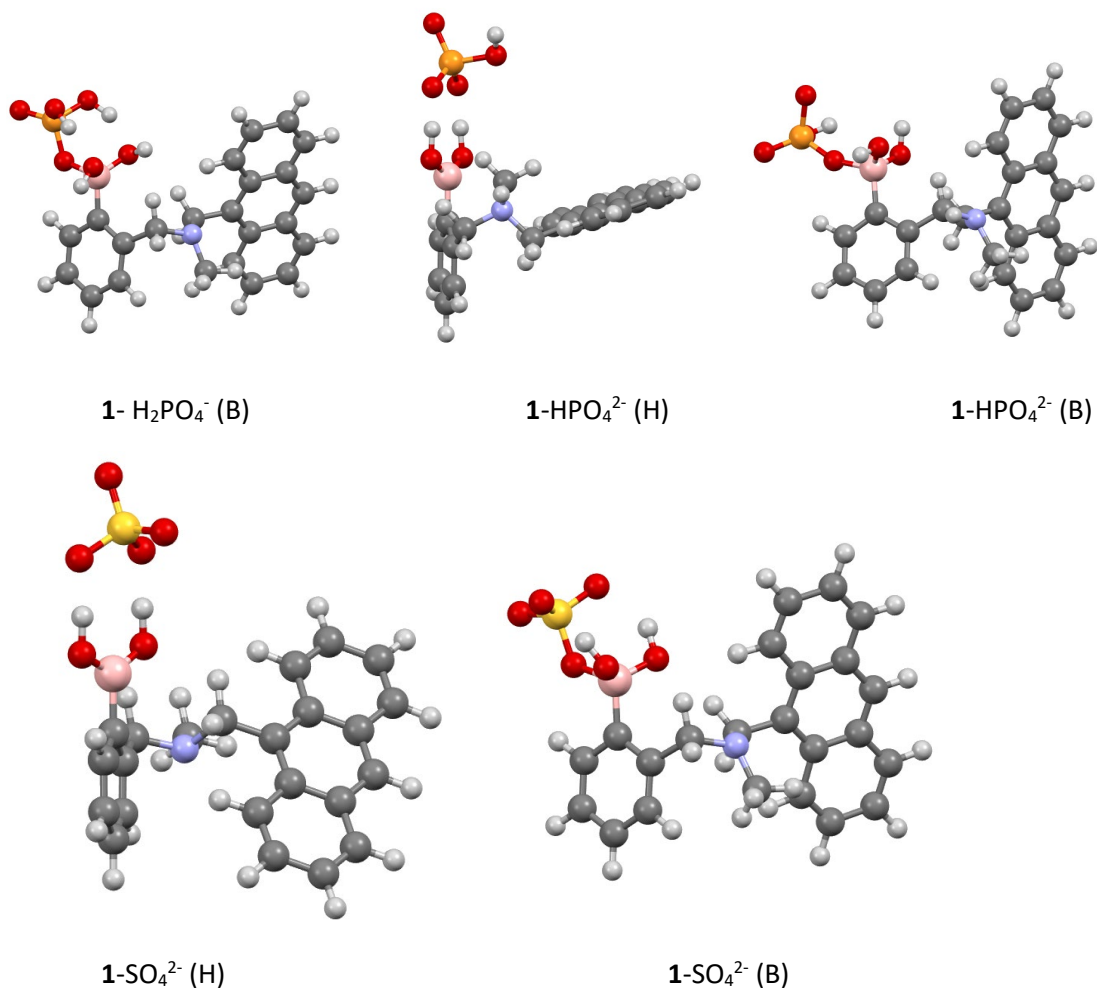


Figura A13. Estructuras calculadas de los complejos de **1** con aniones por enlaces de hidrógeno (H) o coordinándose con el átomo de boro (B)

Tabla A4. Suma de la energía libre electrónica y térmica en Hartree Eh (1 Eh = 627.509 kcal/mol) y el número de frecuencias imaginarias calculadas para las estructuras de la figura A13

Anion	Binding type	Energy	Number of imaginary frequencies
AcO ⁻	B	-1348.08936	0
	H	-1348.11046	0
H ₂ PO ₄ ⁻	B	-1763.27041	0
	H	-1763.27913	0
HPO ₄ ²⁻	B	-1762.792521	0

	H	-1762.795419	0
SO ₄ ²⁻	B	-1818.91203	0
	H	-1818.920523	0

Tabla A5. Coordenadas cartesianas

Complejo 1-AcO⁻ (H):

Atom	X	Y	Z
C	-2.50730	1.71428	-0.31360
C	-1.62313	2.25600	-1.26361
C	-1.35567	3.62127	-1.26827
H	-0.66169	4.02208	-1.99973
C	-1.95240	4.47248	-0.34367
H	-1.73235	5.53307	-0.36118
C	-2.81827	3.95063	0.60548
H	-3.28360	4.60134	1.33616
C	-3.08234	2.58427	0.61514
H	-3.75333	2.18013	1.36520
C	-0.90592	1.34491	-2.23023
H	-1.63351	0.71311	-2.73584
H	-0.38264	1.94179	-2.99331
C	0.32343	-0.71178	-2.34072
H	0.77167	-0.44728	-3.31205
H	-0.60267	-1.25853	-2.52092
H	1.01559	-1.37016	-1.81410
C	1.25179	1.19382	-1.18689
H	0.95391	2.14795	-0.74989
H	1.81212	1.44639	-2.09536
C	2.12556	0.46240	-0.19398
C	1.75345	0.46689	1.16502
C	0.56822	1.12011	1.63471
H	-0.08609	1.61320	0.92874
C	0.23531	1.11728	2.95357

H	-0.66995	1.61540	3.27940
C	1.05622	0.46167	3.91360
H	0.77120	0.47219	4.95810
C	2.18810	-0.17302	3.51403
H	2.82658	-0.67890	4.22917
C	2.57153	-0.19347	2.13772
C	3.73242	-0.84215	1.73080
H	4.35223	-1.34022	2.46870
C	4.11022	-0.86609	0.39431
C	5.30082	-1.54684	-0.00980
H	5.89487	-2.03051	0.75709
C	5.67357	-1.59054	-1.31350
H	6.57543	-2.11004	-1.61186
C	4.86958	-0.95159	-2.29956
H	5.16931	-0.99788	-3.33918
C	3.73375	-0.28909	-1.95490
H	3.14761	0.17543	-2.73412
C	3.29762	-0.20783	-0.59063
N	0.03108	0.46005	-1.53200
O	-3.08087	-0.53321	-1.38257
O	-3.07197	-0.35136	1.00758
B	-2.88612	0.16882	-0.23469
H	-3.33228	-1.49445	-1.24497
H	-3.35024	-1.31379	1.01998
H	-4.82552	-5.20449	1.04164
C	-4.21458	-5.00525	0.16276
H	-4.71106	-5.37019	-0.73452
C	-3.89552	-3.52406	0.04797
O	-3.79539	-2.87463	1.11713
O	-3.72653	-3.05915	-1.10593
H	-3.27323	-5.54900	0.27614

Complejo 1-AcO⁻ (B):

Atom	X	Y	Z
C	2.83776	-1.10526	-0.17384
C	1.92571	-1.63202	-1.11437
C	1.82939	-3.01320	-1.30645
H	1.17285	-3.39685	-2.07905
C	2.57189	-3.90581	-0.54520
H	2.48038	-4.97286	-0.71024
C	3.43684	-3.40912	0.41889
H	4.02333	-4.08731	1.02831
C	3.56868	-2.03398	0.57952
H	4.27706	-1.66082	1.30854
C	1.01409	-0.73592	-1.93760
H	1.34747	0.29490	-1.83468
H	1.08838	-1.00836	-2.99392
C	-1.12984	-1.95213	-2.06280
H	-0.90323	-2.86351	-1.49041
H	-0.89195	-2.13415	-3.11212
H	-2.20570	-1.77704	-1.98401
C	-0.66241	-0.53859	-0.17178
H	0.08411	0.17348	0.17981
H	-0.50848	-1.45141	0.41481
C	-2.04467	0.02767	0.06766
C	-2.27850	1.37581	-0.26868
C	-1.25921	2.20856	-0.83524
H	-0.27649	1.79445	-1.01620
C	-1.50602	3.50864	-1.15044
H	-0.71923	4.11850	-1.57722
C	-2.78887	4.08382	-0.92677
H	-2.96204	5.12104	-1.18505
C	-3.78459	3.33173	-0.39130

H	-4.76737	3.75280	-0.21257
C	-3.56596	1.96185	-0.04843
C	-4.58614	1.18976	0.49835
H	-5.56064	1.63511	0.66818
C	-4.37894	-0.14449	0.82456
C	-5.44058	-0.93128	1.37141
H	-6.39872	-0.45062	1.53290
C	-5.25653	-2.24073	1.67476
H	-6.06626	-2.82988	2.08658
C	-3.98946	-2.84866	1.44505
H	-3.85416	-3.89703	1.68053
C	-2.95278	-2.13317	0.93415
H	-2.00887	-2.63162	0.76797
C	-3.09154	-0.74380	0.60355
N	-0.41438	-0.78066	-1.59256
O	3.61214	1.07902	-1.31801
O	1.97974	1.25502	0.39002
B	3.14408	0.51050	-0.05316
H	4.34428	0.56658	-1.67089
H	2.02721	2.15726	0.05966
H	3.39169	3.22824	1.58336
O	5.76526	1.59390	2.26819
C	4.84377	1.67407	1.47197
C	4.32270	3.02866	1.04943
O	4.27902	0.60334	0.98888
H	4.11864	3.05558	-0.01931
H	5.05013	3.79091	1.31774

Complejo 1-H₂PO₄⁻ (H):

Atom	X	Y	Z
C	-1.66481	2.48449	-0.32873
C	-0.68402	2.80715	-1.28354

C	-0.11524	4.07658	-1.29642
H	0.65042	4.30582	-2.03011
C	-0.50395	5.04612	-0.37743
H	-0.05051	6.02967	-0.40158
C	-1.46449	4.73929	0.57432
H	-1.77113	5.48295	1.30002
C	-2.02875	3.46719	0.59393
H	-2.77227	3.22991	1.34690
C	-0.19573	1.75232	-2.24692
H	-1.04847	1.31165	-2.75959
H	0.45869	2.20823	-3.00576
C	0.49716	-0.54381	-2.34098
H	0.99180	-0.40456	-3.31569
H	-0.53414	-0.85316	-2.51368
H	1.01192	-1.34477	-1.80877
C	1.86314	1.09048	-1.20496
H	1.80670	2.09340	-0.77926
H	2.46663	1.18901	-2.11551
C	2.53665	0.18008	-0.20446
C	2.18936	0.29654	1.15610
C	1.20361	1.22622	1.62061
H	0.68214	1.85279	0.90993
C	0.89270	1.32485	2.94120
H	0.13887	2.03315	3.26343
C	1.53862	0.50435	3.90806
H	1.27492	0.60065	4.95380
C	2.47748	-0.39364	3.51344
H	2.97986	-1.02883	4.23395
C	2.83060	-0.52879	2.13557
C	3.79331	-1.44831	1.73340
H	4.27999	-2.07089	2.47654
C	4.13954	-1.58631	0.39522

C	5.12190	-2.54556	-0.00371
H	5.58771	-3.14751	0.76805
C	5.45778	-2.70153	-1.30881
H	6.20085	-3.43174	-1.60352
C	4.82424	-1.90134	-2.30146
H	5.09106	-2.03811	-3.34211
C	3.89046	-0.97355	-1.96209
H	3.42699	-0.39355	-2.74676
C	3.50322	-0.76455	-0.59648
N	0.49999	0.67136	-1.54290
O	-2.74902	0.44259	-1.39159
O	-2.64417	0.60133	1.01032
B	-2.37843	1.06451	-0.23977
H	-3.18901	-0.44015	-1.30292
H	-3.14461	-0.25051	1.08195
H	-6.20179	-3.03510	-0.76036
O	-5.88286	-2.76966	0.11150
P	-4.30023	-2.46997	0.09318
O	-4.00008	-1.67106	1.31052
O	-3.91750	-1.95257	-1.25710
O	-3.63304	-3.92318	0.29311
H	-3.44408	-4.34012	-0.55678

Complejo 1-H₂PO₄⁻ (B):

Atom	X	Y	Z
C	-2.34077	1.49995	-0.35003
C	-1.34308	1.92392	-1.25257
C	-1.08729	3.28794	-1.42199
H	-0.36706	3.60321	-2.16771
C	-1.74976	4.24985	-0.67315
H	-1.53281	5.30097	-0.82116
C	-2.69783	3.84668	0.25605

H	-3.22424	4.58108	0.85452
C	-2.99037	2.49540	0.39217
H	-3.76114	2.19704	1.09170
C	-0.50114	0.94769	-2.06066
H	-0.94005	-0.04895	-2.00668
H	-0.50903	1.24550	-3.11216
C	1.75562	1.94124	-2.06341
H	1.60361	2.84650	-1.45865
H	1.57170	2.18864	-3.10994
H	2.80391	1.65118	-1.96151
C	1.07495	0.50991	-0.25175
H	0.29267	-0.19500	0.03005
H	0.91153	1.39295	0.37557
C	2.42297	-0.11224	0.03842
C	2.65068	-1.43876	-0.37685
C	1.67051	-2.19459	-1.09821
H	0.73476	-1.72610	-1.37042
C	1.90643	-3.47971	-1.47603
H	1.14946	-4.02830	-2.02278
C	3.14170	-4.11611	-1.16751
H	3.30720	-5.14036	-1.47717
C	4.10371	-3.43549	-0.49316
H	5.05213	-3.90186	-0.25230
C	3.89441	-2.08340	-0.08106
C	4.88163	-1.38528	0.60671
H	5.82232	-1.87551	0.83375
C	4.68526	-0.06807	1.00174
C	5.71690	0.64351	1.69005
H	6.64209	0.11949	1.90103
C	5.54556	1.93649	2.06339
H	6.33255	2.46910	2.58230
C	4.32243	2.60177	1.76599

H	4.19800	3.63732	2.05745
C	3.31331	1.95714	1.12241
H	2.40388	2.49980	0.90937
C	3.43972	0.58789	0.71275
N	0.90833	0.83064	-1.66721
O	-3.35834	-0.55712	-1.52938
O	-1.88558	-1.04297	0.25925
B	-2.86042	-0.04623	-0.23072
H	-3.68670	0.15514	-2.08642
H	-1.51229	-1.52671	-0.48486
O	-3.99954	-0.05842	0.77636
H	-4.57971	-1.63613	-0.93030
O	-5.14321	-2.03140	-0.22052
P	-4.75358	-1.36142	1.16751
O	-5.91097	-1.20835	2.05367
O	-3.64786	-2.30007	1.81812
H	-2.79453	-2.07905	1.37787

Complejo 1-HPO₄²⁻ (H):

Atom	X	Y	Z
C	-1.88867	2.37046	-0.32783
C	-0.91255	2.71890	-1.27962
C	-0.38208	4.00546	-1.30145
H	0.37850	4.25224	-2.03523
C	-0.80307	4.97119	-0.39261
H	-0.38031	5.96824	-0.42347
C	-1.75834	4.64151	0.55728
H	-2.09116	5.38136	1.27574
C	-2.28360	3.35240	0.58349
H	-3.02230	3.09684	1.33556
C	-0.38726	1.67306	-2.23359
H	-1.22821	1.17575	-2.71193

H	0.22667	2.14730	-3.01555
C	0.42550	-0.58518	-2.29826
H	0.88913	-0.44136	-3.28794
H	-0.59178	-0.95263	-2.43718
H	0.99597	-1.34539	-1.76246
C	1.72450	1.14014	-1.22082
H	1.62233	2.14544	-0.80859
H	2.30764	1.25537	-2.14287
C	2.45988	0.28364	-0.21620
C	2.10505	0.38601	1.14326
C	1.05486	1.24709	1.59782
H	0.49124	1.82737	0.88007
C	0.73290	1.33184	2.91661
H	-0.07152	1.98563	3.23172
C	1.43305	0.56631	3.89094
H	1.15918	0.65001	4.93517
C	2.43539	-0.26471	3.50554
H	2.97932	-0.85731	4.23217
C	2.80099	-0.38461	2.12947
C	3.82665	-1.23690	1.73488
H	4.35622	-1.81708	2.48303
C	4.18054	-1.36259	0.39740
C	5.22731	-2.25422	0.00543
H	5.73663	-2.81308	0.78215
C	5.56955	-2.40099	-1.29914
H	6.36172	-3.08012	-1.58807
C	4.87699	-1.66053	-2.29871
H	5.14805	-1.79208	-3.33893
C	3.88181	-0.79622	-1.96603
H	3.37422	-0.26056	-2.75494
C	3.48685	-0.59745	-0.60123
N	0.38097	0.64495	-1.52603

O	-2.89028	0.27906	-1.38103
O	-2.83751	0.46996	1.01797
B	-2.56886	0.92033	-0.23246
H	-3.30626	-0.67056	-1.29125
H	-3.33895	-0.43275	1.07149
O	-5.28054	-3.66853	0.07211
P	-4.12250	-2.71144	0.07357
O	-4.09047	-1.70990	1.22267
O	-3.87884	-2.02646	-1.27411
O	-2.76920	-3.63080	0.35610
H	-2.84416	-4.44150	-0.15716

Complejo 1-HPO₄²⁻ (B):

Atom	X	Y	Z
C	-2.34742	1.54770	-0.31876
C	-1.34212	2.01525	-1.19060
C	-1.08201	3.38494	-1.30036
H	-0.35460	3.73185	-2.02562
C	-1.75112	4.31561	-0.51640
H	-1.53260	5.37237	-0.61587
C	-2.70840	3.87076	0.38472
H	-3.24027	4.57946	1.00983
C	-3.00091	2.51313	0.45877
H	-3.77911	2.17740	1.13410
C	-0.50595	1.06219	-2.02933
H	-0.95920	0.07235	-1.99144
H	-0.51349	1.38618	-3.07369
C	1.76452	2.03011	-2.03442
H	1.62338	2.93354	-1.42351
H	1.58294	2.28710	-3.07926
H	2.81070	1.72972	-1.93561
C	1.07552	0.59691	-0.22987

H	0.25377	-0.05773	0.06380
H	0.97721	1.49076	0.39629
C	2.39053	-0.10221	0.03647
C	2.52804	-1.44216	-0.37641
C	1.48405	-2.13885	-1.06678
H	0.56889	-1.61587	-1.30700
C	1.63178	-3.43648	-1.44670
H	0.82780	-3.94012	-1.96904
C	2.83484	-4.14530	-1.16989
H	2.92986	-5.17836	-1.48009
C	3.85417	-3.52292	-0.52377
H	4.77875	-4.04545	-0.30647
C	3.73807	-2.15976	-0.11129
C	4.78360	-1.52025	0.54682
H	5.69925	-2.06497	0.75083
C	4.67659	-0.19248	0.94076
C	5.76703	0.45864	1.59793
H	6.66463	-0.11899	1.78701
C	5.68368	1.76088	1.96894
H	6.51502	2.24700	2.46380
C	4.49491	2.49759	1.70107
H	4.44039	3.53965	1.99081
C	3.43229	1.91224	1.08781
H	2.55094	2.50676	0.89655
C	3.46537	0.53658	0.68108
N	0.90652	0.92699	-1.64365
O	-3.25562	-0.46571	-1.59281
O	-1.80531	-0.94671	0.28704
B	-2.86730	-0.01774	-0.25868
H	-3.92067	-1.15942	-1.43701
H	-1.58936	-1.55784	-0.42390
O	-4.02393	-0.06739	0.68467

O	-5.00823	-2.19284	-0.24154
P	-4.76975	-1.42774	1.03507
O	-5.92900	-1.17512	1.93496
O	-3.63033	-2.20151	1.90543
H	-2.78024	-1.95787	1.48758

Complejo 1-SO₄²⁻ (H):

Atom	X	Y	Z
C	-1.72909	2.33831	0.41815
C	-0.61677	2.36392	1.27316
C	0.20580	3.49346	1.31278
H	1.05468	3.49709	1.98885
C	-0.03488	4.59192	0.50467
H	0.62018	5.45398	0.54685
C	-1.12975	4.57945	-0.35340
H	-1.33442	5.43143	-0.99074
C	-1.96284	3.47200	-0.37665
H	-2.82585	3.47108	-1.03233
C	-0.24702	1.22773	2.20150
H	-0.13413	1.63481	3.20952
H	-1.04104	0.47400	2.22954
C	1.52128	-0.19856	2.94757
H	0.82193	-1.01351	3.19461
H	1.65128	0.42179	3.83533
H	2.48585	-0.64151	2.69712
C	0.92213	-0.16664	0.61554
H	0.38532	0.43678	-0.11714
H	0.28865	-1.04290	0.78237
C	2.26731	-0.55799	0.04679
C	3.02782	0.41690	-0.62879
C	2.57340	1.76533	-0.79154
H	1.61882	2.05790	-0.37827

