



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**“EFECTO DE SUSTITUYENTES Y DE LA ACIDEZ DEL MEDIO SOBRE LA
ESTABILIDAD DE ÉSTERES DE ÁCIDOS ARILBORÓNICOS EN MEDIO
ACUOSO”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.I. MAYTE ABIGAIL MARTÍNEZ AGUIRRE



TUTOR: DR. ANATOLY K. YATSIMIRSKY

AÑO: 2014

Facultad de Química, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Jesús Valdés Martínez	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. José Norberto Farfán García	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Herbert Höpfl Bachner	UAEMorelos
Vocal	Dra. Elizabeth Gómez Pérez	Instituto de Química, UNAM
Secretario	Dr. Julio César Aguilar Cordero	Facultad de Química, UNAM

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México, por las instalaciones y todas las facilidades otorgadas para la realización de estudios de posgrado.
- Al Dr. Anatoly Yatsimirsky por los conocimientos brindados, su confianza y todo el apoyo otorgado.
- A los integrantes del jurado: Dr. Jesús Valdés Martínez, Dr. José Norberto Farfán García, Dr. Herbert Höpfl Bachner, Dra. Elizabeth Gómez Pérez y Dr. Julio César Aguilar Cordero por sus acertados comentarios 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 maestría (No. de registro 271108).
- Al Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM.
- A la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM, por permitir el uso del equipo de resonancia magnética nuclear.
- Al Dr. Jorge Guerrero Álvarez, del Centro de Investigaciones Químicas de la UAEMorelos, por la obtención de los espectros de resonancia magnética nuclear de boro.
- Al Dr. Raúl Villamil Ramos por su colaboración al inicio del proyecto.

*Con especial dedicación a mis abuelos Carlos Aguirre Jiménez y Otilia Martínez
Miranda, por el amor, atención y comprensión que me proporcionaron desde niña.*

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 registro 271108).

Los resultados de este trabajo se presentaron en:

- 8th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (8-ISMSC) en Arlington, Virginia. Julio 2013, bajo el título: “Stability of boronic acid-diol esters as a function of acidity of both components: a quantitative study”.
- QuimiUNAM 2013, México, D.F. Noviembre 2013, bajo el título: “Efecto de sustituyentes y de la acidez del medio sobre la estabilidad de ésteres de ácidos arilborónicos en agua”.

Publicación:

M. A. Martínez-Aguirre, R. Villamil-Ramos, J. A. Guerrero-Alvarez, A. K. Yatsimirsky, “Substituent Effects and pH Profiles for Stability Constants of Arylboronic Acid Diol Esters”, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 4674–4684.

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Å	Amstrongs
Abs	Absorbancia
ABFDB	Ácido bifenil 4,4'-diborónico
AFB	Ácido fenilborónico
AMDB	Ácido 1,3-fenildiborónico
APDB	Ácido 1,4-fenildiborónico
ARS	Rojo de alizarina S, (1,2-Dihroxiantraquinona-3-sulfónico)
β	Constante de formación acumulativa o global
CHES	Ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico
cps	Cuentas por segundo
DMSO	Dimetil sulfóxido
Eq	Equivalente
°C	Grados celsius
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
λ	Longitud de onda
M	Molar
MES	Ácido 2-morfolino etanosulfónico hidrato
MHz	Megahertz
mM	Milimolar
MOPS	Ácido 3-morfolino propanosulfónico
nm	Nanómetros
pH	Cologaritmo de la concentración de iones hidronio
pK_a	Cologaritmo de la constante de acidez
pK_w	Cologaritmo de la constante de autoionización del agua
ppm	Partes por millón
RMN 1H	Resonancia Magnética Nuclear de protón 1H

RMN ^{11}B	Resonancia Magnética Nuclear de boro ^{11}B
ρ	Constante de reacción en la ecuación de Hammett
σ	Parámetro de Hammett para los diferentes sustituyentes
TST	3, 3', 3', 3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5, 5', 6, 6'-tetraol
UV-Vis	Espectroscopia ultravioleta-visible

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. ÁCIDOS BORÓNICOS.....	3
2.1.1. Carácter ácido.....	3
2.1.2. Estabilidad química.	5
2.2. ÉSTERES BORÓNICOS.....	6
2.2.1. Enlace y estructura de ácidos y ésteres borónicos.	9
2.2.2. Hidrólisis de ésteres borónicos trigonales.....	10
2.2.3. Aplicaciones de los ésteres borónicos.....	12
2.3. MÉTODOS USADOS PARA DETERMINAR LAS CONSTANTES DE FORMACIÓN DE ÉSTERES BORÓNICOS.....	13
2.3.1. Depresión de pH.....	13
2.3.2. Espectrofotometría directa.....	14
2.3.3. Potenciometría.	14
2.3.4. Método de Competencia con ARS.....	15
2.3.5. Resonancia Magnética Nuclear de ¹¹ B.....	16
2.4. Ecuación de Hammett.	17
2.3.1. Correlación de Hammett para ácidos arilborónicos monosustituidos.....	20
2.5. Receptores basados en la interacción ácido borónico-diol.	23
2.6. Autoensamble de macrociclos a partir de ácidos diborónicos y bis(dioles).....	26
3. OBJETIVOS	30
3.1. OBJETIVO GENERAL	30
3.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	30
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	31
4.1. Reactivos.	31
4.2. Potenciometría.	31
4.3. Espectrofotometría UV-Vis y Fluorescencia.....	32
4.4. Resonancia Magnética Nuclear.....	33

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
5.1. ESTUDIO CON DIOLES.....	34
5.1.1. Potenciometría	37
5.1.2. Espectrofotometría UV-Vis y Fluorescencia.....	43
5.1.3. Resonancia Magnética Nuclear de ^{11}B	52
5.1.4. Análisis del efecto de sustituyentes en términos de relación de Brønsted	56
5.2. ESTUDIO CON ÁCIDOS DIBORÓNICOS.....	64
5.3. ESTUDIO CON BISDIOLES.....	71
6. CONCLUSIONES	85
7. ANEXOS	87
7.1. Valores de pK_a de dioles ^(a)	87
7.2. Titulaciones potenciométricas	87
7.3. Titulaciones espectrofotométricas UV-Vis	89
7.4. Titulaciones seguidas por $\text{rmn-}^{11}\text{B}$	91
8. ARTÍCULO	93
9. BIBLIOGRAFÍA.....	105

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los retos de la química con mayor auge en los últimos años es el reconocimiento molecular de ciertos analitos a partir de receptores sintéticos. En este sentido es de particular interés el desarrollo de sensores moleculares, moléculas capaces de reconocer selectivamente y de dar una señal por la presencia de un analito en tiempo real. Lo anterior obedece a la necesidad de monitorear compuestos con relevancia industrial, ambiental y biológica.

Los ácidos borónicos han sido usados ampliamente como unidades de reconocimiento en la construcción de sensores para sacáridos^[1], como transportadores de nucleótidos y carbohidratos^[2], y como ligantes para la separación de carbohidratos y glicoproteínas^[3]. Por lo tanto, el estudio de la reacción de complejación entre un ácido borónico y un diol que involucra la formación de ésteres borónicos, resulta de vital importancia para la química del reconocimiento molecular de sacáridos y de moléculas relacionadas.

Para el diseño de receptores moleculares basados en ácidos arilborónicos es necesario examinar los factores que afectan la afinidad entre el ácido borónico y el diol; sin embargo, el efecto de los sustituyentes en la estabilidad de los ésteres arilborónicos aún no ha sido analizado cuantitativamente a pesar de la importancia que esto implica para la elección correcta de un derivado de ácido borónico.

El objetivo principal de este trabajo fue realizar un estudio cuantitativo del efecto de los sustituyentes y de la acidez del medio en la estabilidad de ésteres formados a partir de ácidos borónicos y dioles de acidez variable, determinando los valores de las constantes de Hammett (ρ), lo que permitió obtener un perfil completo de los efectos electrónicos en la reacción de formación de los ésteres borónicos. Para obtener los valores de ρ , se determinaron las constantes de equilibrio correspondientes por titulaciones potenciométricas, ya que esta técnica provee mejores resultados debido a que las mediciones se realizan en ausencia de buffers y los ajustes requieren un número mínimo de parámetros.

Además, se investigó el efecto de los sustituyentes en las constantes de equilibrio observadas (K_{obs}), las cuales se determinaron experimentalmente por diferentes técnicas espectroscópicas a pH fijo. Dichas constantes son dependientes del valor de pH debido a que todos los componentes de la reacción, ácido borónico, diol y éster, experimentan procesos de disociación. Para la determinación de las K_{obs} , se eligió como reacción modelo la formación de los ésteres obtenidos a partir de diferentes ácidos borónicos sustituidos y un diol fluorescente soluble en agua, *Tiron*, que nos permitió determinar las constantes por espectrofotometría UV-Vis y fluorometría.

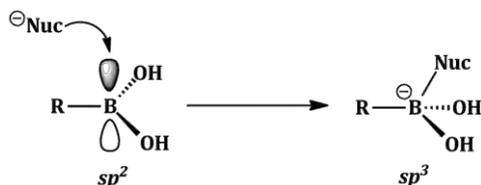
Adicionalmente los valores de las constantes de equilibrio observadas (K_{obs}) también se determinaron por RMN ^{11}B . Así, fue posible comparar los valores de las constantes de equilibrio determinadas por diferentes técnicas.

Cabe mencionar que los ácidos borónicos, además de estar involucrados en aplicaciones analíticas, se usan ampliamente como bloques de construcción en diferentes estructuras supramoleculares (macrociclos, jaulas, etc.).^[4] Para la construcción de dichas estructuras se han empleado ácidos bis- o tris-borónicos junto con bis- o tris-dioles, y todos los ensambles de este tipo reportados hasta la fecha se han realizado en fase sólida o en disoluciones no-acuosas. En el presente trabajo se realizó también un estudio preliminar de la termodinámica de formación de ésteres a partir de algunos ácidos bis-borónicos y bis-dioles, debido a que el auto-ensamble de estructuras supramoleculares basadas en ésteres borónicos en agua presenta un gran interés para la posible aplicación de dichas estructuras como anfitrionas para el reconocimiento molecular de varias especies iónicas y/o compuestos biológicos.

2. ANTECEDENTES

2.1. ÁCIDOS BORÓNICOS.

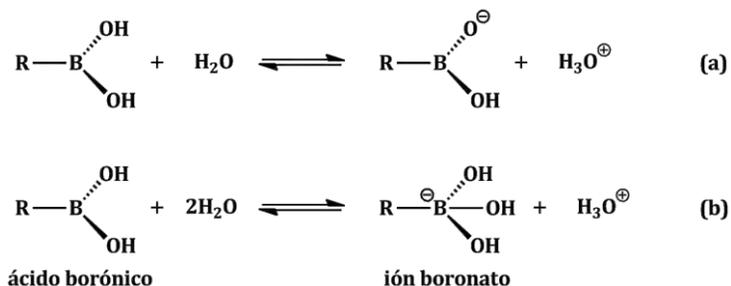
Los ácidos borónicos son compuestos organometálicos con una geometría trigonal plana que se caracterizan por tener un átomo de boro trivalente unido a un sustituyente alquilo o arilo y dos grupos hidroxilo (-OH). El átomo de boro con hibridación sp^2 posee un orbital p vacante lo cual confiere a los ácidos borónicos la propiedad de actuar como ácidos de Lewis, y por lo tanto pueden coordinarse a moléculas nucleofílicas formando aductos de geometría tetraédrica con hibridación sp^3 (Esquema 2.1).^[5]



Esquema 2.1: Cambio de geometría en el centro de boro por interacción de un ácido borónico con una base de Lewis.

2.1.1. Carácter ácido.

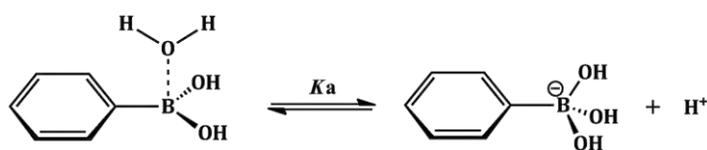
A pesar de que los ácidos borónicos tienen dos grupos hidroxilo, los cuales podrían conducir a la formación de iones hidrónico (H_3O^+), el carácter ácido de la mayoría de los ácidos borónicos no es de tipo Brønsted (a, Esquema 2.2), sino que en general, son ácidos de Lewis (b, Esquema 2.2).