C	3.32352	2.69075	-1.44785
H	2.95442	3.70362	-1.55529
C	4.59047	2.34678	-1.99808
H	5.17073	3.09923	-2.51729
C	5.06084	1.07935	-1.87108
H	6.02160	0.79657	-2.28585
C	4.30286	0.07940	-1.18706
C	4.78529	-1.21850	-1.05907
H	5.74980	-1.47427	-1.48460
C	4.05340	-2.19277	-0.39176
C	4.56794	-3.52013	-0.25829
H	5.53247	-3.73829	-0.70232
C	3.87249	-4.47654	0.40663
H	4.26934	-5.47914	0.50462
C	2.61058	-4.15911	0.98423
H	2.06460	-4.92606	1.51953
C	2.08422	-2.91057	0.87365
H	1.12694	-2.70900	1.33142
C	2.77514	-1.86448	0.17613
N	1.04190	0.62236	1.84692
O	-2.33158	-0.14971	0.40353
O	-4.02606	1.47747	-0.09398
B	-2.75983	1.12709	0.24944
H	-3.03029	-0.86826	0.24997
H	-4.67251	0.71338	-0.23588
O	-4.90217	-1.84490	-2.18333
O	-5.75848	-0.40782	-0.42771
S	-5.26594	-1.78332	-0.76009
O	-4.05030	-2.03706	0.07984
O	-6.30170	-2.76769	-0.42679

Complejo 1-SO₄²⁻ (B):

Atom	X	Y	Z
C	-2.29409	1.56806	-0.23813
C	-1.29097	2.06096	-1.09738
C	-1.02710	3.43203	-1.16232
H	-0.29864	3.80185	-1.87519
C	-1.69588	4.33663	-0.34728
H	-1.47652	5.39593	-0.41129
C	-2.65362	3.86391	0.53924
H	-3.18413	4.55308	1.18686
C	-2.94732	2.50451	0.57261
H	-3.72305	2.15168	1.24256
C	-0.47100	1.11943	-1.96362
H	-0.93352	0.13375	-1.93584
H	-0.47874	1.46655	-3.00054
C	1.81101	2.05274	-1.98145
H	1.68435	2.95823	-1.37003
H	1.62572	2.31168	-3.02522
H	2.85455	1.74139	-1.88991
C	1.11361	0.62439	-0.17132
H	0.27000	0.00189	0.12779
H	1.06304	1.52301	0.45436
C	2.40518	-0.12612	0.06907
C	2.46446	-1.48479	-0.30121
C	1.34283	-2.16825	-0.87524
H	0.40735	-1.64027	-1.01018
C	1.42645	-3.47905	-1.23045
H	0.56442	-3.97634	-1.65816
C	2.63136	-4.21369	-1.04316
H	2.67347	-5.25563	-1.33513
C	3.71582	-3.60796	-0.49466
H	4.63995	-4.15256	-0.33790

C	3.66973	-2.23326	-0.10731
C	4.77947	-1.61265	0.45775
H	5.69104	-2.18136	0.60769
C	4.74075	-0.27469	0.82903
C	5.89146	0.35355	1.40046
H	6.78073	-0.24920	1.54531
C	5.87324	1.66498	1.74754
H	6.74930	2.13293	2.17876
C	4.69357	2.43507	1.53965
H	4.68996	3.48342	1.81128
C	3.57699	1.87318	1.00559
H	2.70391	2.49185	0.85819
C	3.53988	0.48907	0.62876
N	0.94179	0.96052	-1.58523
O	-3.33606	-0.29137	-1.59069
O	-1.70490	-0.89905	0.13818
B	-2.78724	0.00069	-0.26410
H	-4.11476	-0.85281	-1.48324
H	-2.11811	-1.69749	0.49406
O	-3.92124	-0.11903	0.77842
O	-5.46805	-1.66158	-0.28044
S	-4.74097	-1.42718	0.97173
O	-5.62365	-1.16682	2.09472
O	-3.77689	-2.49992	1.23958

Complejo 1-HOx⁻ (7¹):

Atom	X	Y	Z
C	-3.11112	0.86731	-0.26905
C	-2.22138	1.51019	-1.15333
C	-2.21771	2.90440	-1.24386
H	-1.57768	3.38831	-1.97178

C	-3.03437	3.68427	-0.43662
H	-3.01405	4.76392	-0.52409
C	-3.88064	3.06618	0.47267
H	-4.52210	3.65962	1.11343
C	-3.92001	1.67887	0.53616
H	-4.61146	1.20837	1.22509
C	-1.24164	0.72758	-2.01467
H	-1.49170	-0.33306	-1.97200
H	-1.33589	1.04592	-3.05598
C	0.80275	2.10606	-2.05465
H	0.51841	2.95768	-1.42042
H	0.53934	2.33923	-3.08737
H	1.88874	2.00302	-1.99599
C	0.44524	0.54070	-0.25875
H	-0.20354	-0.28549	0.02825
H	0.17345	1.37761	0.39415
C	1.88415	0.12947	-0.03803
C	2.28463	-1.15098	-0.46773
C	1.38277	-2.05968	-1.11134
H	0.35762	-1.76095	-1.28312
C	1.79236	-3.29308	-1.51290
H	1.09095	-3.96282	-1.99505
C	3.13445	-3.72059	-1.30767
H	3.43744	-4.70698	-1.63586
C	4.02368	-2.89246	-0.70192
H	5.04936	-3.20104	-0.53534
C	3.63278	-1.58907	-0.26604
C	4.54406	-0.74047	0.35422
H	5.56437	-1.07465	0.50906
C	4.17066	0.53016	0.77320
C	5.12168	1.39749	1.39606
H	6.13020	1.02698	1.53984

C	4.77441	2.64803	1.79112
H	5.50100	3.29937	2.26034
C	3.44432	3.11152	1.58274
H	3.17796	4.11461	1.89212
C	2.50876	2.31495	1.00131
H	1.51232	2.70541	0.85493
C	2.82131	0.98186	0.57276
N	0.17738	0.85626	-1.66091
O	-3.86509	-1.25451	-1.48851
B	-3.34769	-0.73972	-0.26220
H	-4.12171	-0.55290	-2.09102
O	-4.26653	-1.12452	0.89852
O	-4.12424	-2.34129	2.77693
C	-3.66515	-1.89326	1.75833
C	-2.23210	-2.15268	1.24460
O	-2.09719	-1.53273	0.10627
O	-1.40066	-2.81545	1.80785



Cite this: *New J. Chem.*, 2021, **45**, 15618

Anion recognition by anthracene appended *ortho*-aminomethylphenylboronic acid: a new PET-based sensing mechanism†

Luis Ramón Ortega-Valdovinos,^a Josue Valdes-García,^b Iván J. Bazany-Rodríguez,^b José Carlos Lugo-González,^a Alejandro Dorazco-González^b and Anatoly K. Yatsimirsky^{a*}

Interactions of anthracene appended *ortho*-aminomethylphenylboronic acid **1** with 20 organic and inorganic anions have been studied by fluorescence, ¹H and ¹¹B NMR titrations in DMSO. Carboxylate, phosphate and sulphate anions form hydrogen bonded complexes with the B(OH)₂ group producing a strong turn-off fluorescence response attributed to the enhanced photoinduced electron transfer (PET) resulting from the removal of the intramolecular hydrogen bond between boronic acid and the amino groups of **1**. The preferable hydrogen bonding interaction of **1** with a dihydrogen phosphate anion, which typically coordinates directly to the B(III) atom, is confirmed by DFT structural optimization. The logarithms of the binding constants for the majority of anions correlate linearly with the pK_a of their conjugate acids, but sulfate and hydrogen oxalate show strong positive deviations. Anomalously strong binding of hydrogen oxalate is attributed to the formation of the covalent cyclic ester. In the series of monoanions of dicarboxylic acids HOOC–R–COO[−], the monoanion of malonic acid induces a strong opposite turn-on effect, demonstrating the ability of **1** to act as a ditopic receptor through the simultaneous binding of basic and acid groups of the guest to the boronic acid and amino groups of the receptor, respectively. The results of this study demonstrate the possibility of successful manipulation of the efficiency of PET produced by the anthracene attached aminomethyl group by the guest hydrogen bonding in addition to well-known protonation and metal coordination effects.

Received 1st June 2021,
Accepted 22nd July 2021

DOI: 10.1039/d1nj02684d

rsc.li/njc

1. Introduction

Boronic acids are often used as components of anion sensors.¹ The most successful receptors have been developed for fluoride, which demonstrates high affinity to the B(III) center even in protic solvents,² but the recognition of other anions also attracts attention. Recently pyrenylboronic acid derivatives were employed for the construction of a chemosensory array for fluorescence detection of a large set of anions of different types (carboxylates, phosphates, and fluoride) in DMSO solution.³ Added anions produced non-specific small scale fluorescence quenching or enhancement effects, which were analyzed by a pattern recognition approach, and were attributed to not entirely explicable changes in the photoinduced electron transfer in the

presence of bound anions. This study demonstrated the generally weak optical response of fluorescent boronic acids to direct binding of anions. Thus, the future development of anion sensors on the basis of boronic acids depends on the discovery of a specific signaling mechanism for anion sensing by boronic acids with a significant complexation induced optical response.

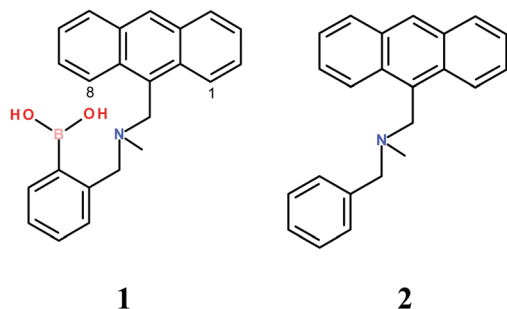
The possible signaling mechanism depends on the type of the boronic acid–anion interaction. It has been shown that boronic acids recognize anions in aprotic solvents either as Lewis acids through direct coordination of an anion to the B(III) center or as proton donors through the hydrogen bonding of an anion with the B(OH)₂ group.⁴ The former mode is observed with fluoride and phosphate anions and the latter is characteristic for carboxylate and halide anions.⁴ The hydrogen bonding mode was exploited in the design of several recently reported anion receptors⁵ and it was a subject of in-depth theoretical investigation,⁶ but until now it was not associated with any type of specific signaling mechanism. In this paper we explore the possibility of using some structural features of a popular receptor **1**^{7,8} to achieve the fluorescence signaling of anions *via* hydrogen bonding to a boronic acid. A model receptor **2**⁹ lacking

^a Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D. F., Mexico. E-mail: iatsimirski46@comunidad.unam.mx

^b Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria México, 04510, CDMX, Mexico

† Electronic supplementary information (ESI) available. CCDC 2043138 and 2043139. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/d1nj02684d

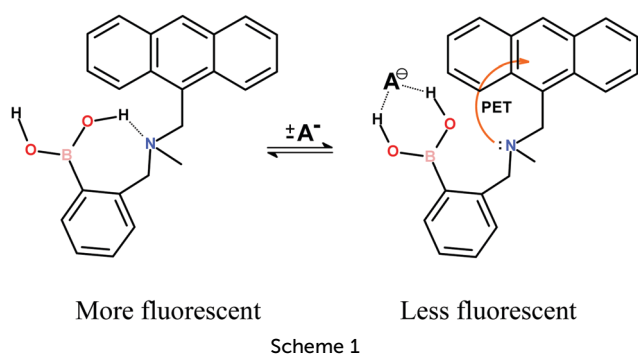
the boronic acid group was also prepared for comparative studies.



Analogs of **1** were used previously as fluoride sensors in aqueous methanol¹⁰ or MeCN/MeOH mixed solvent¹¹ through the mechanism in which the anionic Lewis type fluoride adduct to boronic acid was stabilized by the hydrogen bonding from the protonated amino group. Here we attempt to use another type of co-operation between boronic acid and amino groups in **1**. The aminomethyl group attached to anthracene is known to quench its fluorescence by the photoinduced electron transfer (PET) mechanism,^{12–14} but the amino group in **1** is hydrogen bonded to the B(OH)₂ group,¹⁵ as shown in Scheme 1, and this should reduce the extent of PET allowing increased fluorescence of the receptor. However, the hydrogen bonding of an anion to boronic acid should remove the intramolecular H-bond generating the PET-induced turn-off fluorescence signal as illustrated in Scheme 1.

The intramolecular hydrogen bonding was established in the crystal structure of **1**,¹⁵ but there is convincing evidence, discussed below, that it persists also in DMSO solution. As will be demonstrated in this study, the sensing mechanism outlined in Scheme 1 successfully operates with sensitivity of anion detection by **1** similar to that reported for fluorophores with attached classical hydrogen bonding anion recognition sites such as (thio)ureas.¹⁶ Incidentally, the sensing mechanism of ureido substituted receptors is also the anion enhanced PET-induced turn-off effect, but created in a different way (see Conclusions).

The recognition properties of **1** were tested for a large set of mono- and dianions of variable structures shown in Chart 1. It was demonstrated also that the anion recognition by **1** may



Scheme 1

proceed by several different modes besides the hydrogen binding mechanism outlined in Scheme 1. In particular, **1** may act as a ditopic receptor toward monoanions of dicarboxylic acids producing turn-on instead of turn-off effect. Also, anions capable of forming covalent boronate esters, like e.g., oxalate, induce turn-off fluorescence signals, but show much higher affinity to the receptor than would be expected on the basis of their basicity.

2. Experimental section

2.1 General experimental methods

Commercially available reagents employed for the synthesis of ligands, tetrabutylammonium salts of anions and reagent grade solvents were used as supplied. The receptor (2-(((anthracen-9-ylmethyl)(methyl)amino)methyl)phenyl)boronic acid **1** and a model compound lacking the boronic acid group **2** (1-(anthracen-9-yl)-N-benzyl-N-methylmethanamine) were synthesized as previously reported (see the ESI[†] for details) and characterized by single crystal X-ray diffraction (ESI[†] Table S1). All spectroscopic titrations were performed with completely equilibrated solutions incubated at 25 °C for at least 30 min before starting the titration experiment and making at least 3 min intervals between additions of a titrant aliquots to the mixtures of **1** and the respective anion.

2.2 Fluorescence titrations

Fluorescence titrations were performed at 25 °C with a 1×10^{-5} M solution of **1**, adding tetrabutylammonium salts as aliquots of a stock solution prepared in the presence of **1** in order to keep constant the concentration of the receptor during the titration. The observed equilibrium constants of the complex formation (K_{obs}) were calculated from the fluorescence intensity (I) vs. concentration of an anion guest (G) profiles at several wavelengths by nonlinear least squares fitting to eqn (1), and the results were averaged. In eqn (1), subscript T stands for the total concentration, I_0 is the initial fluorescence intensity of the boronic acid **1** measured in the absence of G , and I_C is the fluorescence intensity of the boronic acid–guest complex. Eqn (1) is valid under conditions of high excess of the guest over the boronic acid receptor fulfilled in all titration experiments.

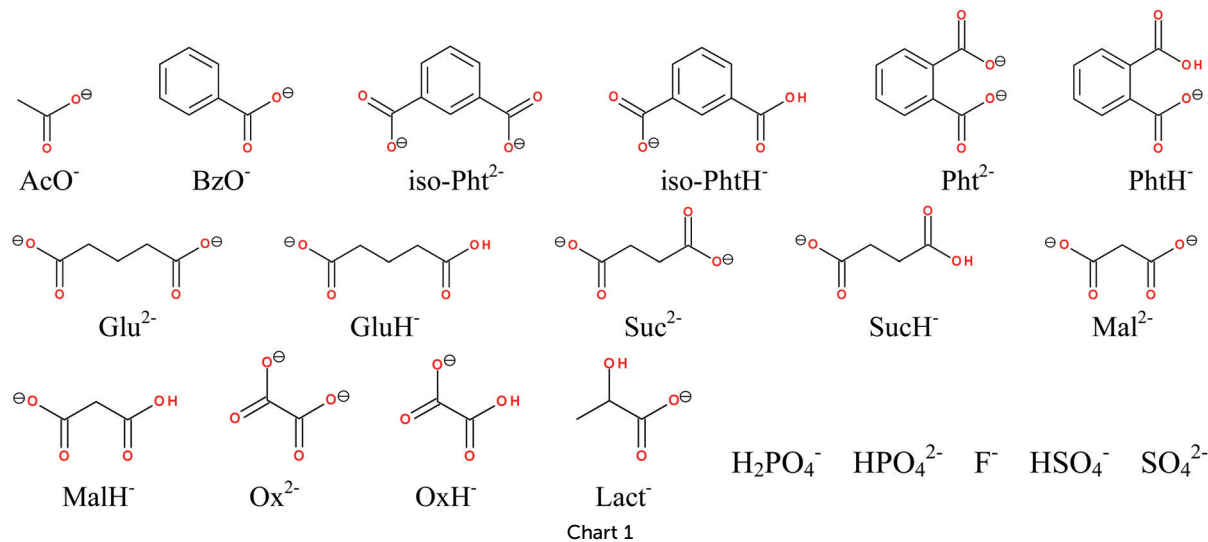
$$I = (I_0 + I_C K_{\text{obs}}[G]_T) / (1 + K_{\text{obs}}[G]_T) \quad (1)$$

2.3 ¹¹B NMR measurements

¹¹B NMR spectra were recorded in quartz tubes at 128.3 MHz with Et₂O·BF₃ in CDCl₃ as the external standard. Spectra were obtained using a 4.9 μs and 90° pulse, 50 ms FID acquisition time, and 0 s acquisition delay. The sweep width was set to 87.2 ppm. Two thousand scans were taken for each sample. A solution of **1** was prepared in DMSO-*d*₆ and mixed with tetrabutylammonium salt solution in the same solvent to obtain 5–10 mM total boronic acid in the final solution.

2.4 Calculation method

Structural optimization was performed at the DFT level using a dispersion corrected B97D3 functional¹⁷ and 6-311+G(d,p)



basis set as is implemented in Gaussian 09.¹⁸ At the same time, frequency calculations were performed and no imaginary frequencies were detected in all cases. The calculations were performed in DMSO with the Polarizable Continuum Model (PCM) method of solvation.¹⁹

2.5 Crystallographic investigations

Crystals of compounds **1**·HBr and **2** suitable for X-ray diffraction were grown by slow evaporation from acetonitrile solutions. The relevant details of the crystals, data collection and structure refinement can be found in Table S1 (ESI[†]). Data for **1**·HBr and **2** were collected on a Bruker APEX II CCD Diffractometer at 100 K, using Mo-K α radiation ($k = 0.71073 \text{ \AA}$) and Cu-K α radiation ($k = 1.54178 \text{ \AA}$) for **1**·HBr and **2**, respectively, from an Incoatec ImuS source and Helios optic monochromator.²⁰ 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 methods²¹ and refined by full-matrix least-squares on F^2 using the shelXle GUI.²² The hydrogen atoms of the C–H bonds were placed in idealized positions, for the O–H and N–H moieties, the hydrogen atoms were found in the map of residual density, and their positions were fixed using a standard distance (DFIX instruction) with $U_{\text{iso}} = aU_{\text{eq}}$ (where a is 1.5 for –CH₃, –OH and –NH moieties and 1.2 for others). Crystallographic data for the two crystal

structures have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre, no. CCDC 2043138 and 2043139.[†]

3. Results and discussion

3.1. Structures of receptors

The structure of the neutral compound **1** crystallized from dichloromethane, methanol or acetonitrile was reported previously.¹⁵ The most essential feature for the present study, observed in crystals grown from all three solvents, is the presence of an intramolecular hydrogen bond between the BOH group and the bridging nitrogen, Fig. 1a.

In our case the receptor **1** was crystallized as a hydrobromide **1**·HBr, Fig. 1b. Interestingly, the bromide anion is hydrogen bonded to the neutral BOH group rather than to the cationic NH⁺ ammonium group, as one would expect from electrostatic consideration. The mutual arrangement of boronic acid and amino groups is similar in both structures with a NH⁺···OH hydrogen bond in **1**·HBr substituting the BOH···N hydrogen bond in neutral **1** with the hydrogen bond in **1** ($\angle(\text{DHA}) 157(2)^\circ$) more ideal than that in **1**·HBr ($138(2)^\circ$). Both hydrogen bonds have similar O–N distances (Fig. 1), but the N–H distance in **1** (1.775 Å) is much longer than that in **1**·HBr (0.893 Å). Thus, the hydrogen bonded to the boronic acid amino group in **1** is far from being protonated, but the N–H distance in **1** is

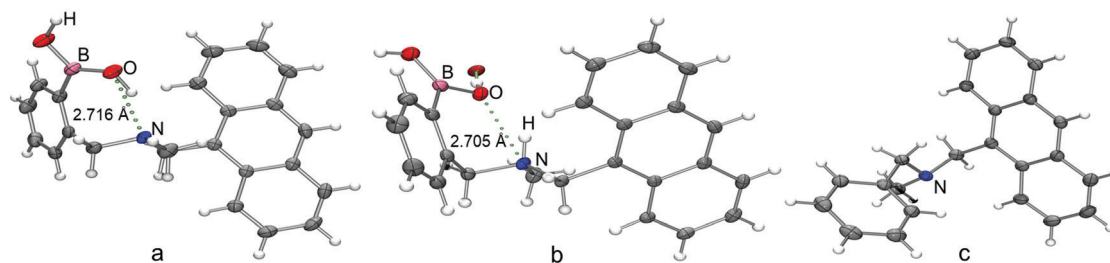


Fig. 1 (a) The structure of neutral **1**, (crystals grown from MeCN).^{15a} (b) The crystal structure of **1**·HBr. (c) The crystal structure of **2**. Non-H atoms are represented by 50% probability ellipsoids and H atoms are shown as small circles of arbitrary size.

noticeably shorter than the N–H distances in *e.g.*, amine hydrates observed in the range 1.9–2.1 Å.²³ As will be demonstrated below, the hydrogen bonding of this type provides sufficient decrease in the energy of the nitrogen lone electron pair to reduce noticeably the PET effect observed in the model compound **2**.