Esquema 2.2: Equilibrios de ionización de ácidos borónicos en agua.

La estructura del ión boronato (base conjugada del ácido borónico) fue elucidada en 1959 por Lorand y Edwards^[6], quienes demostraron que la forma neutra trivalente está en equilibrio con la especie aniónica tetraédrica (b, Esquema 2.2), y no con la base de Brønsted relacionada estructuralmente (a, Esquema 2.2). Así, su habilidad para ionizar agua y formar iones hidronio (H_3O^+) es lo que caracteriza la acidez de la mayoría de los ácidos borónicos en agua.

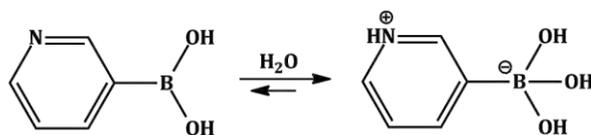
Por ejemplo, para el ácido fenilborónico la acidez surge cuando se asocia a una molécula de agua formando de esta manera un boronato tetraédrico y liberando un protón, definiéndose de esta forma la constante de acidez K_a (Esquema 2.3). El cologaritmo de la constante de acidez ($\text{p}K_a$) para el ácido fenilborónico se encuentra en el intervalo de 8.7 y 8.9.^[7]



Esquema 2.3: Equilibrio ácido-base del ácido fenilborónico en agua.

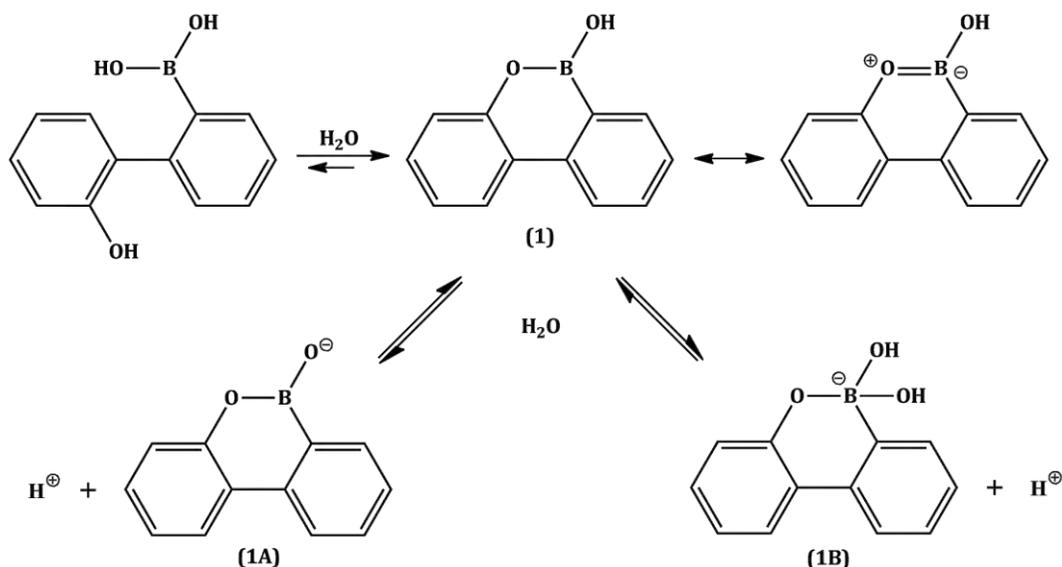
Dicho lo anterior, los ácidos borónicos que presentan mayor acidez son aquellos que pueden formar y estabilizar mejor un anión hidroxiboronato $[\text{RB}(\text{OH})_3]^-$, es decir aquellos que poseen el átomo de boro más electrofílico. De manera general el orden relativo de acidez de diferentes tipos de ácidos borónicos es aril>alquil. Se sugiere que los sustituyentes voluminosos próximos al grupo $-\text{B}(\text{OH})_2$ disminuyen la acidez por el impedimento estérico que generan en la formación del ión boronato tetraédrico.

Los sustituyentes electroattractores sobre el grupo aril de ácidos arilborónicos incrementan su acidez de manera significativa, por ejemplo el ácido 3-metoxycarbonil-5-nitrofenil borónico tiene un $\text{p}K_a$ de 6.9.^[8] Una excepción es el ácido *orto*-nitrofenil borónico que presenta menor acidez que su isómero *para* ($\text{p}K_a$ 9.2 vs 7.1) y que el ácido fenilborónico no sustituido,^[9] presumiblemente debido a la coordinación interna de uno de los oxígenos del grupo nitro. Uno de los ácidos borónicos más fuertes, con un valor de $\text{p}K_a$ igual a 4, es el ácido 3-piridilborónico, que existe principalmente como zwitterión en agua, ver Esquema 2.4.



Esquema 2.4: Equilibrio de ionización del ácido 3-piridilborónico en agua.

Los ácidos borónicos exhiben acidez de tipo Brønsted solo en casos excepcionales donde la formación de un aducto boronato tetraédrico es altamente desfavorable. Por ejemplo, la coordinación de un ión hidróxido al átomo de boro en un derivado cíclico de ácido borónico (**1**) para formar (**1B**), puede romper el carácter parcial aromático del anillo central (Esquema 2.5). Con base en evidencias por RMN ^{11}B y espectroscopia UV, se sugiere que (**1**) actúa como ácido de Brønsted en agua y forma la base conjugada (**1A**) a través de la transferencia directa de protón.^[10]



Esquema 2.5: Equilibrio de ionización de un ácido borónico que actúa como ácido de Brønsted.