The structure of the compound **2** (Fig. 1c) was not reported previously. In comparison with **1**, the benzylic group of **2** is turned closer to the anthracene group (the distances between the centroids of the aromatic rings are 5.867 Å in **2**, but 6.407 Å in **1** and 6.359 Å in **1**·HBr), but still too far to expect any intramolecular interaction.

3.2. Recognition of simple mono- and dianions and the sensing mechanism

The results of fluorescence titration of **1** by acetate (Fig. 2a) demonstrate the expected quenching effect of the anion. For comparison the titration by acetate was performed also with a model compound **2** lacking the boronic acid group (Fig. 2b). Note, **2** was used previously as a reference compound for the receptor **1** to prove its self-aggregation in aqueous media,^{8,15a} but this should not be a problem in DMSO. Thick red and black lines in Fig. 2b show the emission spectra of free **1** and **2** respectively. A more than three-fold increase in the fluorescence intensity induced by the presence of the boronic acid group in **1** can be attributed to the reduced PET due to the hydrogen bonding of the amino group. Additions of acetate to **1** quench the fluorescence approximately to the level observed for **2**, which can be explained by restoration of PET in accordance with Scheme 1. Additions of acetate to **2** induce an increase in the fluorescence intensity at higher anion concentrations, most probably due to salt-induced aggregation of **2**. These observations prove the involvement of boronic acid in the quenching effect of acetate and agree with the sensing mechanism of Scheme 1.

The interaction of acetate with **1** was also followed by ¹H and ¹¹B NMR spectroscopy. Fig. 3a illustrates the results of ¹H NMR titration. The signal of B(OH)₂ protons in the free receptor is

observed at 9.09 ppm shifted by 1 ppm downfield in comparison with its position at 8.04 ppm in the free phenylboronic acid (PBA) in the same solvent.⁴ This shift confirms the involvement of B(OH)₂ protons in the intramolecular hydrogen bonding even in a polar solvent such as DMSO. Additions of acetate induce strong characteristics for hydrogen bonding downfield shifts of B–OH signals and small upfield shifts of the majority of aromatic signals, which can be attributed to an inductive shielding effect of the bound anion.^{24,25} At the same time, the doublet at 8.22 ppm belonging to H¹(H⁸) anthracene protons undergoes a small downfield shift usually attributed to a through-space hydrogen bonding interaction with anions.²⁵ The ¹¹B NMR signal of **1** is observed at 29.38 ppm and remains unchanged on addition of acetate (Fig. S1, ESI[†]). This observation confirms that boron conserves its trigonal structure and that hydrogen bonding of acetate to the B(OH)₂ group is the only mode of anion complexation with **1**.

To get a deeper insight into the structure of the acetate complex, theoretical calculations at the DFT/B97D3/6-311+G(d,p) level of theory were carried out. The simulated structure **3** of the complex is shown in Fig. 4. It demonstrates bidentate cyclic structure of the hydrogen bonded complex with nearly coplanar COO[−] and B(OH)₂ groups and short hydrogen bonds with O···O distances of 2.62–2.63 Å in agreement with the experimentally established structure of the PBA–benzoate anion complex with O···O distances 2.68 and 2.72 Å.²⁶ The anthracene H¹(H⁸) proton is too far from the bound acetate for any detectable through-space interaction, but it is close to the nitrogen of the amino group at the distance of 2.72 Å, slightly shorter than the sum of van der Waals radii of N and H atoms. This close CH···N contact probably is the reason for the observed downfield shift of the signal of the anthracene H¹(H⁸) proton in the presence of acetate.

The interaction of **1** with H₂PO₄[−] is characterized by similar spectroscopic changes both in fluorescence (Fig. S2, ESI[†]) and ¹H NMR (Fig. 3b) titrations. The only difference in the case of ¹H NMR is that the signal of the B–OH proton disappears already after the first addition of the anion apparently as a

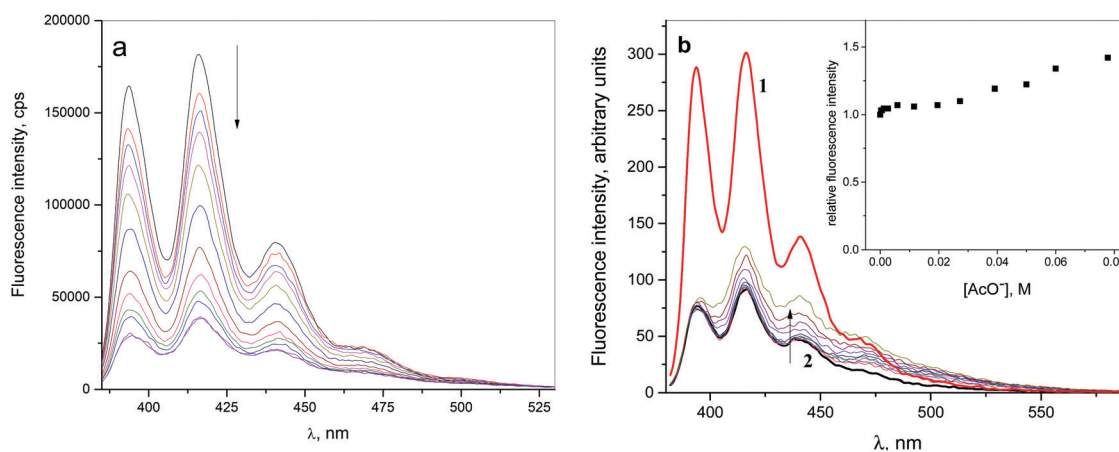


Fig. 2 (a) The course of the fluorescence titration of 10 μM **1** in DMSO by 0–0.08 M acetate, excitation wavelength 370 nm. (b) Emission spectra of 10 μM **1** and **2** in DMSO (thick lines) and spectra of **2** in the presence of increasing concentration of acetate. The inset shows the relative emission intensity at 416 nm as a profile vs. acetate concentration. The arrows show the direction of the spectral changes on increase in acetate concentration.

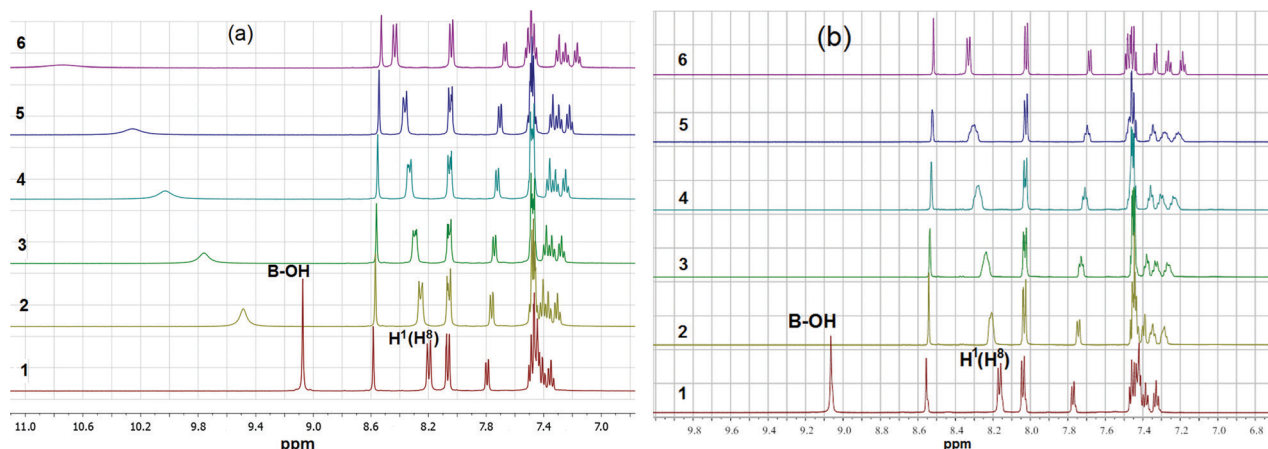


Fig. 3 ^1H NMR titration of **1** in DMSO-d_6 by acetate (a) and dihydrogen phosphate (b); (a) 11.2 mM **1**, spectra 1 to 6 are recorded in the presence of 0, 5, 10, 19, 27 and 35 mM $(\text{Bu}_4\text{N})\text{OAc}$; (b) 19.3 mM **1**, spectra 1 to 6 are recorded in the presence of 0, 10.9, 21.1, 40.3, 57.5 and 73.1 mM $(\text{Bu}_4\text{N})\text{H}_2\text{PO}_4$.

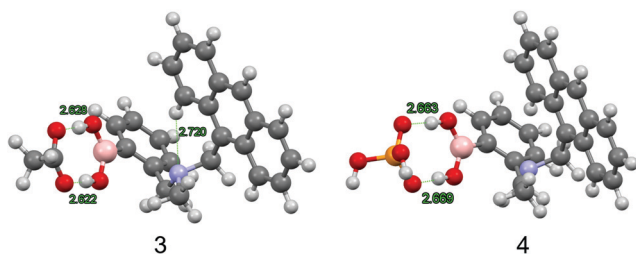


Fig. 4 DFT simulated structures of the acetate (**3**) and dihydrogen phosphate (**4**) complexes of **1**.

result of even stronger broadening than in the case of acetate (*cf.* Fig. 3a and b). Also, like in the case of acetate, there is no shift of the signal in the ^{11}B NMR spectrum of **1** in the presence of dihydrogen phosphate (Fig. S3, ESI †). All these observations agree with the hydrogen bonding association of **1** with H_2PO_4^- .

Previously it was established that PBA binds a dihydrogen phosphate anion, in contrast to acetate, as a Lewis acid through the coordination to the boron atom.^{4,5d} This type of interaction was confirmed also by theoretical calculations.⁶ In the case of **1**, however, both anions prefer the hydrogen bonding interaction. The possibility of hydrogen bonding interaction of boronic acids with phosphate anions recently was demonstrated as a synthon motif $-\text{B}(\text{OH})_2 \cdots \text{O}(\text{O})\text{P}=\text{}$ in crystal structures of several organic phosphate salts of quinolineboronic acids with the average $\text{O} \cdots \text{O}$ distance between hydrogen bonded atoms of 2.74 Å.²⁷ The DFT calculations confirm the stability of the hydrogen bonded complex between **1** and H_2PO_4^- with $\text{O} \cdots \text{O}$ distance 2.67 Å, the structure **4** in Fig. 4. At the same time, the energy minimization of a Lewis acid type complex with H_2PO_4^- , Fig. S10, ESI † showed a higher energy of this complex (Table S4, ESI †). Since **1** has in its structure a voluminous *ortho*-substituent, the reason for decreased stability of the Lewis acid complex most probably is the steric effect. It is well known that incorporation of just a small methyl group in the *ortho*-position of PBA increases its $\text{p}K_{\text{a}}$ from 8.86 to 9.74,²⁸ which means a

decrease in affinity of the hydroxide anion to the boronic acid by nearly one order of magnitude. At the same time, the respective Brønsted type complex is free from the steric effect.

The fluoride anion induces a strong quenching effect, which “saturates” below 1 mM of the anion (Fig. S4, ESI †). The results of ^1H NMR titration by fluoride indicate formation of a complex mixture of products, which may result from a complexation-induced aggregation of **1**, Fig. S5a, ESI † . Formation of oligomeric species on interaction of a fluoride anion with PBA in DMSO was reported previously.⁴ The respective ^{11}B NMR data, Fig. S5b (ESI †), show the appearance of an unresolved signal at 2.5 ppm, which belongs to a tetrahedral Lewis type adduct with fluoride, but does not show expected doublet multiplicity, most probably because of overlapping of differently shifted signals of aggregated forms. The fluorescence titration was performed at much higher dilution of **1** and should not be complicated by the aggregation process, but the Lewis type binding of F^- to **1**, inferred from the ^{11}B NMR data, must be valid also in dilute solution. The quenching effect of F^- can be attributed to a weakening or even disruption of the intramolecular $\text{BOH} \cdots \text{N}$ bond in **1** as a result of conversion of the neutral $\text{B}(\text{OH})_2$ group into the anionic $\text{B}(\text{OH})_2\text{F}^-$ group with concomitant decrease in the positive charge on the protons of OH groups.

To characterize the interactions of anions with **1** quantitatively, the respective association constants K_{A} (M^{-1}) for the complex formation were calculated from the results of fluorescence titrations by fitting to eqn (1). The fitting curves for monocarboxylate and inorganic anions are illustrated in Fig. 5. The calculated binding constants and quenching effects at “saturation” I_{C}/I_0 are summarized in Table 1.

For AcO^- and H_2PO_4^- anions the association constants were determined also from the ^1H NMR results (Fig. S6, ESI †). The calculated K_{A} value of $130 \pm 10 \text{ M}^{-1}$ for AcO^- is in good agreement with the constant determined from the fluorescence titration (Table 1, entry 1), but $K_{\text{A}} = 22 \pm 4 \text{ M}^{-1}$ for H_2PO_4^- is significantly lower than that from the fluorescence titration (Table 1, entry 3). This discrepancy most probably is a result of a significant autoassociation of the dihydrogen phosphate

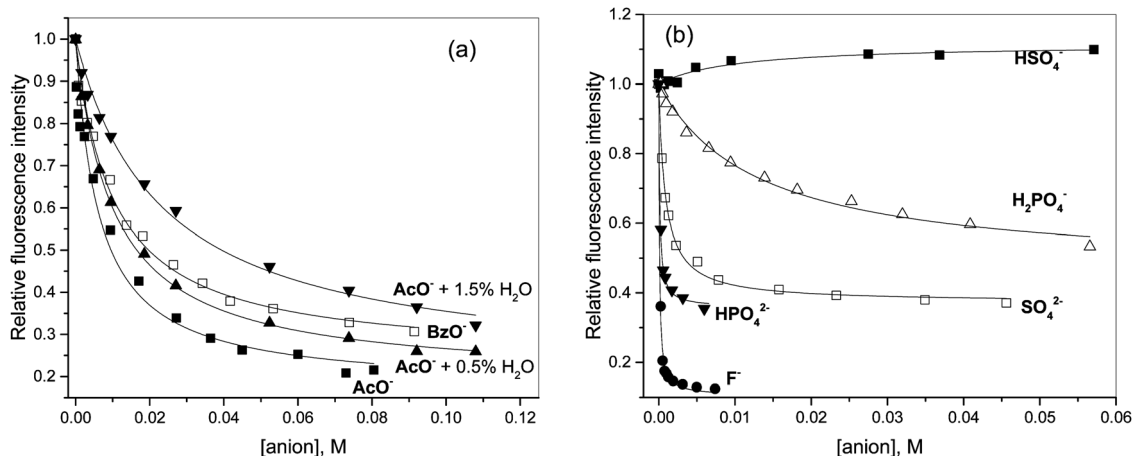


Fig. 5 Fluorescence titrations of **1** by anions of monocarboxylic acids (a) and by inorganic anions (b) in DMSO. Emission at 416 nm, excitation at 370 nm.

Table 1 Stability constants K_A (M^{-1}) of anion complexes of **1** in DMSO, complexation induced effects at saturation (I_C/I_0) and pK_a of conjugated acids for anions

Anion	K_A	I_C/I_0	pK_a in water	pK_a in DMSO	
1	AcO ⁻	150	0.14	4.76	12.3
2	BzO ⁻	80	0.23	4.2	11.1
3	H ₂ PO ₄ ⁻	60	0.12	2.12	10.8
4	HPO ₄ ²⁻	8000	0.36	7.2	
5	F ⁻	1.1×10^4	0.095	3.17	15
6	HSO ₄ ⁻	90	1.12		
7	SO ₄ ²⁻	1150	0.37	2.0	9.1
8	iso-Pht ²⁻	145	0.32	4.6	
9	iso-PhtH ⁻	50	0.77	3.7	
10	Pht ²⁻	600	0.21	5.43	
11	PhtH ⁻	— ^a		2.94	
12	Glu ²⁻	630	0.44	5.42	
13	GluH ⁻	100	0.62	4.32	
14	Suc ²⁻	640	0.34	5.64	
15	SucH ⁻	140	0.76	4.21	
16	Mal ²⁻	740	0.23	5.70	
17	MalH ⁻	15.4	3.38	2.95	
18	Ox ²⁻	990	0.26	4.27	
19	OxH ⁻	700	0.34	1.25	
20	Lact ⁻	460	0.50	3.70	
21	AcO ^{-b}	94	0.18		
22	AcO ^{-c}	36	0.18		

^a No interaction. ^b 0.5% H₂O. ^c 1.5% H₂O.

anion in DMSO,²⁹ which may affect differently the titration profiles obtained by different techniques.

Usually, the stability of hydrogen bonded complexes is very sensitive to the solvent polarity. For instance, stability constants of anion complexes with NH proton donors such as ureas or amides increase approximately 100-fold in less polar MeCN as compared to DMSO.^{24,30} However, **1** shows relatively little sensitivity to the solvent polarity: the stability constants for acetate, benzoate and dihydrogen phosphate measured in MeCN are equal to 470, 154 and 74 M^{-1} respectively (Table S3, ESI[†]), being only 2–3 times larger than in DMSO. Also, the binding constants for acetate show a relatively modest decrease in the presence of added water (see Fig. 5a and entries 21, 22 in Table 1). This relatively small effect of the solvent polarity can

be explained in terms of Scheme 1 by approximately equal solvent effects on intra- and intermolecular hydrogen bonding in the free receptor and in its anion complex, respectively.

The complexation of **1** with benzoate is weaker than that with acetate (Fig. 5a and Table 1, entry 2), as it is typically observed for hydrogen bonding receptors.³¹ Testing of interactions with inorganic anions shows that HSO₄⁻ induces a very small and opposite to the other anions turn-on effect with the association constant larger than for much more basic benzoate (Fig. 5b and Table 1, entry 6). This can be explained by ditopic binding of this anion involving simultaneous hydrogen bonding to the boronic acid group by proton accepting and to the amino group by proton donation. Such a binding mode induces a much more pronounced effect with the monoanion of malonic acid (see below). Dianion SO₄²⁻ behaves as a very strong hydrogen bond acceptor (Fig. 5b and Table 1, entry 7). Phosphate dianion HPO₄²⁻ also strongly surpasses the affinity of the respective monoanion H₂PO₄⁻ (Fig. 5b and Table 1, entries 3 and 4). Results for these dianions will be discussed later in the context of general trends in stability of the anionic complexes of **1**.

3.3. Recognition of mono- and dianions of dicarboxylic acids and general trends in the stability of anionic complexes of **1**

Results with simple monoanions confirm the proposed sensing mechanism (Scheme 1), but the binding constants with acetate and dihydrogen phosphate to **1** are significantly smaller than the binding constants of the same anions to PBA.⁴ Although this result can be seen as a drawback, it indirectly supports Scheme 1 because the hydrogen bonding of the boronic acid group to the anion indeed should be hampered by the intramolecular bonding of the boronic acid to the amino group.

In a further study of anion recognition properties of **1** we tested interactions of the receptor with mono- and di-anions of dicarboxylic acids. Molecular recognition of dicarboxylates is a subject of significant current interest.³² With receptor **1** one may expect stronger binding of dianions as compared to monocarboxylates due to their higher basicity, but more interesting is the possibility of the selective complexation of

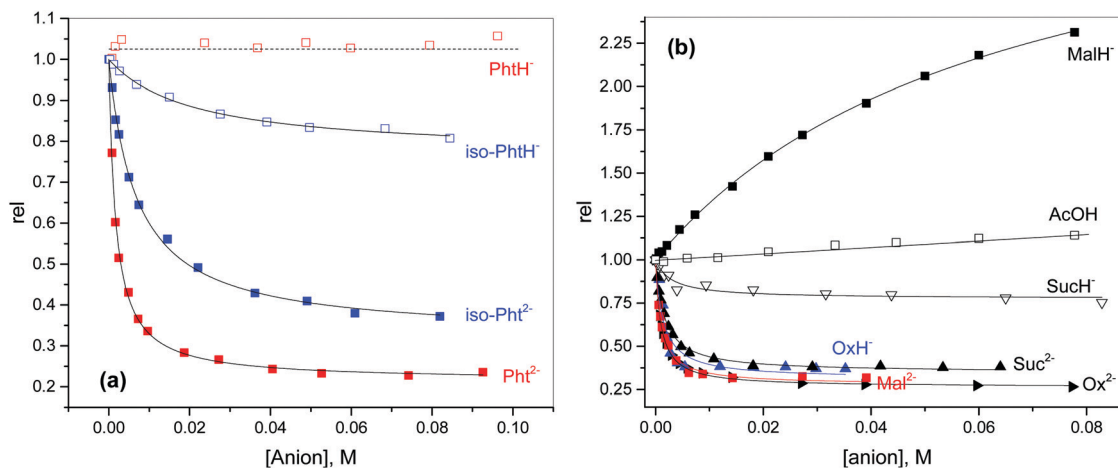


Fig. 6 Fluorescence titration profiles for mono- and dianions of (a) aromatic and (b) aliphatic dicarboxylic acids in DMSO.

mono-anions of dicarboxylic acids *via* simultaneous ditopic binding of COO⁻ and COOH groups to the boronic acid and amino group of **1** respectively. Fig. 6a and b show the titration profiles of **1** by mono- and dianions of several dicarboxylic acids. The respective association constants are collected in Table 1 and are presented as the Brønsted plot of logK_A vs. pK_a of the conjugated acid of the anion in Fig. 7a. Fig. 7b illustrates the size of complexation-induced change in the fluorescence intensity by different anions calculated as (I_C - I₀)/I₀.

In line with the hydrogen bonding mechanism of anion recognition, the association constants for the majority of anions follow the Brønsted correlation shown as the solid line in Fig. 7a with parameters given in eqn (2).

$$\log K_A = -(0.7 \pm 0.1) + (0.62 \pm 0.03)pK_a \text{ (adj. } R\text{-square} = 0.98488) \quad (2)$$

The absence of complexation with hydrogen phthalate (Fig. 7a and Table 1, entry 11) can be attributed to the strong intramolecular hydrogen bonding between adjacent COOH and

COO⁻ groups, which prevents the hydrogen bonding of the latter to boronic acid. Other anions demonstrating significant deviations from the Brønsted plot are H₂PO₄⁻, SO₄²⁻, lactate and both mono- and dianions of oxalic acid. Analyzing these deviations, one must consider the fact that the correlation is based on pK_a values determined in water. Unfortunately, pK_a values in DMSO are available for only a few anions among those used in this study. The available values are collected in Table 1 and the correlation with them, shown as the inset in Fig. 7a, demonstrates that in this scale H₂PO₄⁻ appears on the same line as carboxylates, but the anomalously tight binding of SO₄²⁻ cannot be explained by this effect. There is a possibility of a different binding mechanism for sulfate, which can act as a Lewis base binding directly to the B(III) center, but the RMN titration (Fig. S7, ESI[†]) confirms the hydrogen bonding for this anion.

The tight binding of a sulfate dianion by cationic hydrogen bonding receptors is well documented,³³ but with neutral hydrogen bond donors the high negative charge -2 of sulfate should be irrelevant and such receptors may bind much

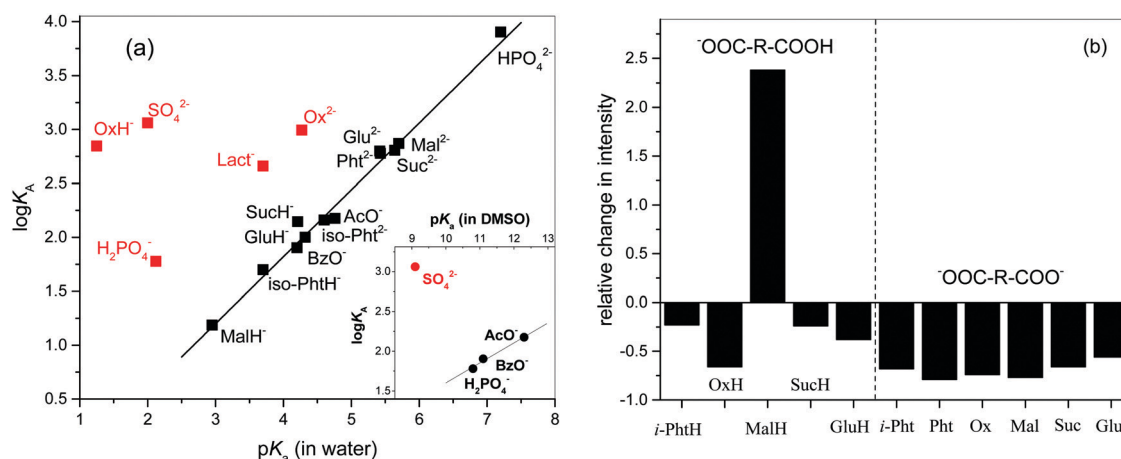
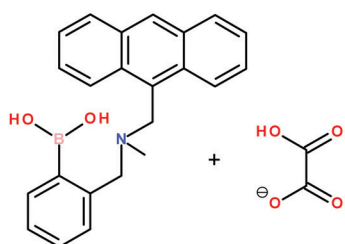
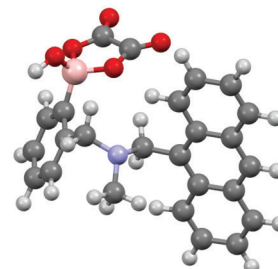
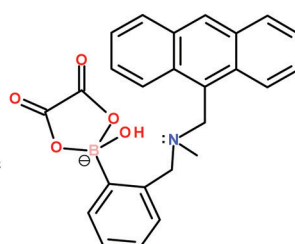


Fig. 7 (a) Brønsted correlations for stability constants. Inset shows the plot vs. pK_a values in DMSO. (b) The relative change in fluorescence of **1** in the presence of mono- and dianions of dicarboxylic acids.

stronger more basic, although less charged acetate.³⁴ It seems, however, that bidentate hydrogen donors, including the boronic acid, often prefer sulfate over acetate. Thus, *N,N'*-diethylurea binds sulfate in DMSO with an association constant $K = 1405 \text{ M}^{-1}$,³⁵ but for binding of acetate to *N,N'*-diethylurea $K = 45 \text{ M}^{-1}$ in the same solvent.³⁶ Also, *N,N'*-diethyl-2,6-pyridinedicarboxamide binds sulfate with $K = 744 \text{ M}^{-1}$,³⁵ but for acetate binding to more acidic *N,N'*-diphenyl-2,6-pyridinedicarboxamide $K = 33 \text{ M}^{-1}$.^{5b} A probable reason for this effect is a better complementarity of these bidentate proton donors to tetrahedral sulfate than to trigonal acetate. The simulated structure of the sulfate complex **5** indeed shows the perfect match of O–O distances in the boronic acid group and the anion, while in the acetate this distance is noticeably shorter (2.232 Å). Also, the O–H···O distance between oxygen



case of **1** has the structure **7**. The ester **7** still contains the B–OH fragment, but it belongs to a negatively charged group and hardly can form a hydrogen bond to nitrogen. The DFT simulated structure of **7** (**7'**) confirms the absence of the intramolecular hydrogen bonding, which explains the turn-off signal for OxH^- (Fig. 6b). The association constant corresponding to the equilibrium (3) for OxH^- and PBA in water equals 35.5 M^{-1} .³⁸ The strongly increased value in DMSO (Table 1, entry 19) is an expected result of a very low water content in the organic solvent. A similar covalent binding mode is observed for lactate with a smaller $K_A = 18.6 \text{ M}^{-1}$ for PBA in water.³⁸ Titration of **1** by lactate in DMSO also gives a smaller K_A value, which however is much larger than expected from the basicity of this anion (Table 1, entry 20, and Fig. 7a) in agreement with a similar binding mode of both anions.

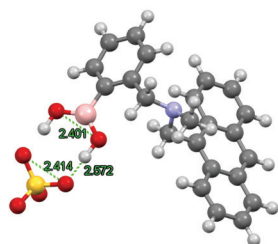


7

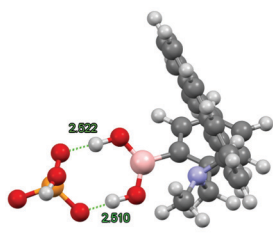
7'

atoms is shorter in the sulfate complex (*cf.* structure **3** and **5**) in agreement with its higher stability. Finally, the calculated structure of the possible Lewis acid type complex (Fig. S10, ESI†) has a higher energy (Table S5, ESI†) additionally confirming the preferable hydrogen bonding type of the interaction.

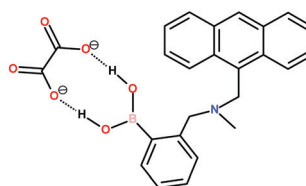
The dianion Ox^{2-} cannot form the ester **7** because this would require obviously unfavorable release of the hydroxide anion. Therefore Ox^{2-} should form a hydrogen bonded complex of the type shown in Fig. 3a for acetate. A possible reason of the positive deviation of the point for this anion from the Brønsted plot in Fig. 7a is its potential ability to form two types of hydrogen bonded cyclic complexes: involving one carboxylate group as in the case of *e.g.*, acetate, or involving both carboxylate groups as in the structure **8**.



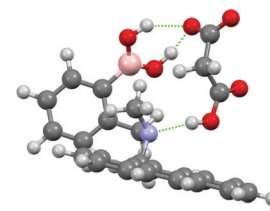
5



6



8

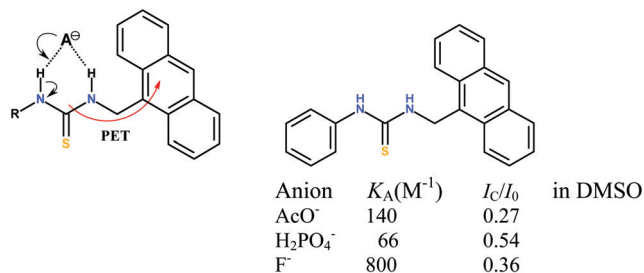


9

For comparison, the structure of the even more stable (Table 1, entry 4) hydrogen phosphate complex **6** was also calculated and displayed expectedly shorter O–H···O bonds between the interacting groups. The preferable hydrogen bonding for this anion is confirmed by the higher energy for the respective Lewis acid type complex (Fig. S10 and Table S5, ESI†).

A very strong positive deviation for the hydrogen oxalate monoanion (OxH^-) can be explained by the different binding modes. It is known that oxalic acid interacts with boronic acids as a “diol” affording the cyclic tetrahedral ester,³⁷ which in the

Examining the magnitude of the fluorescence response, one observes that all dianions induce a significant approximately three-fold decrease in the fluorescence of **1** (Fig. 7b, right side), in line with the mechanism of Scheme 1. At the same time, monoanions, excluding OxH^- and MalH^- , show smaller, less than two-fold quenching effects and MalH^- induces a strong fluorescence enhancement (Fig. 7b, left side). It is noteworthy that malonic acid, like oxalic and lactic acids, can form a



Scheme 2 The sensing mechanism and association constants for anions with a typical PET sensor.³⁹

covalent cyclic ester with boronic acids, although of a lower stability ($K_A = 10 \text{ M}^{-1}$ for PBA in water).³⁸ However, K_A for the interaction of HMal^- with **1** does not show any positive deviation from the general Brønsted plot (Fig. 7a), indicating noninvolvement of the covalent bonding.

A plausible explanation of small quenching effects with monoanions of dicarboxylic acids is that the non-dissociated COOH group of the guest can reach the bridging nitrogen atom and reduce the PET effect by formation of $\text{COOH} \cdots \text{N}$ hydrogen bonds, as illustrated in the model structure **9** for the malonate anion. In the series of dicarboxylic acids with different distances between the carboxylic groups, this interaction is apparently optimal for HMal^- producing a turn-on effect, but even in this case the interaction is rather weak. This follows from the absence of any noticeable extra stabilization of the complexes of all these species above what is expected from the basicity of their COO^- group (see the correlation in Fig. 7a). The titration of **1** by free acetic acid (Fig. 6b, open squares) produces a very small turn-on effect confirming weak intermolecular $\text{COOH} \cdots \text{N}$ interaction unable to compete efficiently with intramolecular $\text{BOH} \cdots \text{N}$ bonds.

4. Conclusions

The principal anion sensing mechanism of receptor **1** is the turn-off PET-based effect induced by the hydrogen bonding of the anion. A chemically different PET-based mechanism of anion sensing through hydrogen bonding has been developed previously by using as recognition sites strong (thio)urea anion binders coupled to anthracene or other fluorophores.¹⁶ The general signaling scheme and a typical example of anion binding by these receptors is shown in Scheme 2. Here the bound anion increases the electron density on the proton donor group making it a more efficient PET quencher. In **1** an increase in the electron density on the PET quenching nitrogen atom is achieved by removal of intramolecular hydrogen bonding of this atom to the B–OH proton donor group. It is noteworthy that the association constants and the quenching effects by common anions are similar for **1** and for typical receptors of this type (*cf.* results in Table 1 and Scheme 2).

An interesting feature of the receptor with internally hydrogen bonded amino groups is that it apparently produces an intermediate degree of PET quenching, which can be either enhanced

or lowered producing a turn-off or turn-on signal respectively. The former occurs with the majority of anions and the latter is observed with the monoanion of malonic acid and the sharp opposite signaling effect produced by MalH^- provides a possibility of selective detection of this species among other mono- and dicarboxylate anions.

Another specific feature of **1** is that it can bind some anions covalently with strongly increased affinity in comparison with other anions of similar basicity. This allows a selective detection of hydrogen oxalate in a weakly acidic medium when other carboxylates are protonated.

In general, the results of this study demonstrate that the degree of PET produced by the anthracene attached methylamino group can be efficiently regulated by the guest hydrogen bonding in addition to previously widely exploited protonation and/or metal coordination.¹⁴ Taking into consideration that boronic acids belong to a general type of OH proton donor, often employed in anion recognition,⁴⁰ this way of PET regulation may find applications also for the design of anion sensors based on *e.g.*, alcohol groups.

Author contributions

Luis Ramón Ortega-Valdovinos – investigation, formal analysis, visualization. Josue Valdes-García – data curation, formal analysis. Iván J. Bazany-Rodríguez – data curation, formal analysis. José Carlos Lugo-González – formal analysis, software. Alejandro Dorazco-González – investigation, supervision. Anatoly K. Yatsimirsky – conceptualization, funding acquisition, supervision, writing – original draft.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

Luis Ramón Ortega Valdovinos thanks CONACyT for the Doctoral fellowship (617479). The support from Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9042), Facultad de Química de la UNAM, is gratefully acknowledged. We thank PAPIIT-UNAM-216220 for the financial support.

References

- (a) E. Galbraith and T. D. James, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 3831–3842; (b) C. R. Wade, A. E. J. Broomsgrrove, S. Aldridge and F. P. Gabbai, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 3958–3984; (c) Z. Guo, I. Shin and J. Yoon, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 5956–5967; (d) X. Wu, X.-X. Chen and Y.-B. Jiang, *Analyst*, 2017, **142**, 1403–1414.
- (a) J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.*, 2014, **268**, 1–22; (b) Y. Kubo, A. Kobayashi, T. Ishida, Y. Misawa and T. D. James, *Chem. Commun.*, 2005, 2846–2848; (c) S. J. M. Koskela, T. M. Fyles and T. D. James, *Chem. Commun.*,

- 2005, 945–947; (d) A. Thakur, D. Mandal, S. Sao and S. J. Ghosh, *Organomet. Chem.*, 2012, **715**, 129–135; (e) M. Xue, X. Wang, L. Duan, W. Gao, L. Ji and B. Tang, *Biosens. Bioelectron.*, 2012, **36**, 168–173; (f) N. DiCesare and J. R. Lakowicz, *Anal. Biochem.*, 2002, **301**, 111–116; (g) K. M. K. Swamy, Y. Ju Lee, H. N. Lee, J. Chun, Y. Kim, S. J. Kim and J. Yoon, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 8626–8628.
- 3 Z. Cao, Y. Cao, R. Kubota, Y. Sasaki, K. Asano, X. Lyu, Z. Zhang, Q. Zhou, X. Zhao, X. Xu, S. Wu, T. Minami and Y. Liu, *Front. Chem.*, 2020, **8**, 1–6.
- 4 M. A. Martínez-Aguirre and A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.*, 2015, **80**, 4985–4993.
- 5 (a) J. R. Hiscock, N. J. Wells, J. A. Ede, P. A. Gale and M. R. Sambrook, *Org. Biomol. Chem.*, 2016, **14**, 9560–9567; (b) M. A. Martínez-Aguirre, D. Martínez Otero, M. L. Álvarez-Hernández, T. Torres-Blancas, A. Dorazco-González and A. K. Yatsimirsky, *Heterocycl. Commun.*, 2017, **23**, 171–180.
- 6 R. Pereira Orenha, C. Haber Cintra, L. Bermudes Peixoto, E. Henrique da Silva, G. Finoto Caramori, A. Osmar Ortolan, M. Jeomar Piotrowski and R. L. Tame Parreira, *New J. Chem.*, 2020, **44**, 5564–5571.
- 7 (a) T. D. James, K. R. A. Sandanayake and S. J. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, **4**, 477–478; (b) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi and S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 8982–8987.
- 8 X. Sun, B. M. Chapin, P. Metola, B. Collins, B. Wang, T. D. James and E. V. Anslyn, *Nat. Chem.*, 2019, **11**, 768–778.
- 9 R. Mathew, R. R. Mallia¹, S. Haridas and J. P. Jacob, *J. Photochem. Photobiol., A*, 2020, **397**, 112552; J. P. Jacob, L. M. Lalu, R. Gopalakrishnan, R. R. Mallia, P. A. Unnikrishnan and S. Prathapan, *ARKIVOC*, 2015, 270–283.
- 10 C. R. Cooper, N. Spencer and T. D. James, *Chem. Commun.*, 1998, 1365–1366.
- 11 K. M. K. Swamy, Y. J. Lee, H. N. Lee, J. Chun, Y. Kim, S.-J. Kim and J. Yoon, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 8626–8628.
- 12 A. P. de Silva and R. A. D. D. Rupasinghe, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1985, 1669–1670.
- 13 A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.*, 1994, **27**, 302–308.
- 14 B. Daly, J. Ling and A. P. de Silva, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 4203–4211.
- 15 (a) B. M. Chapin, P. Metola, S. L. Vankayala, H. L. Woodcock, T. J. Mooibroek, V. M. Lynch, J. D. Larkin and E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 5568–5578; (b) L. Zhang, J. A. Kerszulis, R. J. Clark, T. Ye and L. Zhu, *Chem. Commun.*, 2009, 2151–2153.
- 16 (a) T. Gunnlaugsson, M. Glynn, G. M. Tocci, P. E. Kruger and F. M. Pfeffer, *Coord. Chem. Rev.*, 2006, **250**, 3094–3117; (b) T. Gunnlaugsson, H. D. P. Ali, M. Glynn, P. E. Kruger, G. M. Hussey, F. M. Pfeffer, C. M. G. dos Santo and J. Tierney, *J. Fluoresc.*, 2005, **15**, 287–299; (c) T. Gunnlaugsson, A. P. Davis and M. Glynn, *Chem. Commun.*, 2001, 2556–2557.
- 17 S. Grimme, S. Ehrlich and L. Goerigk, *J. Comput. Chem.*, 2011, **32**, 1456–1465.
- 18 M. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman and D. J. Fox, *Gaussian 16 (Revision A.03)*, Gaussian Inc., Wallingford, CT, 2016.
- 19 S. Miertuš, E. Scrocco and J. Tomasi, *Chem. Phys.*, 1981, **55**, 117–129.
- 20 *APEX 2 Softw. Suite*, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2004.
- 21 G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Adv.*, 2015, **71**, 3–8.
- 22 (a) C. B. Hübschle, G. M. Sheldrick and B. Dittrich, *J. Appl. Crystallogr.*, 2011, **44**, 1281–1284; (b) G. M. Sheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement*, University of Göttingen, Germany, 1997.
- 23 (a) P. Rodríguez-Cuamatzi, R. Luna-García, A. Torres-Huerta, M. I. Bernal-Uruchurtu, V. Barba and H. Hopfl, *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**, 1575–1583; (b) P. Socha, B. Prus, Ł. Dobrzycki, R. Boesea and M. K. Cyrański, *CrystEngComm*, 2021, **23**, 1251–1262.
- 24 C. Perez-Casas and A. K. Yatsimirsky, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 2275–2284.
- 25 M. Boiocchi, Del Boca, L. Esteban-Gomez, D. Fabbrizzi, L. Licchelli and M. Monzani, *Chem. – Eur. J.*, 2005, **11**, 3097–3104.
- 26 P. Rodríguez-Cuamatzi, O. I. Arillo-Flores, M. I. Bernal-Uruchurtu and H. Hopfl, *Cryst. Growth Des.*, 2005, **5**, 167–175.
- 27 G. Y. Ruelas-Alvarez, A. J. Cárdenas-Valenzuela, A. Cruz-Enríquez, H. Höpfl, J. J. Campos-Gaxiola, M. A. Rodríguez-Rivera and B. Rodríguez-Molina, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2019, **22**, 2707–2724.
- 28 D. L. Yabroff, G. E. K. Branch and B. Bettman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1934, **56**, 1850–1857.
- 29 D. Barisic, V. Tomisic and N. Bregovic, *Anal. Chim. Acta*, 2019, **1046**, 77–92.
- 30 P. A. Gale, S. E. García-Garrido and J. Garric, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 151–190.
- 31 (a) P. A. Gale, *Acc. Chem. Res.*, 2006, **39**, 465–475; (b) P. A. Gale, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 3746–3771.
- 32 (a) S. M. Butler and K. A. Jolliffe, *Org. Biomol. Chem.*, 2020, **18**, 8236–8254; (b) F. Wang, S. Sen, C. Chen, S. Bähring, C. Lei, Z. Duan, Z. Zhang, J. L. Sessler and A. Jana, *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, **142**, 1987–1994.
- 33 (a) P. A. Gale, E. N. W. Howe and X. Wu, *Chem*, 2016, **1**, 351–422; (b) P. Mateusa, N. Berniera and R. Delgado, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 1726–1747.