2.1.2. Estabilidad química.

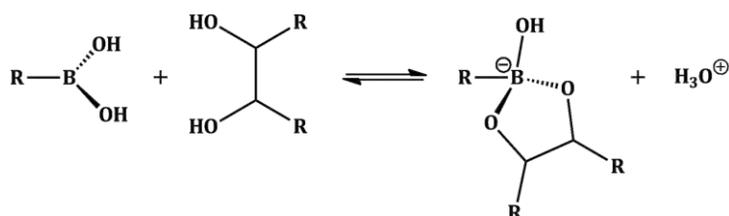
La mayoría de los ácidos borónicos pueden ser manipulados en atmósfera abierta y son estables en un amplio intervalo de pH. Los ácidos aril- y alquénilborónicos tienden a ser significativamente más estables cuando están en agua, ya que la coordinación de agua, o iones hidróxido, al átomo de boro protege a los ácidos borónicos de la acción del oxígeno.^[11] Los ácidos alquilborónicos, sin embargo, son propensos a la oxidación

atmosférica y rápidamente pueden formarse cantidades variables de los correspondientes alcoholes cuando se dejan muestras secas bajo aire atmosférico sin precaución. La propensión de los ácidos alquilborónicos a la autoxidación depende del grado de sustitución, con sustituyentes alquilo primarios son menos reactivos que con sustituyentes alquilo secundarios o terciarios.^[12]

El intercambio de los sustituyentes hidroxilo de los ácidos borónicos por otros ligantes es termodinámicamente desfavorable. En general, a partir de las energías de enlaces B–X de todos los posibles derivados (RBX₂), los ácidos borónicos libres permanecen sin reaccionar cuando se disuelven en soluciones que contienen otros ligantes aniónicos. El único tipo de enlace B–X más fuerte que B–O es el enlace B–F de tal manera que en medios ácidos ocurre el intercambio de grupos OH por fluoruro con formación final del anión PhBF₃[−] en el caso del ácido fenilborónico.^[13]

2.2. ÉSTERES BORÓNICOS.

Los ácidos borónicos reaccionan rápida y reversiblemente con alcoholes formando ésteres borónicos. Con alcoholes simples, los productos son susceptibles a hidrólisis, pero con 1,2- y 1,3-dioles forman ésteres cíclicos (Esquema 2.6) lo suficientemente estables como para ser aislados.^[14]

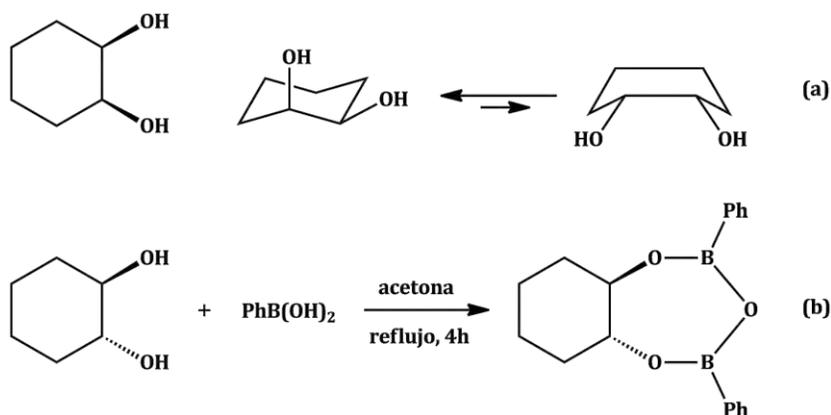


Esquema 2.6: Formación de éster borónico a partir de ácido borónico y 1,2-diol.

Uno de los primeros trabajos de la formación de ésteres borónicos a partir de dioles y polioles, por Kuivila y colaboradores, describe la preparación de varios ésteres borónicos por reacción de ácido fenilborónico en agua tibia con polioles, como manitol y sorbitol, y con 1,2-dioles, como catecol y pinacol. Los ésteres deseados precipitaron al enfriar la disolución, con excepción del correspondiente éster cíclico derivado del *cis*-1,2-ciclohexanodiol que no se obtuvo y los autores racionalizaron esto último con

base a la geometría desfavorable del sustrato diol. Así, mientras los dos grupos alcohol no se encuentren orientados en el mismo plano en una conformación de silla (equilibrio **(a)** en Esquema 2.7), dichos grupos pueden adoptar tal orientación favorable solo en la conformación de bote, lo cual no se favorece termodinámicamente.^[15]

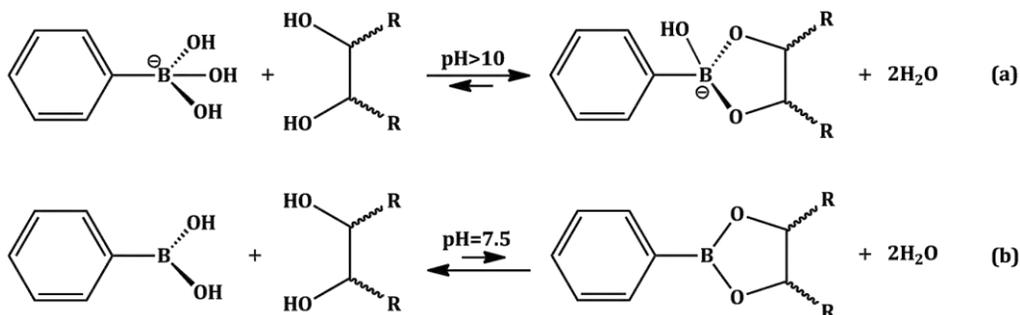
Los ésteres fenilborónicos de *cis*-1,2-ciclopentanodiol y *cis*-1,2-ciclohexanodiol pueden ser aislados en condiciones anhidras, por ejemplo, reflujo de acetona.^[16] Sin embargo con los isómeros *trans* no ha sido posible la obtención de aductos 1:1, y, con base en análisis elemental y gracias a la determinación del peso molecular, se ha observado que dan lugar a la formación de aductos 1:2 (equilibrio **(b)** en Esquema 2.7). Esto último se explica en términos de la cantidad de energía requerida para que el isómero *trans* adopte una orientación coplanar, la cual podría incrementar la tensión del anillo y el impedimento estérico entre los átomos axiales.



Esquema 2.7: a) Conformaciones silla y bote del *cis*-1,2-ciclohexanodiol, b) Formación de un aducto 1:2 de éster borónico a partir de ácido fenilborónico y *trans*-1,2-ciclohexanodiol.