- 34 E. M. Boyle, S. Comby, J. K. Molloy and T. Gunnlaugsson, *J. Org. Chem.*, 2013, **78**, 8312–8319.
- 35 C. Jia, Q.-Q. Wang, R. A. Begum, V. W. Day and K. Bowman-James, *Org. Biomol. Chem.*, 2015, **13**, 6953–6957.
- 36 E. Fan, S. A. van Arman, S. Kincaid and A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 369–370.
- 37 S. Friedman and R. Pizer, *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 6059–6062.
- 38 L. Babcock and R. Pizer, *Inorg. Chem.*, 1980, **19**, 56–61.
- 39 T. Gunnlaugsson, A. P. Davis, G. M. Hussey, J. Tierney and M. Glynn, *Org. Biomol. Chem.*, 2004, **2**, 1856–1863.
- 40 S. A. Boer, E. M. Foyle, C. M. Thomas and N. G. White, *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**, 2596–2614.

Anion Recognition by Benzoxaborole

Mayte A. Martínez-Aguirre, Luis Ramón Ortega-Valdovinos, Raúl Villamil-Ramos, and Anatoly K. Yatsimirsky*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00324>



Read Online

ACCESS |



Metrics & More

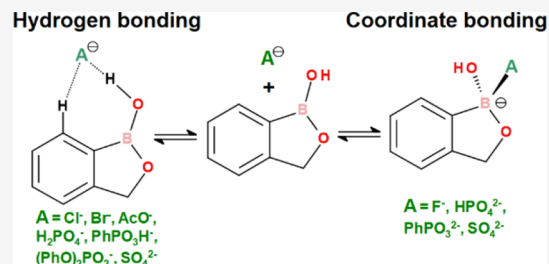


Article Recommendations



Supporting Information

ABSTRACT: The binding types (H-bonding or coordinate) and stability constants for complexes of 11 mono- and di-anions with benzoxaborole (**1**) were determined by ^1H and ^{11}B NMR titrations in DMSO or MeCN. Compared to phenylboronic acid (PBA), **1** is a stronger Lewis acid and a poorer H-bond donor with only one B-OH group, which is expected therefore to recognize anions mostly through the coordinate bonding. This is the case however only with F^- , HPO_4^{2-} , and PhPO_3^{2-} anions, which are coordinately bonded to **1**, and partially with SO_4^{2-} , which forms only the H-bonded complex with PBA, but both H-bonded and coordinate complexes with **1**. The majority of tested anions (AcO^- , PhPO_3H^- , $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$, Cl^- , and Br^-) form H-bonded complexes with both **1** and PBA, whereas H_2PO_4^- changes the binding mode from coordinate for PBA to H-bonded for **1**. The preferable binding type for each anion is confirmed by calculations of DFT-optimized structures of the anion complexes of **1**. The preferable binding type can be rationalized considering the effects of the steric hindrance, more significant for the coordinate bonding, and of increased anion basicity, which is favorable for both binding types, but enhances the strength of coordinate bonding more significantly than the strength of H-bonding.



INTRODUCTION

Anion recognition is an extensively developed area of supramolecular chemistry that is attracting much interest both in fundamental and applied aspects.¹ Boronic acids recognize anions in aprotic solvents either through the direct coordination of the anion to the B(III) center or through the hydrogen bonding with the B(OH)₂ group (Scheme 1a).² For arylboronic acids, the former binding mode was observed with fluoride and dihydrogen phosphate anions and the latter mode was observed with carboxylate and halide anions.² Both types of anion recognitions are important for sensing and other applications. The majority of reported boronic acid-based anion sensors operate via the coordinate bonding and are designed for detection of fluoride,³ but recently, the hydrogen bonding mode is also exploited in the design of anion receptors.⁴ The type of anion binding is essential for applications of boronic acids in catalysis,⁵ and it is also the subject of computational analysis.⁶ The preferable acidity type, Lewis or Brønsted, was investigated recently for boranol-containing naphthoid heterocycles.⁷ Also, results involving the selectivity of anion recognition by boronic acids are of interest for studies of hydrogen bonding interactions of boronic acids with other Lewis bases of different types.⁸

To get a deeper understanding of the factors controlling the preferable type and the strength of boronic acid–anion interaction, we turned our attention to benzoxaborole (**1**) as a potential anion receptor (Scheme 1b). It differs from phenylboronic acid (PBA) by a much stronger Lewis acidity,⁹ but it lacks the second OH group required for anion chelation

through the hydrogen bonding. Therefore, the expected difference in anion recognition behavior between these two acids is the enhanced coordinate bonding, but reduced, if any, hydrogen bonding to **1**. One could even expect a switch in the binding mode from the hydrogen to the coordinate bonding for halide and carboxylate anions. The results of this study obtained for a wide range of anions of different structures (Chart 1) demonstrate, however, a much more complex picture.

The increased Lewis acidity of **1** is manifested most clearly in its low $\text{p}K_a$ value 7.3 as compared to $\text{p}K_a$ 8.9 for PBA.¹⁰ The “acid dissociation” of boronic acids is actually the addition of hydroxide anion to the boron atom of RB(OH)_2 , inducing the splitting of a water molecule with formation of RB(OH)_3^- and a hydrated proton. The difference in $\text{p}K_a$ values by 1.6 units means that OH^- has a 40 times higher affinity to **1** than to PBA in water. The increased acidity leads to a stronger observed binding of diol molecules by **1** in neutral solutions, which is one of the most important advantages of **1** as a diol receptor.^{9,10} An obvious reason for the stronger binding is the presence of a larger fraction of the anionic tetrahedral boronate form of **1** in neutral solutions, but, at the same time, the true

Received: February 12, 2022

Scheme 1. Expected Anion Binding Modes to (a) Phenylboronic Acid and (b) Benzoxaborole

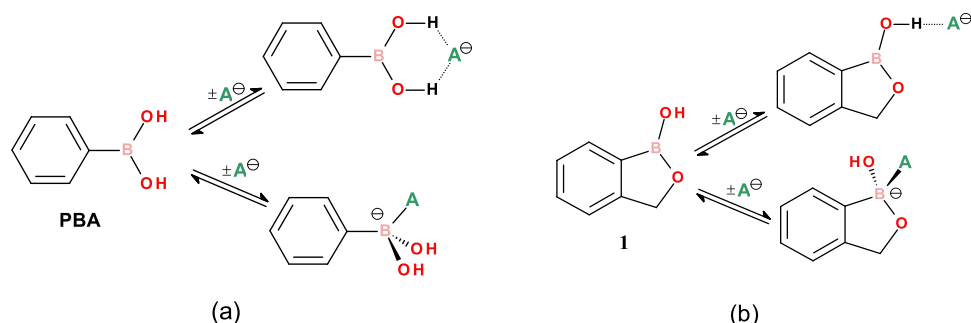
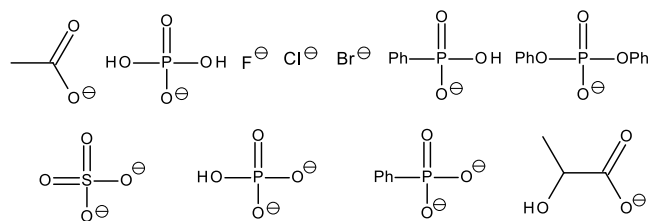


Chart 1. Anions Used in This Study



binding constants K_{tet} of diols to the boronate form of **1** are smaller than those for PBA. For instance, K_{tet} for fructose and **1** is 830 M^{-1} , which is 6 times smaller than K_{tet} for fructose and PBA (5180 M^{-1}); for maltose, this ratio is 2.5.¹¹ The decrease in K_{tet} for **1** as compared to PBA means that the relative affinity of alkoxide groups of diols to the boron atom in comparison with hydroxide anions is smaller in **1** than in PBA. An opposite tendency was observed for tetrahedral complexes of amino phenolic N,O-ligands with boronic acids, which demonstrated a larger K_{tet} for **1** than for PBA.¹² Thus, the Lewis acidity of **1** is manifested differently for different ligands, which is a common situation with stability of Lewis acid–base pairs,¹³ and one of the aspects of this study is to find out how the Lewis acidity of **1** is manifested toward anions of variable basicity and structure. It appeared also that **1** still was able to bind many anions through the hydrogen bonding via its single B–OH group without any contribution from the coordinate

bonding to the boron atom. These results, which are examined together with the relevant data for PBA, allowed us to analyze factors responsible for the preferred type, H-bonding or coordinate, of anion recognition by boronic acids.

In general terms, boronic acids may be considered as a kind of OH donor receptor for anions.¹⁴ There are, however, at least two aspects in which boronic acids differ significantly from other OH donor receptors. First, acyclic alcohol or phenol-based receptors bind anions only in low polar media with MeCN being the most polar solvent where the binding is still detectable, while boronic acids successfully operate even in DMSO.^{2,4} Second, boronic acids have an additional Lewis acid binding site, which gives them more options for anion recognition. In particular, in water, where the hydrogen bonding becomes inefficient, boronic acids still can bind anions due to their Lewis acidity.¹⁵ In this aspect, the enhanced Lewis acidity of **1** makes it a promising molecule for the future design of anion receptors operating in water.

RESULTS AND DISCUSSION

The interactions of anions with **1** were studied by ^1H and ^{11}B NMR spectroscopic titrations. In an ideal situation, the ^1H NMR data allows one to confirm the participation of B(OH) group in the hydrogen bonding by observing the characteristic down-field shift of the OH proton signal and ^{11}B NMR data allows one to prove or reject the coordinate anion bonding, which transforms the sp^2 boron of the free acid to the sp^3

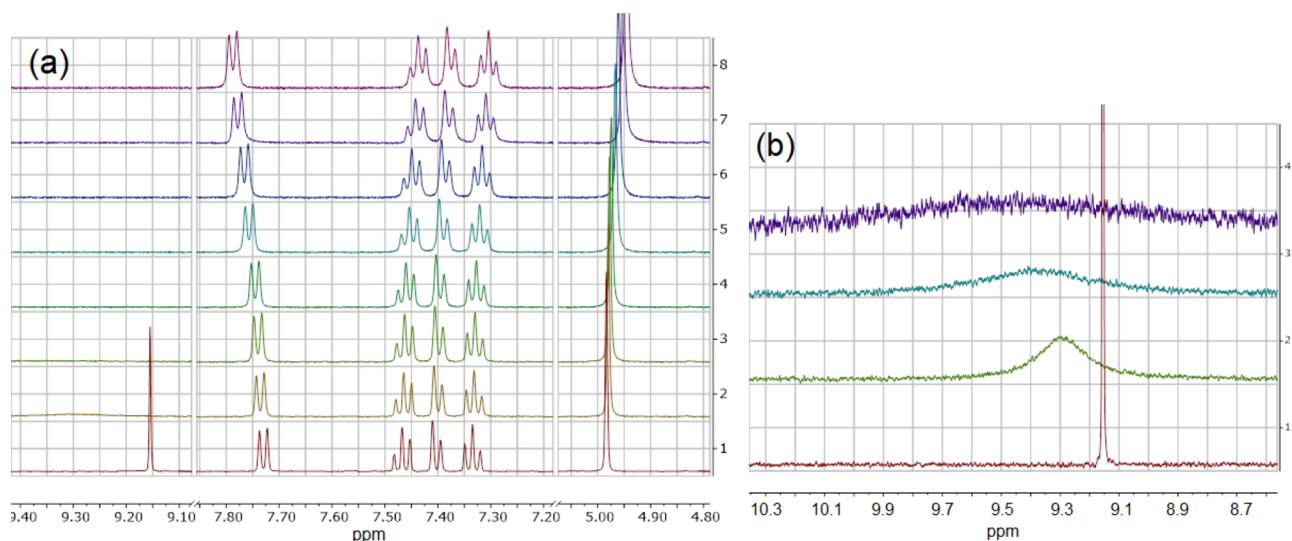


Figure 1. (a) ^1H NMR (400 MHz) spectra of 5 mM **1** in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.5, 3.0, 4.9, 9.6, 14, 23, and 31 mM Bu_4NacO in $\text{DMSO}-d_6$. (b) Expanded down-field area of the spectra obtained with 0–4.9 mM of Bu_4NacO .

boron in the complex accompanied by the strong up-field shift of the signal. In practice, the hydrogen bonding often induces strong broadening of the signal, sometimes to the extent that it cannot be recorded at all. Therefore, both ^1H and ^{11}B results are indispensable for determining the type of anion binding and often the analysis of the accompanying shifts of the signals of aromatic protons also are helpful.

Interactions with AcO^- and H_2PO_4^- . Figure 1a illustrates the results of ^1H NMR titration of **1** by acetate in $\text{DMSO}-d_6$. The signal of the $\text{B}(\text{OH})$ proton of the free receptor is observed at 9.15 ppm. Additions of acetate induce the strong broadening of the signal, which eventually disappears, but is still detectable and down-field shifted after additions of first three portions of the anion (Figure 1b). A small down-field shift is observed also for the doublet at 7.73 ppm, which belongs to the aromatic *ortho*-proton, but the signals of other aromatic protons and the methylene group undergo up-field shifts. It is generally assumed that the down-field shifts of ^1H signals can be attributed to through-space hydrogen bonding interactions while the up-field shifts reflect the inductive shielding effect of the bound anion.¹⁶ From this point of view, the ^1H NMR results agree with the hydrogen bonding of acetate to the $\text{B}(\text{OH})$ group with possible additional contribution from the $\text{C}-\text{H}\cdots\text{OAc}$ interaction with the aromatic *ortho*-proton. The results of ^{11}B NMR titration of **1** by the acetate shown in Figure S1 (Supporting Information) confirm this binding model: the position of the signal remains practically unchanged on addition of acetate, demonstrating that the boron atom conserves its trigonal structure and that there is no coordinate interaction of acetate with the boron atom. A small up-field shift of the signal may reflect the electron donor inductive effect of the bound anion like in the case of the majority of aromatic protons.

The fitting of titration profiles of ^1H NMR signals of aromatic protons to eq 1 (see the Experimental Section) gives the association constant $K_A = 34 \pm 3 \text{ M}^{-1}$ (Figure S2). Using this value of the binding constant, we estimated from the results in Figure 1b the limiting value of the signal for the totally bound **1** as 11.77 ppm, which corresponds to the complexation-induced shift of the signal by 2.62 ppm. The respective shift at “saturation” of the aromatic *ortho*-proton signal is only 0.11 ppm. From these results, one may conclude that the principal attractive interaction of **1** with acetate is the hydrogen bonding with the $\text{B}(\text{OH})$ group with a small possible contribution of $\text{C}-\text{H}\cdots\text{OAc}$ interaction (Scheme 2a). The anion recognition through $\text{C}-\text{H}$ donor groups is well documented,¹⁷ but the complexation-induced shifts of the ^1H NMR signals are usually much larger, about 1 ppm, even with low basic anions such as chloride.¹⁸ At the same time, in the case of PBA, acetate induces an opposite up-field shift of the

ortho-proton signal by ca. -0.1 ppm (Table 1, entry 2), attributable to the inductive shielding effect of the anion (Scheme 2b). Therefore, some contribution of the $\text{C}-\text{H}\cdots\text{OAc}$ interaction with **1** is realistic.

The binding constants and characteristic complexation-induced shifts in the NMR signals for all studied anions are collected in Table 1, which also shows the respective data for PBA.

The binding of acetate to PBA in DMSO also occurs through the hydrogen bonding,² but in this case, to the bidentate $\text{B}(\text{OH})_2$ group with a much larger binding constant and larger complexation-induced shift of the $\text{B}(\text{OH})$ signal (Table 1, entry 2). The weakened binding of acetate to **1** through the single hydrogen bond is understandable, but it seems surprising that the strongly enhanced Lewis acidity of **1** does not lead to the alternative coordinate binding of the anion.

The results of NMR titrations of more acidic 5-fluoro substituted **1** (Tavorole) by acetate are shown in Figure S3a–c. The interaction type again is the hydrogen bonding confirmed by the absence of any shift of the ^{11}B signal but with a slightly smaller association constant $K_A = 25 \pm 3 \text{ M}^{-1}$. Such an unusual trend of decreased affinity of acetate to arylboronic acids with moderately strong electron acceptor substituents through the hydrogen bonding was also observed for substituted phenylboronic acids.²

The association of PBA with H_2PO_4^- , in contrast to the association with acetate, was reported to proceed through the coordinate bonding.² This binding type was also found for a different arylboronic acid^{4a} and was confirmed by theoretical calculations.⁶ Surprisingly, **1** that is more electrophilic and lacks the second OH group binds this anion through the hydrogen bonding. The course of ^1H NMR titration of **1** by H_2PO_4^- shown in Figure S4a essentially coincides with that by acetate. The only difference is that the broadening of the $\text{B}(\text{OH})$ signal is even stronger, and it disappears already after the first addition of the anion. There are no changes in the ^{11}B NMR signal of **1** (Figure S4b), and the fitting of the concentration profiles of the aromatic signals (Figure S4c) indicates a quite strong association with $K_A = 53 \pm 5 \text{ M}^{-1}$. With PBA, the K_A for H_2PO_4^- is significantly larger (Table 1, entry 3) but this is not the result of the chelate effect because with PBA, the binding is coordinate.

This unexpected shift of the binding type means that the preferable binding site for H_2PO_4^- is determined by a subtle balance of several factors. Recently, the H-bonding type of H_2PO_4^- binding was observed also with an *ortho*-substituted fluorescent phenylboronic acid,^{4c} which has, in common with **1**, the presence of the *ortho*-methylene group, potentially causing a strong steric effect responsible for the observed change in the binding mode (see the General Discussion below).

Interactions with Halide Anions. The results of ^1H and ^{11}B titrations of **1** by F^- are shown in Figure 2ba. The interaction occurs slowly on the NMR time scale. The signal of $\text{B}(\text{OH})$ disappears and the up-field shift of the signal of the methylene group is much more pronounced than those for acetate and dihydrogen phosphate. The final spectrum with an excess of fluoride probably belongs to a single species, but the intermediate spectra show the presence of a mixture of products, probably oligomers with bridging fluoride anions detected for the interaction of fluoride with PBA.² A simpler behavior is observed in ^{11}B titration (Figure 2b), which

Scheme 2. Possible H-Bonding Modes of Anions to (a) **1** and (b) PBA

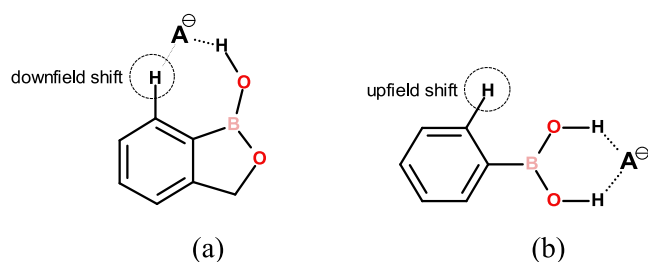


Table 1. Association Constants K_A (M^{-1}) of **1 and PBA with Anions and Chemical Shifts (ppm) of Selected Nuclei in **1** and PBA at Saturation (Relative Errors in K_A Are Less Than $\pm 20\%$)**

anion	pK_a^a	benzoxaborole (1)					phenylboronic acid (PBA)				
		K_A	BOH	ArH ^b	CH ₂	¹¹ B	K_A	BOH	ArH ^b	¹¹ B	
				in DMSO							
1	none		9.15	7.73	4.98	31.2		8.04	7.77	28.4	
2	AcO ⁻	12.6	34.0	11.77	7.84	4.90	31.5	950 ^c	11.28	7.67	28.7
3	H ₂ PO ₄ ⁻	10.8	52.5		7.86	4.92	30.5	220 ^c		7.67	
4	F ⁻	15	^d			4.54	8.4	^{c,d}			4.1
5	PhPO ₃ H ⁻		27	nd	7.85	4.95	32.0	350	9.46	7.72	27.2
6	(PhO) ₂ PO ₂ ⁻		6	9.65	7.80	4.96	31.2	15	8.89	7.76	28.3
7	SO ₄ ^{2-e}	9.1	800	9.7	7.86	4.86	31.2	6.2 × 10 ³	10.76	7.69	26.9
8	SO ₄ ^{2-f}		640			4.57	8.4				
9	HPO ₄ ^{2-g}		^d			4.58	8.7	^g			
10	PhPO ₃ ²⁻		^d			4.58	8.1	5.0 × 10 ⁴	12.9	7.68	27.8
11	lactate		3.4 × 10 ⁴		7.17	4.57	11.2	4.0 × 10 ³		7.35	7.0
				in MeCN							
12	none			6.64	7.74	5.03	31.7		5.99	7.75	28.7
13	AcO ⁻		200		7.95	4.90	31.2	2.6 × 10 ^{3c}			29.1
14	Cl ⁻	1.8	37	10.09	8.32	4.96	31.5	257 ^c	7.95		29.1
15	Br ⁻	0.9	7.7	9.44	8.37	5.03	31.7	52.5 ^c	7.29		28.9

^a pK_a values of conjugated acids of anions in DMSO: H₂PO₄⁻,¹⁹ SO₄²⁻,²⁰ and other anions²¹ available in the literature. ^bThe *ortho*-proton marked by a circle in Scheme 2. ^cFrom ref 2. ^dToo large to be reliably determined. ^eFast exchanging complex. ^fSlow exchanging complex. ^gComplex pattern impeding an estimate of K_A .

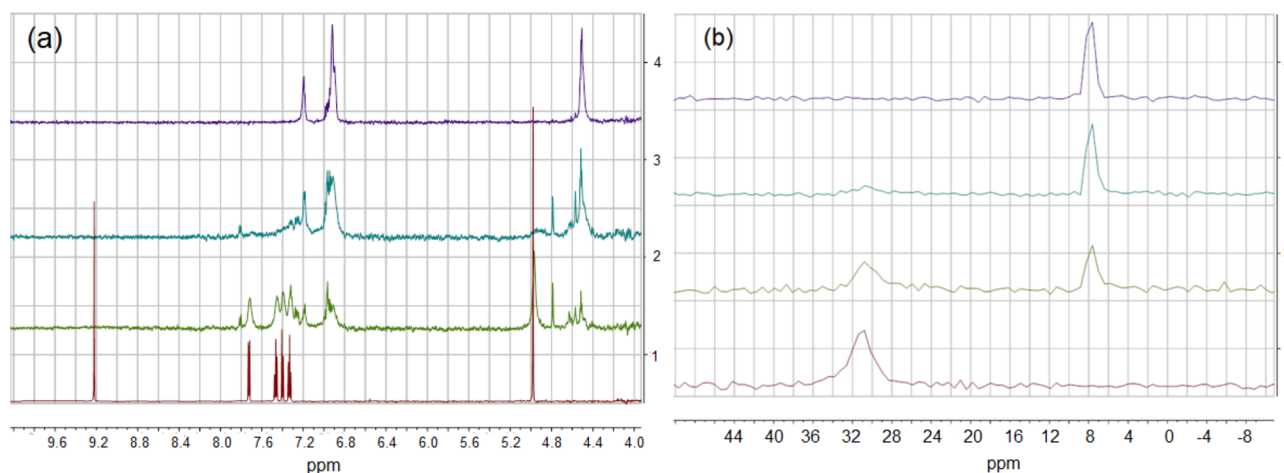


Figure 2. (a) ¹H NMR (400 MHz) spectra of 5 mM **1** in the presence (from the bottom to the top) of 0, 2.5, 5.0, and 10 mM Bu₄NF in DMSO-*d*₆. (b) ¹¹B NMR (128.3 MHz) spectra of 5 mM **1** in the presence of the same concentrations of Bu₄NF in DMSO-*d*₆.

contains two signals of variable intensity at 31 and 8 ppm belonging to trigonal and tetrahedral boron of the initial free boronic acid and the fluoride coordinate adduct, respectively. The expected ¹¹B–¹⁹F coupling is not observed as it often happens due to line broadening.²² The binding is very strong with the association constant being too large to be reliably estimated from these results. The coordinate binding of F⁻ is observed also with PBA,² but unfortunately, the results for PBA and **1** cannot be compared quantitatively.

The binding of other halides, Cl⁻ and Br⁻, in DMSO was very weak, and it was studied in the less polar solvent, MeCN (Figure S5a,b). The complexation through hydrogen bonding is obvious from the strong down-field shift of the signal of the B(OH) proton and the absence of any shift in the ¹¹B signal (Figure S5c,d). The association constants with **1** (Table 1, entries 14, 15) are ca. 7 times smaller than those for PBA with both anions, obviously due to the absence of the chelate effect

of the B(OH)₂ group, but similar to the cases of acetate and phosphate, there is no tendency for coordinate bonding with the more electrophilic boron atom of **1**.

To see the magnitude of the solvent effect on anion binding with **1**, the titration of **1** with AcO⁻ was performed also in MeCN (Figure S6 and Table 1, entry 13). In this solvent, the broadening of the BOH signal is even stronger than in DMSO, the down-field shift of the signal of the *ortho*-CH proton is larger, and the association constant increases 6 times.

Interactions with Organic Phosphate and Phosphonate Monoanions. The unexpected behavior of H₂PO₄⁻, preferring the hydrogen bonding with **1**, prompted us to study interactions of **1** with other phosphate and phosphonate anions in a hope to find some trends. The ¹H NMR titration of **1** by the phenylphosphonate anion (PhPO₃H⁻) (Figure 3a) looks like those for H₂PO₄⁻ and AcO⁻ (Figure S4 and Figure 1). The ¹¹B NMR signal recorded at the highest employed anion

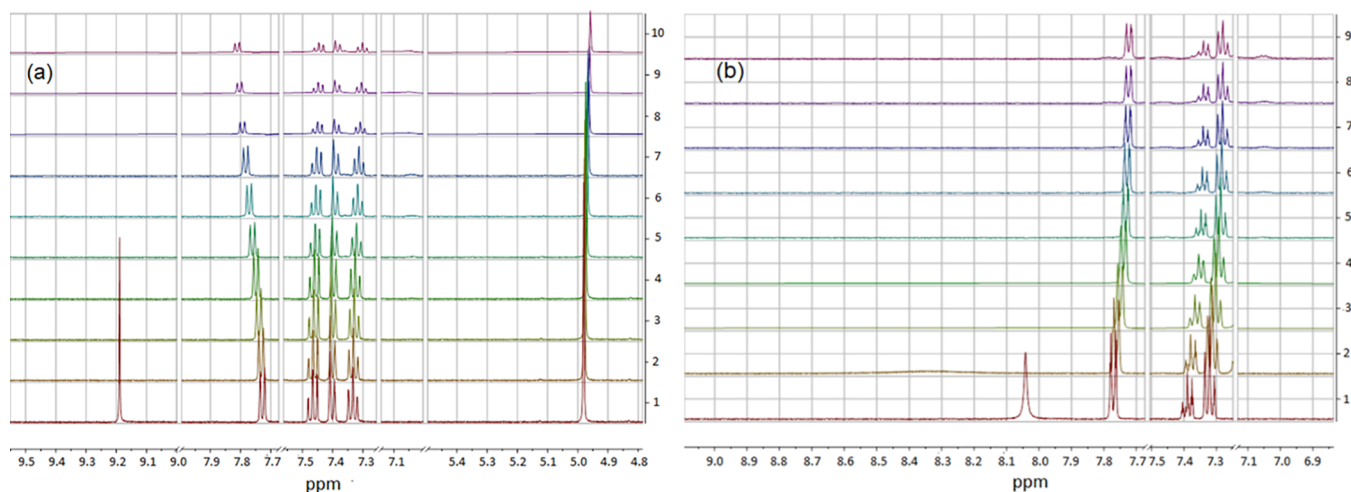


Figure 3. (a) ¹H NMR (500 MHz) spectra of 5 mM **1** in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.5, 4.4, 9.2, 16, 25, 36, 51, 69, and 87 mM PhPO₃H⁻ in DMSO-*d*₆. (b) ¹H NMR (500 MHz) spectra of 5 mM PBA in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.5, 4.4, 9.2, 16, 25, 36, 51, and 69 mM PhPO₃H⁻ in DMSO-*d*₆.

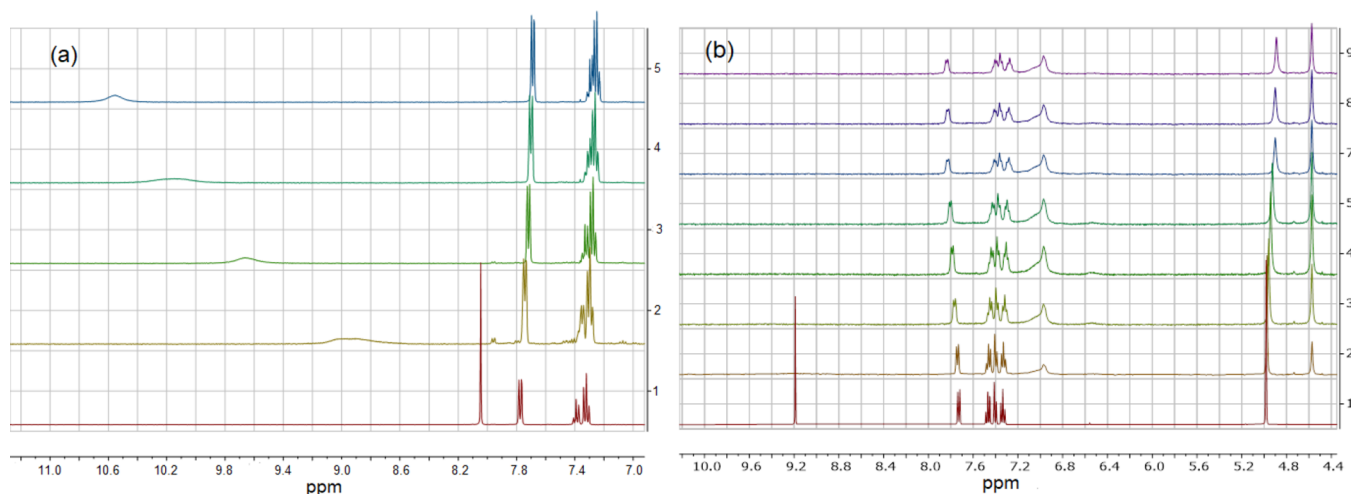


Figure 4. (a) ¹H NMR (400 MHz) spectra of 4.5 mM PBA in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.3, 2.5, 3.8, 5.0, and 7.3 mM SO₄²⁻. (b) ¹H NMR (400 MHz) spectra of 4 mM **1** in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.3, 2.6, 3.8, 5.0, 6.2, 7.3, 8.5, and 9.5 mM SO₄²⁻ in DMSO-*d*₆.

concentration was at 32.93 ppm, confirming the absence of the coordinate bonding. Thus, the association of **1** with PhPO₃H⁻ also proceeds through the hydrogen bonding.

Results for the ¹H NMR titration of PBA by PhPO₃H⁻ are shown in Figure 3b. The signal of the BOH proton disappears at anion concentrations above 0.01 M, but amplification of the low-field area of the spectrum at smaller concentrations (Figure S7) clearly shows the gradual down-field shift of the signal characteristic for the hydrogen bonding. All signals of aromatic protons are shifted up-field as it is observed with acetate and the ¹¹B signal at saturation remains practically unchanged (Table 1, entry 5). Thus, the more voluminous PhPO₃H⁻ is hydrogen-bonded with both boronic acids. The association constants for PhPO₃H⁻ with both boronic acids were determined from the respective titration plots for aromatic protons (Figure S8a,b), and *K*_A for the bidentate PBA was found expectedly higher (Table 1, entry 5). Titration results for even more voluminous (PhO)₂PO₂⁻ (Figures S9a,b and S10a,b and Table 1, entry 6) also demonstrate all typical

characteristics of the hydrogen bonding both for **1** and PBA with small binding constants.

All three anions, H₂PO₄⁻, PhPO₃H⁻, and (PhO)₂PO₂⁻, have similar charges, geometries, and basicities but progressively increased volumes, which appears to be the principal factor determining the binding site and affinity.

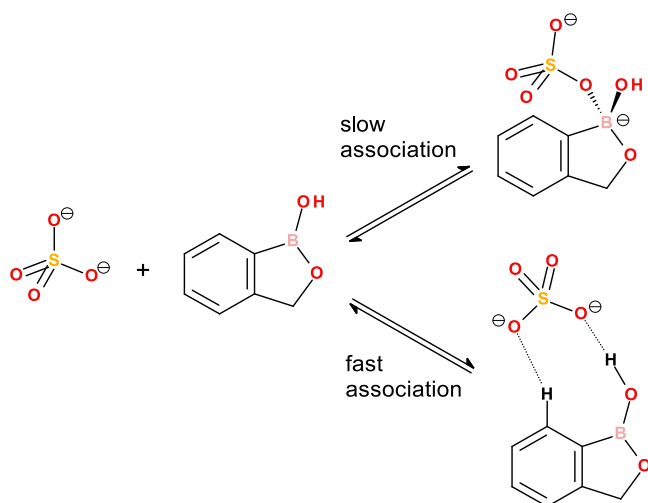
Interactions with Dianions. Reported molecular recognition studies with dianions involve mostly sulfate and phosphate²³ with particular interest to the nature of hydrogen-bonding recognition of sulfate dianion operating even in water.²⁴ Interactions of dianions with boronic acids were not studied previously.

The association of PBA with SO₄²⁻ proceeds through the hydrogen bonding, as evidenced by the down-field shift of the BOH signal (Figure 4a) and by the observation of the ¹¹B signal at 26.86 ppm at saturation, with a very large binding constant (Figure S11 and Table 1, entry 7). The interaction of **1** with SO₄²⁻ is more complex. Two sets of signals in the presence of added sulfate are clearly observed (Figure 4b), indicating the slow complex formation in the NMR time scale,

but the signals of “free” **1** move noticeably in the presence of increasing anion concentrations, indicating the existence of a simultaneous fast complexation process. The aromatic signals of the slowly formed complex appear at approximately 7 ppm, are poorly resolved, and partially overlap with the signals of free **1**, but the signal of the methylene group at 4.6 ppm is sharp and well separated from the respective signal of free **1** at 5 ppm, which moves to 4.9 ppm at the high sulfate concentration. The relative intensities of the signals at 4.6 and 4.9 ppm remain unchanged on the increase in sulfate concentration above 7.3 mM (1.7 mol equivalent of sulfate). The signal of the BOH proton undergoes strong broadening and disappears at the first addition of sulfate, but the signal of the *ortho*-aromatic proton at 7.73 ppm moves down-field, indicating the hydrogen bonding of the anion.

A plausible explanation of all these observations is that sulfate forms simultaneously two isomeric complexes with **1**, one in fast and another one in slow time scales, which co-exist at a constant ratio at saturation with an excess of the anion. Logically, the fast complex formation can be attributed to the hydrogen bonding and the slow process to the formation of a coordinate adduct (Scheme 3). This interaction model is

Scheme 3. Simultaneous Formation of Slow and Fast Exchanging Sulfate Complexes with 1



supported by the observation of two signals in the ^{11}B NMR spectrum of **1** at saturation with sulfate (Figure 5a), one at 31.18 ppm corresponding to the trigonal and another one at 8.35 ppm corresponding to the tetrahedral boron.

Integration of the signals of methylene protons at saturation shows that “fast” and “slow” complexes coexist at the ratio 1:1.05 and the integration of ^{11}B signals gives the ratio 1:0.6 of trigonal and tetrahedral boron, giving on the average the ratio 1:0.8 of concentrations of the H-bonded and the coordinate complexes at equilibrium. The formation constants for these species cannot be obtained simply from the ratio of integrated signals because the intensity of the signal of “free” **1** in fact includes both free and bound in the fast process boronic acid. The following procedure was used. Concentrations of the “slow” complex were calculated from the relative intensities of the signals of methylene protons and were subtracted from the concentrations of total sulfate, giving the sum of the concentrations of free and bound to the “fast” complex sulfate. Then, the chemical shifts of aromatic protons were fitted to eq

1 for a fast-exchanging complex (Figure 5b), giving the value of $K_A = 800 \pm 100 \text{ M}^{-1}$. Assuming the given above estimate of the ratio 0.8 of concentrations of “fast” and “slow” complexes at saturation, one obtains for the “slow” (coordinate) complex $K_A = 640 \text{ M}^{-1}$.

Phosphate and phosphonate dianions HPO_4^{2-} and PhPO_3^{2-} are much more basic species than sulfate and therefore are expected to form more stable complexes. The results for titration of PBA with HPO_4^{2-} were inconclusive and were not analyzed (see Figure S12 and comments below the figure), but with PhPO_3^{2-} , a typical pattern for the formation of a hydrogen-bonded complex was observed (Figure 6a). The BOH signal suffers a strong broadening but remains detectable and strongly down-field shifted in the presence of low concentrations of the anion (Figure 6b). The ^{11}B signal at saturation is observed at 27.79 ppm, confirming the formation of a trigonal hydrogen-bonded complex. The fitting of the concentration profiles for the aromatic protons (Figure S13) gives a large association constant (Table 1, entry 10).

Interactions of both dianions with **1** are slow in the NMR time scale, Figure 7ba. Like in the case of sulfate, the signals of aromatic protons become unresolved, but the methylene protons show sharp signals for free (at 4.98 ppm) and bound (at 4.58 ppm) **1**. The integration of these signals indicates a very strong association with the ratio of signal intensities equal to the molar ratio of the components, which does not allow one to reliably estimate the association constants. The ^{11}B signals at saturation were observed at 7.8 ppm for HPO_4^{2-} and 7.3 for PhPO_3^{2-} , indicating the formation of coordinate complexes.

Surprisingly, additions of more than 1 mole equivalent of HPO_4^{2-} to **1** induce the appearance of another up-field shifted signal at 4.5 ppm with concomitant disappearance of the signal at 4.58 ppm (spectra 6–10, Figure 7a). Similar transformation occurs after addition of more than 0.5 mole equivalent of PhPO_3^{2-} to **1** (spectra 5–8, Figure 7b). These results point to a possibility of the binding of two anions to **1**, which requires either substitution of OH^- anion or opening of the oxaborole ring. In favor of the latter speaks the fact that the chemical shift of the methylene protons observed with the excess of phosphate and phosphonate dianions is very close to the signal position in the open form of **1** observed at 4.55 ppm.²⁵ However, the ring opening requires protonation of the alkoxide group impossible in an aprotic solvent. In the case of HPO_4^{2-} , a proton can be transferred from the OH group of the anion, but in the case of PhPO_3^{2-} , the situation by the moment is unclear.

Interactions with Sodium L-Lactate. The relative coordinate affinity of a carboxylate anionic group to PBA and **1** is of interest because this group is present in many important ligands such as amino or hydroxy acids. It cannot be estimated from the results for acetate because it forms only H-bonded complexes, and in order to estimate it, we measured the association of PBA and **1** with lactate, a hydroxy carboxylate where the carboxylate coordination to boron is enforced by the concomitant ester bond formation. The reaction of a neutral boronic acid with an anion of hydroxy acid, shown in Scheme 4 for **1** and lactate, involves simultaneous esterification and formation of a coordinate bond with the carboxylate group in the product **2**. The respective product with PBA has the structure **3**. Thus, the strength of carboxylate binding to the boron atom of both acids should be manifested in relative stability constants of

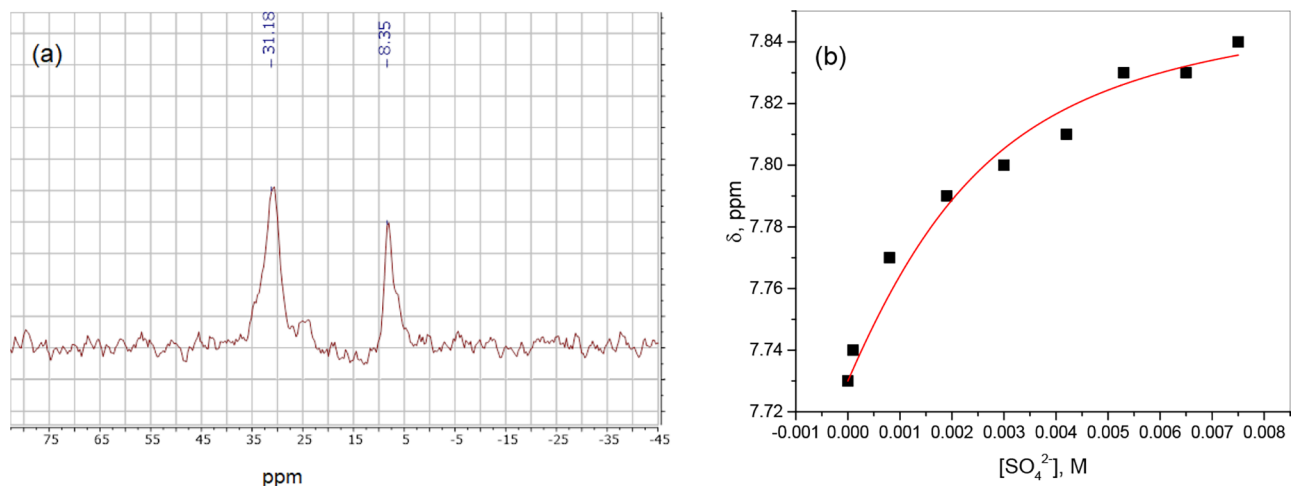


Figure 5. (a) ^{11}B NMR (128.3 MHz) spectrum of 4 mM **1** in the presence of 9.5 mM SO_4^{2-} . (b) Fitting of the profile of the chemical shift of the *ortho* aromatic proton of **1** vs the concentration of “free” sulfate anions (see the text for explanation) to eq 1.