Lorand y Edwards^[6] estudiaron el equilibrio de complejación entre el ácido fenilborónico con diversos dioles y monosacáridos usando el método de depresión de pH (ver sección 2.3.1), demostrando con tal estudio que la formación de ésteres borónicos se favorece en disoluciones con un valor alto de pH, donde el ión boronato (PhB(OH)₃⁻) existe en mayor concentración (equilibrio **(a)** en Esquema 2.8). Además, los ácidos borónicos libres tienen menor carácter ácido de Lewis que sus complejos neutros con 1,2-dioles. Por ejemplo, el valor de pK_a del ácido fenilborónico, PhB(OH)₂, decrece de 8.8 a 6.8 y 4.6 después de la formación de sus ésteres cíclicos con glucosa y fructosa,

respectivamente.^[17] Para explicar el efecto termodinámico favorable observado a pH alto (equilibrio (a) en Esquema 2.8), en comparación con lo que ocurre a pH neutro (equilibrio (b) en Esquema 2.8), se propuso que la formación de los complejos hidroxiboronato de 1,2-dioles está acompañada por una significativa liberación de la tensión angular, como resultado de la rehibridación del átomo de boro de sp^2 a sp^3 (con ángulo de enlace de 120° a 109°).^[2]



Esquema 2.8: Equilibrio de formación de ésteres borónicos a pH alto (a) y pH neutro (b).

Se han descrito una serie de investigaciones sobre el equilibrio y mecanismo de la complejación entre ácido bórico y ácidos borónicos con polioles y otros ligantes en agua. Se ha observado que las constantes de estabilidad de los complejos incrementan cuando el sustituyente arilo sobre el ácido borónico es deficiente en electrones.

Las constantes de equilibrio de la reacción entre ácido metilborónico con diversos 1,2- ó 1,3-dioles, se han medido por titulaciones potenciométricas y espectroscopia RMN de ^{11}B . Se encontraron constantes de 2.5, 5.5 y 38 para 1,3-propanodiol, 1,2-etanodiol y 1,2,3-propanotriol respectivamente, con la última asociación preferentemente con la unidad 1,2-diol. ^[18] Estudios cinéticos realizados mediante el método de relajación por salto de temperatura revelaron las constantes de velocidad de la reacción directa e inversa estableciendo que las constantes de estabilidad de los ésteres borónicos de 6-miembros son más bajas comparadas con las correspondientes a ésteres borónicos de 5-miembros como resultado de la rapidez de la reacción inversa. Además, se confirmó que el anión hidroxiboronato es mucho más reactivo que el ácido borónico trigonal neutro en la formación de ésteres con dioles (al menos 10^4 veces más rápido), con constantes de velocidad en el intervalo de 10^3 - 10^4 $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$; lo cual sugiere que la alta

reactividad del anión boronato puede ser interpretada en términos de un estado de transición asociativo que involucra la transferencia de protón y el desplazamiento de hidróxido.^[14]

2.2.1. Enlace y estructura de ácidos y ésteres borónicos.

El enlace C–B de los ácidos y ésteres borónicos, es ligeramente más largo que un enlace típico C–C, con un intervalo de aproximadamente 1.55–1.59 Å. La energía promedio del enlace C–B es un poco menor que para enlaces C–C, 323 contra 358 kJ mol⁻¹.^[19]

Las distancias del enlace B–O de los ácidos borónicos tricoordinados, como el ácido fenilborónico, son cortas y tienen un intervalo de 1.35–1.38 Å. Tales valores son ligeramente más largos que los observados en ésteres borónicos, por ejemplo la distancia B–O, de acuerdo a la estructura cristalográfica de rayos X de ésteres pinacol borónicos (ver **2** en Figura 2.1), está en el intervalo de 1.31–1.35 Å y además la unidad dioxaborolano de estos derivados es casi plana.^[20]

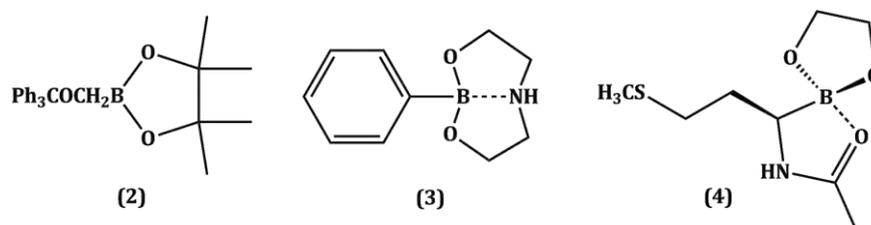


Figura 2.1: Algunos ésteres borónicos analizados por cristalografía de rayos X.

La longitud del enlace B–O en ésteres borónicos de estructuras tetracoordinadas, tales como (3) y (4) en Figura 2.1, se incrementa hasta aproximadamente 1.43–1.47 Å, que es 0.10 Å más largo que el correspondiente enlace en análogos tricoordinados; esto acentúa la considerable fuerza del enlace B–O en los derivados trigonales de ácidos borónicos. Dicha fuerza se origina por la conjugación entre el par libre en los oxígenos y el orbital vacante del boro, lo cual confiere un carácter parcial doble al enlace B–O. Se ha estimado que la formación de aductos tetraédricos puede resultar en la pérdida de alrededor de 50 kJ mol⁻¹ de energía del enlace B–O comparado con un boronato tricoordinado. La energía del enlace trigonal B–O es mayor que el valor de la energía promedio del enlace C–O de éteres (519 contra 384 kJ mol⁻¹).^[15]

La estructura cristalina de rayos X del ácido fenilborónico fue publicada en 1977. Los cristales son ortorrómbicos y cada unidad asimétrica consiste de dos moléculas distintas enlazadas por un par de interacciones de hidrógeno O–H···O (ver **a** y **b**, Figura 2.2). El plano CBO₂ es coplanar al anillo de benceno, con una torsión en torno al enlace C–B de 6.6° y 21.4° para las moléculas independientes de PhB(OH)₂. Cada ensamble dimérico se vincula a su vez por interacciones de hidrógeno a otras unidades similares para dar un arreglo infinito de capas (ver **c**, Figura 2.2).^[21]