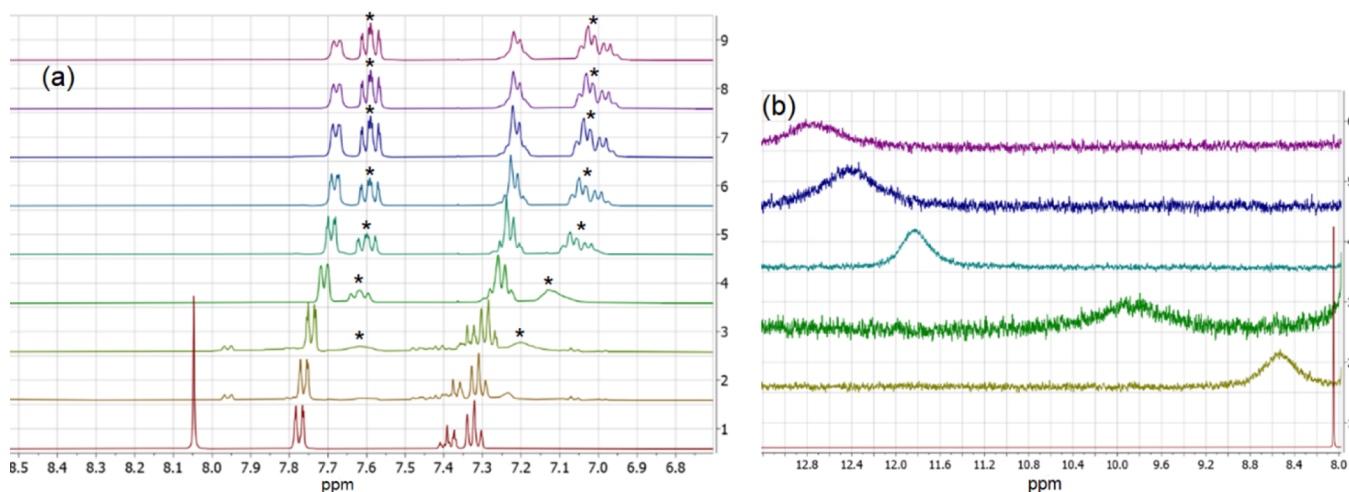


Figure 6. (a) ^1H NMR (400 MHz) spectra of 4.2 mM PBA in the presence (from the bottom to top) of 0, 0.6, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 5.4, 6.4, and 7.3 mM PhPO_3^{2-} . (b) Expanded down-field area of the spectra obtained with 0.6–4.4 mM PhPO_3^{2-} . Asterisks mark the signals of the phenyl group of PhPO_3^{2-} .

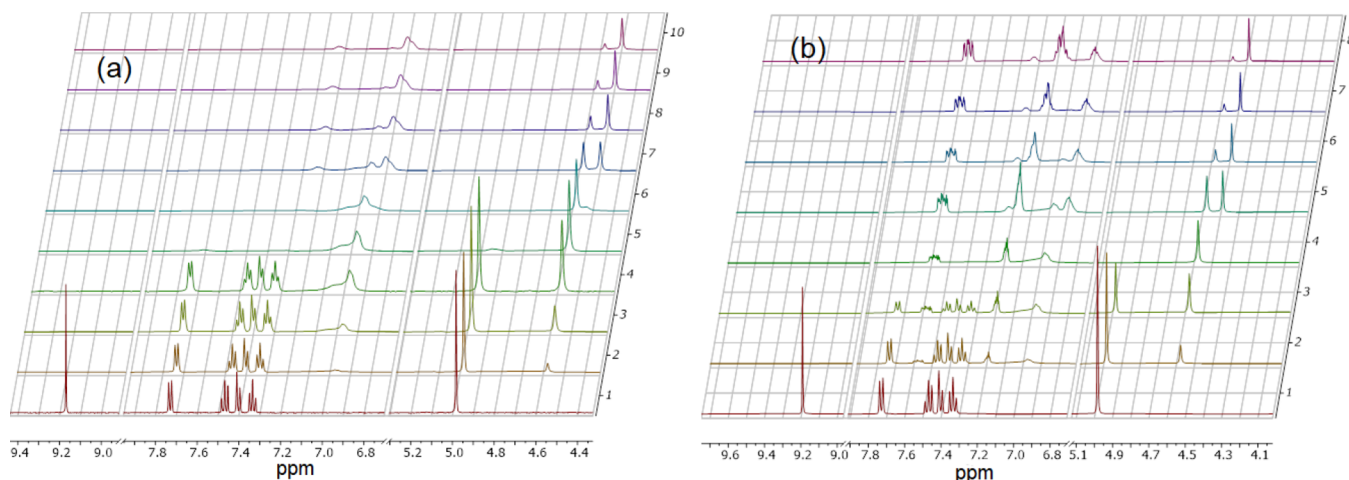


Figure 7. (a) ^1H NMR (400 MHz) spectra of 5 mM **1** in the presence (from the bottom to top) of 0, 1.0, 2.0, 2.9, 4.8, 6.5, 9.1, 11.5, 13.8, and 16.6 mM HPO_4^{2-} . (b) ^1H NMR (400 MHz) spectra of 4.4 mM **1** in the presence (from the bottom to top) of 0, 0.6, 1.1, 2.2, 3.3, 4.4, 6.4, and 7.3 mM PhPO_3^{2-} .

Scheme 4. Formation of Diastereomeric Complexes of L-Lactate with 1 and PBA

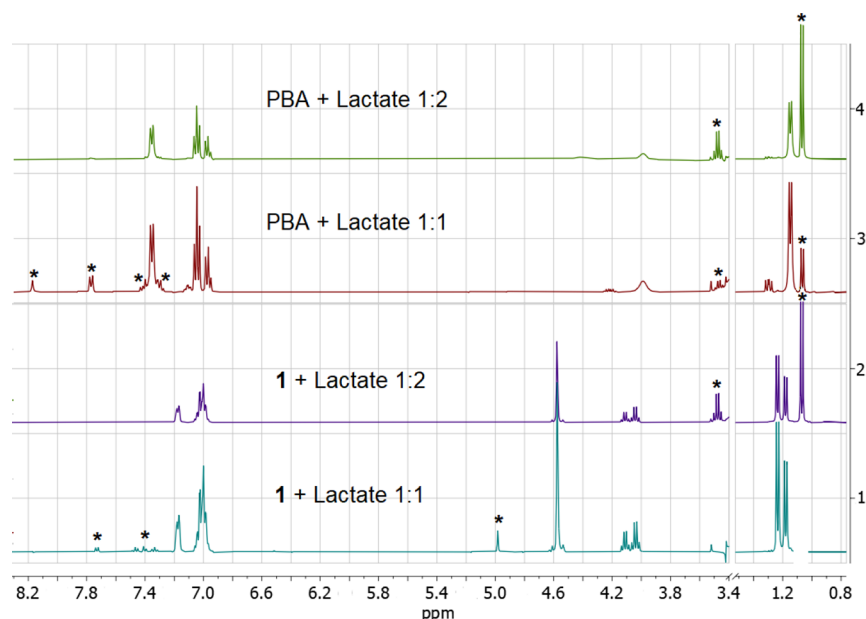
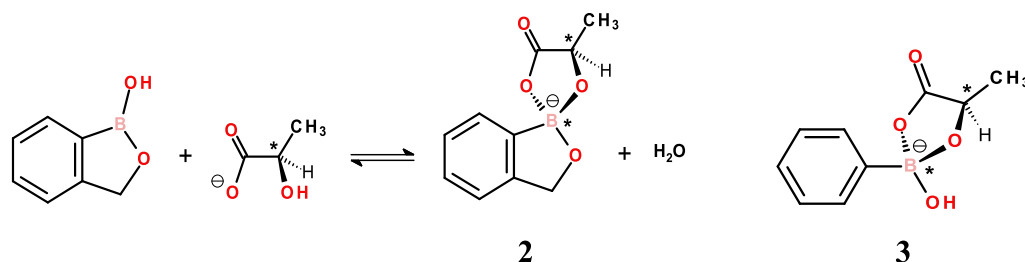


Figure 8. ^1H NMR (400 MHz) spectra of 5 mM **1** (1 and 2) or PBA (3 and 4) in the presence of 5 mM (1 and 3) or 10 mM (2 and 4) sodium lactate. Signals of free components are marked by asterisks.

complexes **2** and **3**, assuming the same strength of the ester bond in both complexes.

The course of ^1H NMR titrations of **1** and PBA by sodium L-lactate is shown in Figure S14a,b. Figure 8 illustrates the spectra of the reaction mixtures obtained in the presence of 1 and 2 molar equivalents of L-lactate in respect of **1** or PBA. As should be expected in the case of the ester formation, the complexation is slow in the NMR time scale. In a 1:1 mixture with **1**, the complex formation is nearly quantitative (Figure 8, spectrum 1). Very weak signals of free **1** are marked by asterisks, and signals of free L-lactate are practically undetectable. With an excess of L-lactate (spectrum 2), even trace signals of the free **1** disappear and signals of free L-lactate, the Me group doublet at 1.09 and the CH group quartet at 3.54 ppm, marked by asterisks, co-exist with signals of the bound lactate. Two sets of signals of bound lactate, doublets at 1.18 and 1.23 ppm and quartets at 4.04 and 4.11 ppm, apparently are observed because of the formation of a mixture of diastereomeric complexes **2** created due to the induced chirality at the tetrahedral boron atom. The signal of ^{11}B NMR recorded with an excess of L-lactate appears at 11.23 ppm, confirming the tetrahedral structure of the complexed boronate. An estimate of the stability constant from the integration of the signals of free and bound **1** gives the value of $K_A = 3.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

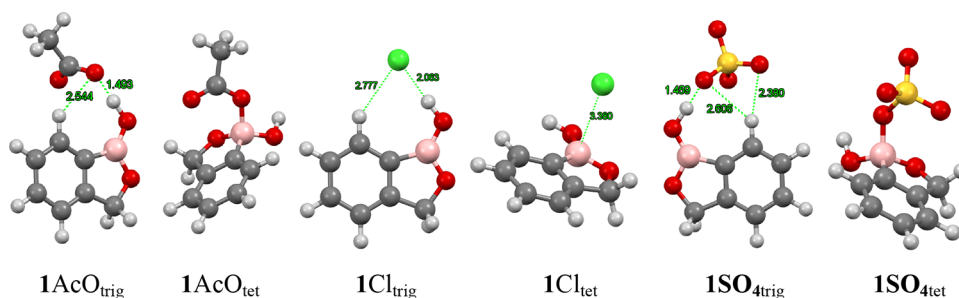
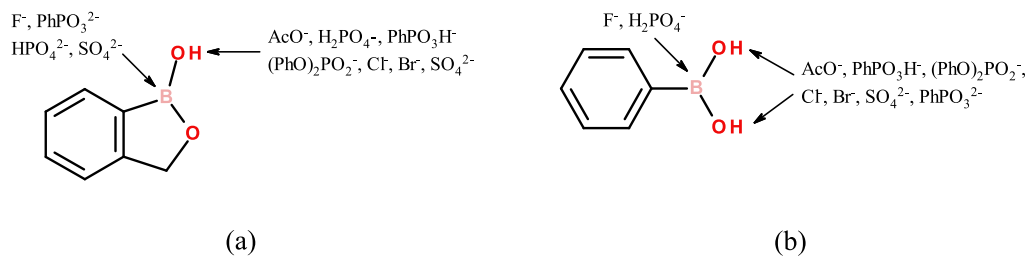
The interaction with PBA is much weaker as is evidenced by a significant intensity of the signals of free PBA and lactate in a

1:1 mixture (Figure 8, spectrum 3). From the integration of the signals, one obtains in this case the value of $K_A = 4.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, one order of magnitude smaller than for **1**. The signal of ^{11}B NMR recorded with an excess of L-lactate appears in this case at 6.96 ppm in agreement with the tetrahedral structure of the complexed boronate. Interestingly, only one set of signals of the bound L-lactate, a doublet at 1.15 and unresolved quartet at 3.98 ppm, is observed in this case (Figure 8, spectrum 4), indicating the formation of a single diastereomer of the complex **3**. Seemingly, the chiral induction for PBA occurs with a higher selectivity than **1**.

Assuming a similar contribution of the boronate ester bond to the stability of L-lactate complexes **2** and **3**, one may conclude that the carboxylate anionic group has ca. 10 times higher affinity to the boron atom of **1** than to the boron atom of PBA. This difference is smaller than that for the OH^- anion in water (see Introduction) but significant enough to confirm the increased Lewis acidity of **1** also toward a carboxylate anion.

DFT-Optimized Structures of Benzoxaborol Anion Complexes. To get an additional support to the identification of the binding type of anions to **1** established on basis of NMR titrations, the structures of H-bonded and coordinate complexes of **1** with anions were optimized by DFT calculations. Previously, the B97-D3 functional with the 6-31+G(d) or Def2TZVP basis set was used to optimize both H-bonded and coordinate anion-PBA complexes.⁶ However, the

Scheme 5. DFT-Calculated Structures with Selected Interatomic Distances

Scheme 6. Preferable Binding Sites of Anions to (a) **1** and (b) PBA

B97-D functional was found to perform less satisfactory for the dative bonding in substituted boranes, for which significantly better results were obtained with the M06-2X functional.²⁶ The performance of M06-2X for H-bonded interactions is similar to that of the B97-D functional,²⁷ and therefore, we chose to use the M06-2X functional with the Def2TZVP basis set for structure optimization. Mean absolute deviations in the interaction energy for the M062X functional are estimated as 0.30–0.50 kcal/mol both for H-bonded and dative interactions.^{26,27} The calculations were performed in DMSO or MeCN medium with the Solvation Model Based on Density (SMD) method of solvation.²⁸ The SMD method gives accurate solvation energies for singly charged cations and anions but is not tested for doubly charged species. It may still perform satisfactory for the low basic sulfate dianion, but with highly basic strongly solvated phosphate dianions, the calculation results should be considered as rather approximate. The representative calculated structures with selected interatomic distances are shown in Scheme 5, and the total energies for all calculated complexes are given in Table S1.

The calculated structure of the hydrogen bonded complex with acetate (**1AcO_{trig}**) confirms the simultaneous formation of a weak CH...O hydrogen bond with the aromatic CH proton of **1**: the CH...O distance 2.54 Å is shorter than the sum of van der Waals radii 2.72 Å. The respective coordinately bonded complex (**1AcO_{tet}**) has a higher energy by 0.86 kcal/mol, in agreement with the preferable formation of the H-bonded complex. Similar results confirming the preferable formation of H-bonded complexes were obtained for phosphate and phosphonate monoanions with energies of H-bonded complexes lower than those of coordinate complexes by 4.0, 7.4, and 3.0 kcal/mol for H₂PO₄⁻, (PhO)₂PO₂⁻, and PhPO₃H⁻ anions, respectively, as follows from the results in Table S1.

The calculated structure of the hydrogen-bonded chloride complex (**1Cl_{trig}**, Scheme 5) also confirms the formation of an additional CH...Cl hydrogen bond (the sum of van der Waals radii in this case is 2.95 Å). The energy minimization of the coordinately bonded complex (**1Cl_{tet}**) predicts no interaction: the distance of Cl–B is exactly the sum of van der Waals radii

3.4 Å and the boron atom conserves its trigonal planar geometry. The calculated energy for **1Cl_{tet}** is 7.05 kcal/mol higher than that for the H-bonded **1Cl_{trig}**.

The calculated structures of sulfate complexes **1SO_{4trig}** and **1SO_{4tet}** have very close energies (Table S1) with **1SO_{4trig}** being just by 0.28 kcal/mol more stable than **1SO_{4tet}**. This result agrees with approximately equal stability constants of the H-bonded and the coordinate complexes found experimentally (Table 1, entries 7 and 8). The results for phosphate and phosphonate dianions (Table S1) confirm the preferable formation of coordinate complexes, which have lower energies than the respective H-bonded complexes by 3.9 and 3.2 kcal/mol, but in view of the abovementioned possible deficiency of the solvation model with these highly basic and highly charged species, these results should be taken only as qualitative evidence.

Thus, generally the calculations support the experimentally observed H-bonded or coordinate type of anion binding to **1**.

General Discussion. The ability of **1** to form quite stable monodentate hydrogen-bonded complexes with anions allows one to estimate the magnitude of the chelate effect for the bidentate binding by PBA. The ratio of association constants $K_A(\text{PBA})/K_A(\mathbf{1})$ in DMSO is about 10 for the majority of anions, increases to 28 for acetate, and decreases to 2.5 for weakly bound voluminous (PhO)₂PO₂⁻. In MeCN solvent, this ratio is about 10 for all anions studied. These results can be compared with available data for anion complexation with mono- and diol molecules. There are no data for such receptors in DMSO, but the reported results in MeCN show that the ratio of association constants for Cl⁻ (the only anion for which systematic results are available) is equal to 21 for the pair catechol/phenol,²⁹ 3.6 for the pair fluorinated 1,3-benzenedimethanol/benzyl alcohol,³⁰ and 1.5 for the pair 1,3-propanediol/propanol.³¹ Although the comparison is only qualitative because of variable space arrangements and variable acidity of OH groups in diols, the magnitude of the chelate effect in PBA toward Cl⁻ ($K_{\text{PBA}}/K_1 = 7$ in MeCN) is of similar order.

Scheme 6 summarizes the assignments of binding sites of **1** and PBA for different anions established in DMSO or MeCN (for Cl^- and Br^-).

There are more anions coordinately bound to boron for **1** than for PBA, as one would expect, but the reason of the binding preference is not always obvious. There is one “boronophilic” anion, F^- , which in both cases prefer boron, and several “protonophilic” anions (AcO^- , Cl^- , Br^- , PhPO_3H^- , and $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$), which in both cases prefer the hydrogen bonding. At the same time, PhPO_3^{2-} and SO_4^{2-} are hydrogen-bonded to PBA but are bound to boron in **1**, although SO_4^{2-} conserves also the simultaneous hydrogen bonding mode in **1**. Finally, H_2PO_4^- switches the preferable binding site in the opposite direction: from the coordinate bonding in PBA to the hydrogen bonding in **1**.

To rationalize these observations, one needs to consider at least three characteristics of anions: basicity, size, and shape. The increased basicity should be favorable for the binding to both sites, although not necessarily to the same extent, while a large size creating the steric repulsion should be more harmful for the coordinate bonding occurring at a shorter distance than the hydrogen bonding. The anion shape can be essential for the optimum fit of the proton acceptor sites of the anion to both proton donor OH groups of PBA. All these aspects are discussed in detail below.

Table 1 collects the available pK_a values for conjugated acids of anions in DMSO, which can be considered as a measure of their basicity. The first and second pK_a of phenylphosphonic acid in water (1.86 and 7.51)³² are very close to the respective values for phosphoric acid, and therefore, the basicity of PhPO_3H^- and PhPO_3^{2-} anions should be like that of H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} , respectively. Both phosphate and phosphonate dianions should be the most basic species among all anions studied in this work. Finally, the hydrogen diphenyl phosphate is known to behave as a strong acid with no measurable pK_a in water³³ and therefore $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$ should be a less basic anion than H_2PO_4^- . Thus, the expected order of increased basicity for all anions is $\text{Br}^- < \text{Cl}^- < (\text{PhO})_2\text{PO}_2^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{H}_2\text{PO}_4^- \approx \text{PhPO}_3\text{H}^- < \text{AcO}^- < \text{F}^- < \text{HPO}_4^{2-} \approx \text{PhPO}_3^{2-}$.

Using pK_a values as a basicity scale is a traditional approach, which should be suitable for analysis of the stability of hydrogen-bonded complexes. Less evident is the suitability of pK_a values for analysis of stability of Lewis acid–base pairs, but since both H^+ and B(III) centers are “hard” according to the R. G. Pearson classification,³⁴ the same basicity scale should be valid for both types of complexes.

Figure 9 shows the association constants K_A for hydrogen-bonded complexes of **1** and PBA versus the pK_a of the conjugated acids of anions in DMSO and MeCN. For Br^- , Cl^- , and AcO^- anions, one observes approximately linear increase in $\log K_A$ for more basic anions with points for PBA shifted to higher values by 1 logarithmic unit due to the chelate effect.