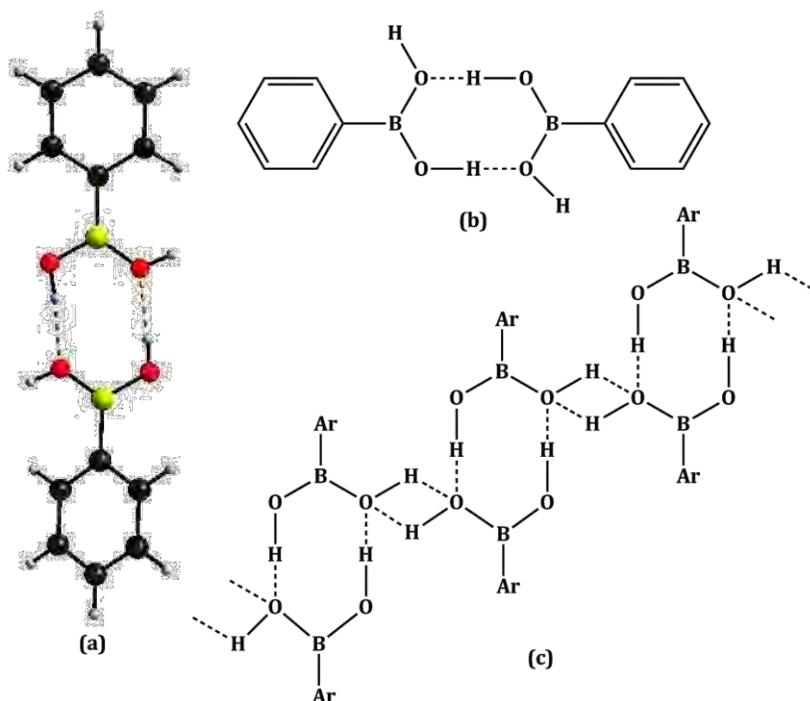


Figura 2.2: Representaciones de la estructura del ácido fenilborónico: a) estructura de rayos X de una unidad dimérica, b) Unidad dimérica donde se muestran los enlaces de hidrógeno, c) Red extendida a través de enlaces de hidrógeno.

2.2.2. Hidrólisis de ésteres borónicos trigonales.

En comparación con ésteres tetraédricos, los ésteres trigonales son mucho menos estables contra la hidrólisis. Todos los ésteres borónicos acíclicos, por ejemplo (**5**) en Figura 2.3, se hidrolizan rápidamente al igual que ésteres cíclicos pequeños derivados de etilen o propilen glicol (**6** y **7**, Figura 2.3) y tartrato (**8**).^[22]

Los ésteres borónicos derivados de catecol (**9**, Figura 2.3) muestran mayor acidez de Lewis y mayor estabilidad, sin embargo se hidrolizan casi por completo en medio acuoso.

Por el contrario, la hidrólisis puede ser considerablemente lenta para ésteres alifáticos cíclicos impedidos tales como los derivados de pinacol (**10**), otros ésteres como (**11**) y (**12**), derivados de pinanediol (**13**) y de dioles derivados de alcanfor (**14**).

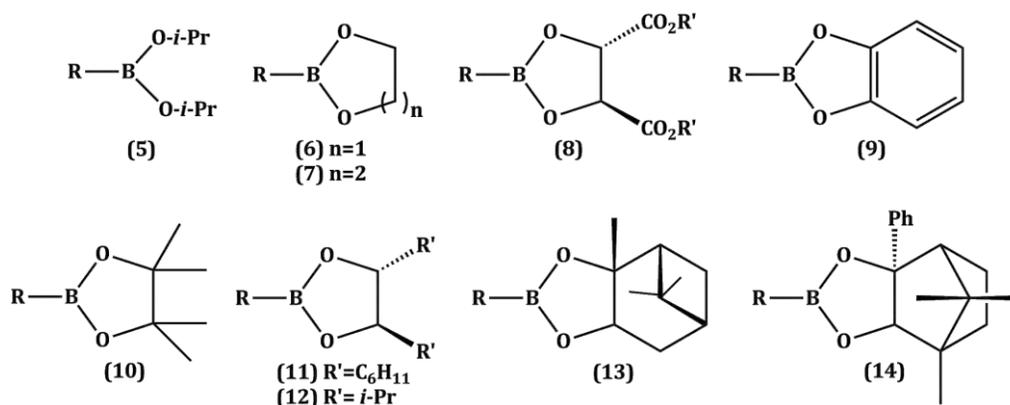


Figura 2.3: Ejemplos de ésteres borónicos.

Algunos ésteres borónicos voluminosos, como (**13**) y (**14**) en Figura 2.3, se encuentran muy impedidos para la hidrólisis y su conversión hacia los ácidos borónicos correspondientes es difícil. Remover el grupo pinanedioxi en (**13**) ejemplifica la magnitud de dicho problema, ya que es generalmente imposible romper un éster pinanediol cuantitativamente en agua incluso en condiciones extremas de pH.

La resistencia excepcional de ésteres pinanediol a la hidrólisis en términos termodinámicos puede deberse al arreglo cíclico rígido, en la cual, los dos grupos alcohol están preorganizados de manera coplanar para formar el éster borónico esencialmente sin pérdida de entropía por rotación interna del pinanediol libre.

La hidrólisis de una serie de ésteres borónicos cíclicos, derivados de ácido fenilborónico, de 5-, 6- y 7-miembros fue analizada al someter diferentes muestras a aire saturado con vapor de agua.^[23] La hidrólisis se confirmó al observar depósitos de ácido fenilborónico, observando además que los ésteres borónicos impedidos se hidrolizan muy lentamente.

En este estudio se observó que los ésteres borónicos de 6-miembros son más resistentes a la hidrólisis que los correspondientes análogos de 5-miembros y todos los ésteres fenilborónicos de 7-miembros se hidrolizan muy fácilmente (Figura 2.4). Los resultados

anteriores pueden ser interpretados en términos de la facilidad relativa de la complejación boro-agua para formar intermediarios tetracoordinados. Dos factores son propuestos para explicar este fenómeno: 1) el incremento de los efectos estéricos en los átomos vecinos después de la formación de complejos hidrato, y 2) la liberación de la tensión angular en ésteres borónicos de 5-miembros debido al decremento del ángulo de enlace O–B–O de casi 120° a 109° al ir de una configuración plana al hidrato tetracoordinado (IV, Figura 2.4). Los ésteres cíclicos de 6-miembros son libres de la tensión angular y la coordinación de agua da lugar al complejo (V), Figura 2.4, que está impedido por las interacciones axiales resultantes. En el caso de ésteres de 7-miembros, al reaccionar con agua dan lugar al arreglo (VI), Figura 2.4, en el cual el anillo es mucho más flexible que los correspondientes compuestos de 6-miembros.