Strong positive deviations are observed for SO_4^{2-} with both boronic acids. A much stronger binding of significantly less basic sulfate as compared to acetate seems strange. A larger negative charge of sulfate should be irrelevant for the binding to a neutral host. However, a similar effect is observed for the H-bonded complexation with *N,N'*-dialkylureas in DMSO: *N,N'*-diethylurea binds sulfate with the association constant $K_A = 1405 \text{ M}^{-1}$,³⁵ but for the binding of acetate to *N,N'*-dimethylurea, $K_A = 45 \text{ M}^{-1}$.³⁶ A tentative explanation is that in the case of PBA, sulfate oxygens are better preorganized for the chelate complexation with two OH groups,^{4c} and in the case of

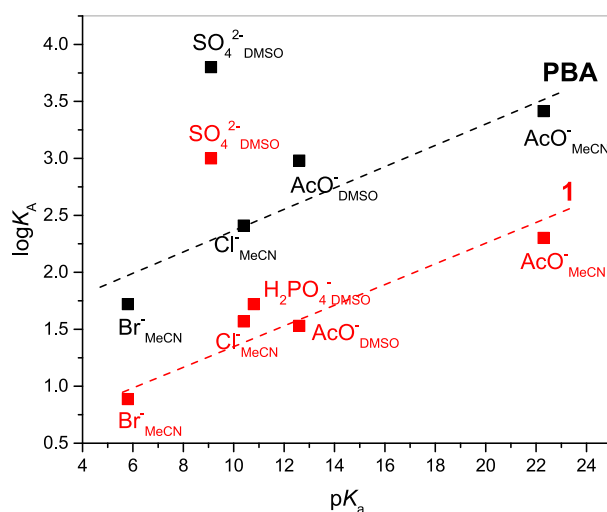


Figure 9. Logarithms of association constants K_A for hydrogen-bonded complexes of **1** (red squares) and PBA (black squares) vs pK_a of the conjugated acids of anions in DMSO and MeCN.

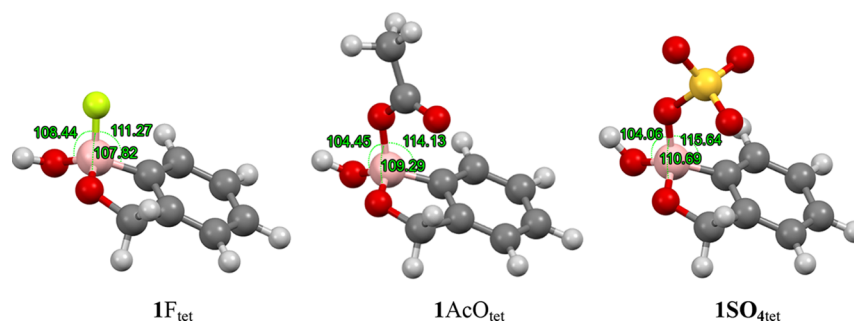
1, the simulated structure of $\text{ISO}_{4\text{trig}}$ (Scheme 5) predicts an additional short-distance $\text{S}\cdots\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{C}$ contact between the anion and the aromatic group of the receptor.

Another parameter reflecting the interaction strength is the complexation-induced shift in the position of the B–OH signal. From Table 1, one can see that for PBA, the shift varies from 0.85 to 4.96 ppm, increasing in the order $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^- < \text{PhPO}_3\text{H}^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{AcO}^- < \text{PhPO}_3^{2-}$. The complexation-induced shift for **1** varies from 0.5 to 2.6 ppm in the order $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{AcO}^-$. In both cases, the complexation-induced shift increases exactly in the order of increasing basicity of anions. Thus, by this criterion, the relative strength of the sulfate hydrogen bond corresponds to its relative basicity and is not anomalously large, and therefore the higher stability of sulfate complexes should be due to the structural geometric factors discussed above.

The results for the coordinate complexation of anions show a very strong influence of steric effects and a clear requirement of very high basicity of the anion for the efficient coordinate binding to boron. Thus, in the series of phosphate/phosphonate anions, one observes only hydrogen bonding for bulky and low basic $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$ and PhPO_3H^- with both PBA and **1**, but switching from the H-bonding complexation with PBA to the coordinate complexation with **1** for still bulky, but strongly basic dianion PhPO_3^{2-} . The smallest in this series H_2PO_4^- anion binds coordinately to PBA, but with sterically more encumbered **1**, it prefers less restricted hydrogen bonding. The steric hindrance in **1** can be attributed to the presence of *ortho*-methylene group. Indeed, the incorporation of an *ortho*-methyl substituent in PBA increases the pK_a value of the boronic acid by one logarithmic unit to 9.7,³⁷ reducing by one order of magnitude the affinity of even a small OH^- anion to boron.

To visualize the steric effect, one may compare the angles around the B atom in DFT-calculated structures of tetrahedral complexes of **1** with small F^- (IF_{tet}) and larger acetate (1AcO_{tet}) and sulfate ($\text{1SO}_{4\text{tet}}$) anions (Scheme 7). In the fluoride complex, the B atom has nearly perfect tetrahedral arrangement, but with larger anions, the arrangement becomes progressively more distorted with the O–B–O angle opposite to

Scheme 7. DFT-Calculated Structures with Selected Angles Around the B Atom



the methylene group decreasing from 108.44 to 104.45 and 104.06°.

The results for other anions confirm that the coordinate complexation with **1** (see Scheme 6a) takes place only with highly basic anions with the exclusion of a low basic sulfate dianion. There are insufficient data for the analysis of the coordinate anion binding in terms of $\log K_A$ vs pK_a correlation of the type shown in Figure 9 for hydrogen-bonded complexes, but qualitatively, it seems that the slope of such correlation would be much larger with undetectably small stability of coordinate complexes with low basic anions, but high stability surpassing the stability of hydrogen-bonded complexes for strongly basic anions.

CONCLUSIONS

The structural features of benzoxaborole causing its increased Lewis acidity are very much favorable for polyol/sugar recognition,¹⁰ but generally, they do not have equal positive effect on the recognition of anions. An expected change of the binding type from H-bonding with PBA to coordinate bonding with more electrophilic benzoxaborole does not occur with the majority of tested anions. Moreover, H_2PO_4^- , which is coordinately bonded to PBA, prefers a much less efficient H-bonding with benzoxaborole. The most probable reason for this behavior is the unexpectedly strong steric effect of the *ortho*-methylene group of benzoxaborole. Only the smallest anions F^- and OH^- clearly prefer the coordinate bonding, but larger anions experience a significant steric hindering and prefer the inefficient for benzoxaborole H-bonding to its single OH group. However, with strongly basic anions HPO_4^{2-} and PhPO_3^{2-} , apparently having very large affinity to the boron atom, the coordinate bonding predominates. Thus, well-known Lewis acidity of boronic acids is essential in anion recognition for either very small or very basic anions, while larger and moderately basic anions are recognized preferably through the H-bonding.

In the practical aspect, the results of this study indicate that benzoxaborole should be a potentially efficient receptor for usually highly basic polyphosphates, in particular for important analytes such as pyrophosphate.³⁸ Another type of analyte for which benzoxaborole has an advantage over PBA are alpha-hydroxy carboxylate anions like L-lactate. In this case, the carboxylate coordinate binding is enforced by the chelate effect due to esterification of the hydroxy group and is much stronger for more acidic benzoxaborole.

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Methods. Commercially available boronic acids and tetrabutylammonium salts of acetate, halides, and

dihydrogen phosphate were used as supplied. Stock solutions of sulfate, phenylphosphonate, and diphenyl phosphate salts were prepared in DMSO by neutralization of respective acids by 40% wt (Bu_4N)OH. The water content in titration experiments was below 0.5% by volume. All titration experiments were performed with equilibrated solutions incubated at 25 °C for at least 1 h before starting the titration experiment and making at least 5 min intervals between additions of titrant aliquots.

¹¹B NMR Measurements. ¹¹B NMR spectra were recorded in quartz tubes at 128.3 or 160.5 MHz with NaBH_4 in $\text{DMSO}-d_6$ (−37.3 ppm) as the external standard using the instrumental parameters similar to those employed previously.⁷ Chemical shifts given in Table 1 and throughout the text are converted to the usual $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ scale.

NMR Titrations. To a 5 mM solution of **1** or PBA in $\text{DMSO}-d_6$ or $\text{MeCN}-d_3$, portions of concentrated solutions of anion salt in the same solvent were added, and the mixture was incubated for at least 10 min after each addition before recording the spectrum. The observed association constants (K_A) were calculated from the chemical shift (δ_{obs}) vs concentration of anion (L) profiles by nonlinear least squares fitting to eq 1. In eq 1, subscript T stands for the total concentration, δ_0 is the chemical shift of a given proton of the free boronic acid B measured in the absence of L, and $\Delta\delta$ is the difference in the chemical shifts of a given proton between the complex and free boronic acid.

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_0 + 0.5\Delta\delta\{[\text{L}]_T + [\text{B}]_T + 1/K_{\text{obs}} - (([\text{L}]_T + [\text{B}]_T + 1/K_{\text{obs}})^2 - 4[\text{L}]_T[\text{B}]_T)^{0.5}\}/[\text{B}]_T \quad (1)$$

The fittings were performed with chemical shifts of all protons of boronic acid, which demonstrated noticeable complexation-induced shifts in the presence of a given anion and the calculated binding constants were averaged to give the values of the binding constants shown in Table 1. For the majority of anions, the titration plots reached at least 80% of complexation of the boronic acid. With weakly bound $(\text{PhO})_2\text{PO}_2^-$ and Br^- anions, titrations were performed up to 50% of complexation.

The amount of water in DMSO was estimated from the position of the water ¹H NMR signal.³⁹ The commercial samples of $\text{DMSO}-d_6$ used in titration experiments contained about 0.1% wt H_2O , and amounts of water introduced with usually hygroscopic tetrabutylammonium salts of anions reached in some cases 0.5% wt. To estimate a possible effect of added water, the association constants of **1** with acetate were determined in a separate series of experiments with 0.1, 0.3, and 0.5% of added water and the respective K_A values were found to be 51 ± 9 , 55 ± 4 , and $44 \pm 7 \text{ M}^{-1}$. From these results, the effect of variable content of water on association constants is less than 20%. No variations in ¹H NMR chemical shifts of boronic acids in this range of water content as well as on the acid dilution (10 to 2 mM) were observed.

Calculation Methods. The structures of benzoxaborole complexes were optimized using density functional theory (DFT) with the M062X functional⁴⁰ and Def2TZVP basis set⁴¹ as implemented in Gaussian 09.⁴² The free benzoxaborole structure was optimized starting from coordinates of the reported crystal structure. There are no imaginary frequencies in frequency analysis of all calculated

structures. The calculations were performed with the Solvation Model Based on Density (SMD) method to take into account the solvation effect.²⁸

■ ASSOCIATED CONTENT

SI Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.2c00324>.

Detailed ¹H and ¹¹B NMR titrations with several anions, fitting profiles illustrating determinations of stability constants, absolute energies, and Cartesian coordinates for calculated structures (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Anatoly K. Yatsimirsky – *Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México;*
orcid.org/0000-0002-4616-4831; Email: iatsimirski46@comunidad.unam.mx

Authors

Mayte A. Martínez-Aguirre – *Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México*

Luis Ramón Ortega-Valdovinos – *Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México;* orcid.org/0000-0002-7121-0721

Raúl Villamil-Ramos – *Centro de Investigaciones Químicas-IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, C.P. 62209 Cuernavaca, Morelos, México*

Complete contact information is available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.2c00324>

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

Financial support was provided by Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9042), Facultad de Química de la UNAM. M.A.M.-A. and L.R.O.-V. thank CONACyT for the Posdoctoral (443015) and Doctoral fellowships, respectively.

■ REFERENCES

- (1) (a) Gale, P. A.; Howe, E. N. W.; Wu, X. Anion Receptor Chemistry. *Chem* **2016**, *1*, 351–422. (b) Chen, L.; Berry, S. N.; Wu, X.; Howe, E. N. W.; Gale, P. A. Advances in Anion Receptor Chemistry. *Chem* **2020**, *6*, 61–141.
- (2) Martínez-Aguirre, M. A.; Yatsimirsky, A. K. Bronsted versus Lewis Acid Type Anion Recognition by Arylboronic Acids. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4985–4993.
- (3) (a) Galbraith, E.; James, T. D. Boron based anion receptors as sensors. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3831–3842. (b) Wade, C. R.; Broomsgrove, A. E. J.; Aldridge, S.; Gabbai, F. P. Fluoride Ion Complexation and Sensing Using Organoboron Compounds. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3958–3984. (c) Guo, Z.; Shin, I.; Yoon, J. Recognition and sensing of various species using boronic acid derivatives. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5956–5967. (d) Wu, X.; Chen, X.-X.; Jiang, Y.-B. Recent advances in boronic acid-based optical chemosensors. *Analyst* **2017**, *142*, 1403–1414.
- (4) (a) Hiscock, J. R.; Wells, N. J.; Ede, J. A.; Gale, P. A.; Sambrook, M. R. Biasing hydrogen bond donating host systems towards chemical warfare agent recognition. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9560–9567. (b) Martínez-Aguirre, M. A.; Otero, D. M.; Álvarez-Hernández, M. L.; Torres-Blancas, T.; Dorazco-González, A.; Yatsimirsky, A. K. Anion and sugar recognition by 2,6-pyridinedicarboxamide bis-boronic acid derivatives. *Heterocycl. Commun.* **2017**, *23*, 171–180. (c) Ortega-Valdovinos, L. R.; Valdes-García, J.; Bazany-Rodríguez, I. J.; Lugo-González, J. C.; Dorazco-González, A.; Yatsimirsky, A. K. Anion recognition by anthracene appended *ortho*-aminomethylphenylboronic acid: a new PET based sensing mechanism. *New J. Chem.* **2021**, *45*, 15618–15628.
- (5) (a) Hall, D. G. Boronic acid catalysis. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 3475–3496. (b) Zhang, S.; Leboeuf, D.; Moran, J. Bronsted Acid and H-Bond Activation in Boronic Acid Catalysis. *Chem. – Eur. J.* **2020**, *26*, 1–7.
- (6) Orenha, R. P.; Cintra, C. H.; Peixoto, L. B.; da Silva, E. H.; Caramori, G. F.; Ortolan, A. O.; Piotrowski, M. J.; Parreira, R. L. T. The anionic recognition mechanism based on polyol and boronic acid receptors. *New J. Chem.* **2020**, *44*, 5564–5571.
- (7) Kazmi, M. Z. H.; Rygus, J. P. G.; Ang, H. T.; Paladino, M.; Johnson, M. A.; Ferguson, M. J.; Hall, D. G. Lewis or Bronsted? A Rectification of the Acidic and Aromatic Nature of Boranol-Containing Naphthoid Heterocycles. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 10143–10156.
- (8) Diemoz, K. M.; Franz, A. K. NMR Quantification of Hydrogen-Bond-Activating Effects for Organocatalysts including Boronic Acids. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 1126–1138.
- (9) (a) Adamczyk-Woźniak, A.; Borys, K. M.; Sporzynski, A. Recent Developments in the Chemistry and Biological Applications of Benzoboroles. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 5224–5247. (b) Liu, C. T.; Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. The unique chemistry of benzoboroles: Current and emerging applications in biotechnology and therapeutic treatments. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4462–4473.
- (10) Bérubé, M.; Dowlut, M.; Hall, D. G. Benzoboroxoles as Efficient Glycopyranoside-Binding Agents in Physiological Conditions: Structure and Selectivity of Complex Formation. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6471–6479.
- (11) Torssel, K.; McClendon, J. H.; Somers, G. F. Chemistry of arylboronic acids. VIII. The relationship between physico-chemical properties and activity in plants. *Acta Chem. Scand.* **1958**, *12*, 1373–1385.
- (12) Martínez-Aguirre, M. A.; Alamo, M. F.; Trejo-Huizar, K. E.; Yatsimirsky, A. K. Boronic acid complexes with amino phenolic N,O-ligands and their use for non-coordinate protein fluorescence labeling. *Bioorg. Chem.* **2021**, *113*, 104993.
- (13) Drago, R. S.; Wayland, B. B. A Double-Scale Equation for Correlating Enthalpies of Lewis Acid-Base Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3571–3577.
- (14) Boer, S. A.; Foyle, E. M.; Thomas, C. M.; White, N. G. Anion coordination chemistry using O–H groups. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 2596–2614.
- (15) Peters, J. A. Interactions between boric acid derivatives and saccharides in aqueous media: Structures and stabilities of resulting esters. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- (16) Boiocchi, M.; Del Boca, L.; Esteban-Gómez, D.; Fabbri, L.; Licchelli, M.; Monzani, E. Anion-Induced Urea Deprotonation. *Chem. – Eur. J.* **2005**, *11*, 3097–3104.
- (17) Cai, J.; Sessler, J. L. Neutral CH and cationic CH donor groups as anion receptors. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 6198–6213.
- (18) Kwon, J. Y.; Jang, Y. J.; Kim, S. K.; Lee, K.-H.; Kim, J. S.; Yoon, J. Unique Hydrogen Bonds between 9-Anthracenyl Hydrogen and Anions. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5155–5157.
- (19) Barišić, D.; Tomišić, V.; Bregović, N. Acid-base properties of phosphoric and acetic acid in aprotic organic solvents - a complete thermodynamic characterization. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1046*, 77–92.
- (20) Kolthoff, I. M.; Reddy, T. B. Acid-Base Strength in Dimethyl Sulfoxide. *Inorg. Chem.* **1962**, *1*, 189–194.
- (21) Reich, H. *Equilibrium pKa Table (DMSO Solvent and Reference)*; ACS Division of Organic Chemistry: 2021. https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/pka/pka_data/pka-compilation-reich-bordwell.pdf

- (22) Oliveira, R. A.; Silva, R. O.; Molander, G. A.; Menezes, P. H. ¹H, ¹³C, ¹⁹F and ¹¹B NMR spectral reference data of some potassium organotrifluoroborates. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 873–878.
- (23) (a) Katayev, E. A.; Ustynyuk, Y. A.; Sessler, J. L. Receptors for tetrahedral oxyanions. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 3004–3037. (b) Mateus, P.; Bernier, N.; Delgado, R. Recognition of anions by polyammonium macrocyclic and cryptand receptors: Influence of the dimensionality on the binding behavior. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 1726–1747.
- (24) Kubik, S.; Reyheller, C.; Stüwe, S. Recognition of Anions by Synthetic Receptors in Aqueous Solution. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2005**, *52*, 137–187.
- (25) Vshyvenko, S.; Clapson, M. L.; Suzuki, I.; Hall, D. G. Characterization of the Dynamic Equilibrium between Closed and Open Forms of the Benzoxaborole Pharmacophore. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 1097–1101.
- (26) Janesko, B. G. Using Nonempirical Semilocal Density Functionals and Empirical Dispersion Corrections to Model Dative Bonding in Substituted Boranes. *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 1825–1833.
- (27) Burns, L. A.; Mayagoitia, Á. V.; Sumpter, B. G.; Sherrill, C. D. Density-functional approaches to noncovalent interactions: A comparison of dispersion corrections (DFT-D), exchange-hole dipole moment (XDM) theory, and specialized functionals. *J. Chem. Phys.* **2011**, *134*, No. 084107.
- (28) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 6378–6396.
- (29) Smith, D. K. Rapid NMR screening of chloride receptors: uncovering catechol as a useful anion binding motif. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3874–3877.
- (30) Busschaert, N.; Jaramillo-Garcia, J.; Light, M. E.; Herniman, J.; Langley, G. J.; Gale, P. A. An anion-binding fluorinated alcohol isophthalamide isostere. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 5389–5393.
- (31) Shokri, A.; Wang, X.-B.; Wang, Y.; O'Doherty, G. A.; Kass, S. R. Flexible Acyclic Polyol-Chloride Anion Complexes and Their Characterization by Photoelectron Spectroscopy and Variable Temperature Binding Constant Determinations. *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120*, 1661–1668.
- (32) Nagarajan, K.; Shelly, K. P.; Perkins, R. R.; Stewart, R. Arylphosphonic acids. I. Substituent effects on their first and second dissociations. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 1729–1733.
- (33) Davis, M. M.; Hetzer, H. B. Titrations of Bases with Diphenyl Phosphate in Some Aqueous and Nonaqueous Solvents. *J. Res. Natl. Bur. Stand.* **1955**, *54*, 309–320.
- (34) Pearson, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533–3539.
- (35) Jia, C.; Wang, Q.-Q.; Begum, R. A.; Day, V. W.; Bowman-James, K. Chelate effects in sulfate binding by amide/urea-based ligands. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 6953–6957.
- (36) Fan, E.; van Arman, S. A.; Kincaid, S.; Hamilton, A. D. Molecular recognition: hydrogen-bonding receptors that function in highly competitive solvents. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 369–370.
- (37) Yabroff, D. L.; Branch, G. E. K.; Bettman, B. The Relative Strengths of Some Hydrocarbon Derivatives of Boric Acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 1850–1857.
- (38) Sanjoh, M.; Iizuka, D.; Matsumoto, A.; Miyahara, Y. Boronate Based Metal-Free Platform for Diphosphate-Specific Molecular Recognitions. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 588–591.
- (39) Kang, E.; Park, H. R.; Yoon, J.; Yu, H.-Y.; Chang, S.-K.; Kim, B.; Choi, K.; Ahn, S. A simple method to determine the water content in organic solvents using the ¹H NMR chemical shifts differences between water and solvent. *Microchem. J.* **2018**, *138*, 395–400.
- (40) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, non-coordinate interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120*, 215–241.
- (41) Weigend, F. Accurate Coulomb-fitting basis sets for H to Rn. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 1057–1065.
- (42) Frisch, M. M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams-Young, D.; Ding, F.; Lipparini, V.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery, Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J. *GAUSSIAN 16 (Revision A.03)*; Gaussian Inc.: Wallingford, CT, 2016.