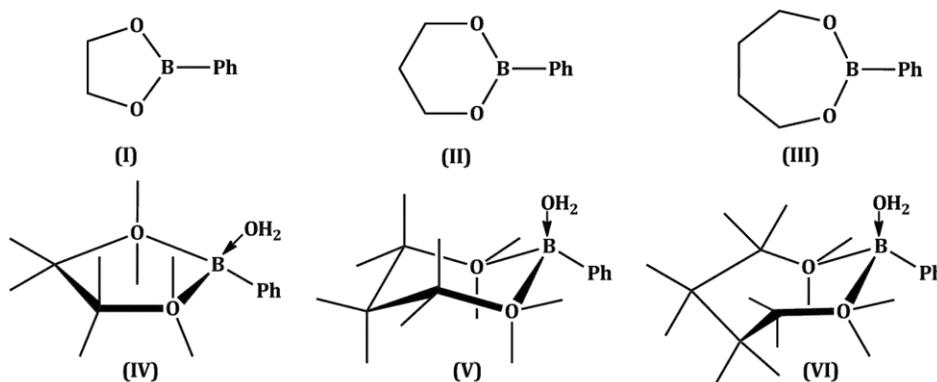


Figura 2.4: Ésteres borónicos cíclicos de 5-, 6- y 7-miembros.

2.2.3. Aplicaciones de los ésteres borónicos.

Aún a pesar de la estabilidad de los ésteres borónicos, como ya se ha mencionado la formación del enlace covalente B–O es reversible bajo ciertas condiciones o bajo la acción de ciertos estímulos químicos externos. Además la interacción ácido borónico-diol es direccional, lo cual hace posible el control de la geometría final en ensamblajes moleculares con un alto nivel de precisión.

La naturaleza reversible y direccional en la formación de boronatos permite el auto-control y auto-corrección de ensamblajes moleculares. Por lo tanto, la funcionalidad dinámica covalente de dichos ésteres permite el desarrollo de una gran variedad de sistemas, involucrando no solo macrociclos^[24], cajas y cápsulas moleculares^[25], sino

también estructuras porosas orgánicas covalentes (COF's, por sus siglas en inglés)^[26] y polímeros^[27]. Otra área del uso extenso de la formación de ésteres borónicos es la detección de sacáridos (ver capítulo 2.5).

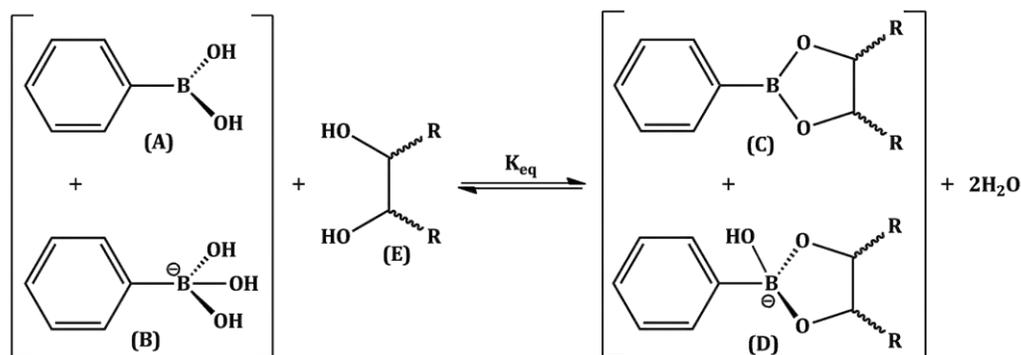
Los compuestos arilboronatos también desempeñan un papel prominente en la reacción de Suzuki (reacción de acoplamiento cruzado), la cual tiene una vasta aplicación en síntesis orgánica para la formación de enlaces carbono-carbono.^[28]

2.3. MÉTODOS USADOS PARA DETERMINAR LAS CONSTANTES DE FORMACIÓN DE ÉSTERES BORÓNICOS.

2.3.1. Depresión de pH.

El método de depresión de pH mide el incremento en la acidez observada al titular una disolución de diol con una disolución de ácido borónico de concentración conocida.^[6] Este método requiere que el ácido borónico se use como buffer y está basado en el hecho de que tras la formación del éster borónico el pH de la disolución decrece ya que el carácter ácido del éster borónico es mayor en comparación con el del ácido borónico. La magnitud de la depresión del pH bajo ciertas condiciones es directamente proporcional a las constantes de asociación.

Hay dos suposiciones importantes en este método: 1) Se supone que sólo el boronato tetraédrico (**B**, Esquema 2.9) reacciona con el diol para formar el éster borónico y 2) en la disolución no se encuentra presente nada del éster borónico trigonal neutro (**C**, Esquema 2.9).



Esquema 2.9: Formación de éster borónico, a partir de ácido fenilborónico y 1,2-dioles.

2.3.2. Espectrofotometría directa.

Puesto que los ácidos arilborónicos en su forma ionizada y desionizada tienen diferente absorción en el ultravioleta, es posible utilizar la espectrofotometría para obtener los valores de pK_a y además, las constantes de formación de ésteres borónicos provenientes de tales ácidos y dioles, ya que se deduce que la adición de un diol a una disolución del ácido borónico provoca cambios espectrales puesto que el equilibrio se desplaza en favor del boronato ionizado. Así, las constantes de formación de ésteres borónicos, provenientes de fructosa con diversos ácidos arilborónicos, han sido calculadas a partir de la diferencia entre los espectros UV-Vis de una celda de referencia (que contenía solo ácido borónico) y una serie de celdas que contenían ácido borónico con concentraciones variables de fructosa, a pH fijo. [29]

Una notable ventaja de este método, es que se elimina la necesidad de determinar los coeficientes de extinción molar al combinar las expresiones matemáticas de dos determinaciones experimentales. Las limitaciones de este método son la necesidad de un cambio suficientemente grande de absorptividad molar inducida por formación del éster y el posible traslape de los espectros del éster y de las materias primas.

2.3.3. Potenciometría.

La potenciometría es un método simple y cuantitativo para la determinación de las constantes de formación en equilibrios complejos que no depende de las propiedades espectroscópicas de las especies en disolución. El procedimiento consiste en la titulación ácido-base de una disolución del sistema binario (ácido borónico-diol) a fin de calcular los valores de constantes de formación acumulativas, típicamente expresados con un símbolo β_{pqr} para los complejos formados, empleando como parámetros fijos de ajuste las constantes de acidez de cada componente determinadas previamente mediante la misma técnica.

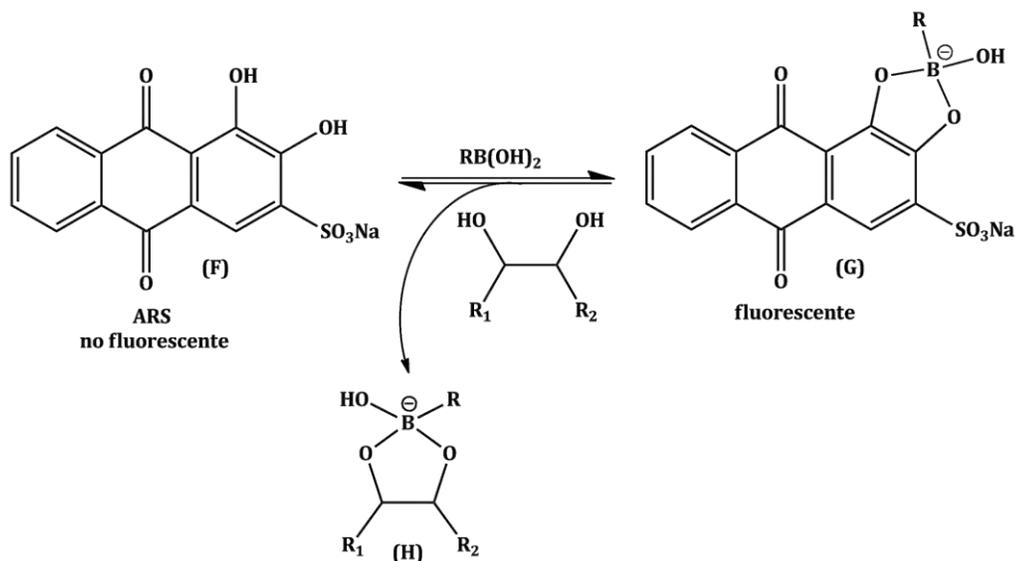
La limitación principal de este método es la necesidad de emplear grandes volúmenes de las disoluciones a titular y relativamente altas concentraciones de los componentes

(ácido borónico-diol); esto último en ocasiones puede complicarse por una baja solubilidad de los compuestos en agua o por su alto costo.

Un ejemplo de la aplicación de esta técnica es el trabajo de Bosch, et. al., donde las constantes de formación para la asociación de ácido fenilborónico y sus derivados *orto*-anilinoetil y *orto*-bencilaminometil con cuatro sacáridos diferentes (fructosa, glucosa, manitol y sorbitol) fueron determinadas mediante titulaciones potenciométricas.^[30]

2.3.4. Método de Competencia con ARS.

Los derivados fluorescentes de catecoles, tal como el indicador rojo de alizarina S (ARS), que también forman aductos con ácidos borónicos en agua se han empleado en ensayos competitivos de tres componentes (Esquema 2.10) para la determinación cualitativa y cuantitativa de la asociación con sacáridos.^[31]

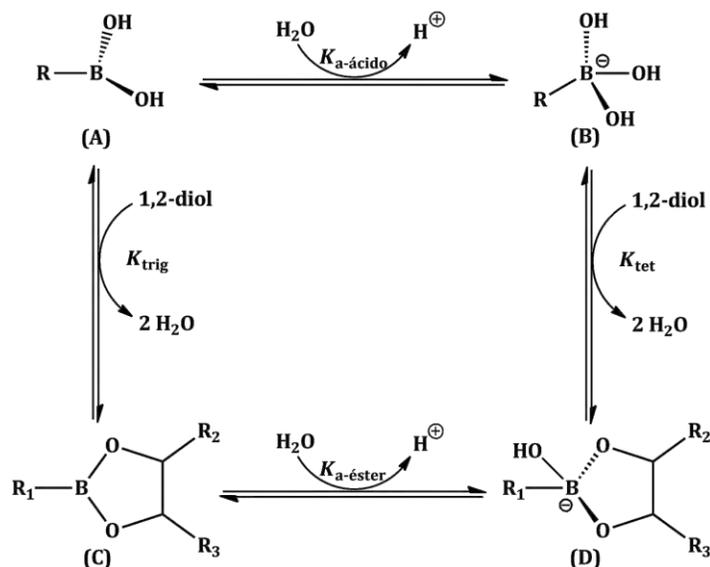


Esquema 2.10: Asociación competitiva entre un ácido borónico con ARS y un 1,2-diol.

Este tipo de ensayo de fluorescencia requiere de dos equilibrios. El primer equilibrio, entre el ácido borónico y el compuesto fluorescente ARS (F, Esquema 2.10) que puede medirse directamente, ya que la asociación del ácido borónico con la unidad diol de ARS

remueve los protones activos de la hidroxiantraquinonaⁱ, responsables de la extinción de la fluorescencia, [32] y por lo tanto hay un incremento de la intensidad de la fluorescencia, de 20 a 80 veces, en presencia del ácido borónico (**G**, Esquema 2.10). Un segundo equilibrio se establece después de la adición de un carbohidrato, por la reacción entre el ácido borónico y la unidad diol del carbohidrato, que da lugar a la formación de un éster borónico (**H**, Esquema 2.10). Este último equilibrio perturba el equilibrio entre el ácido borónico y ARS, resultando en el apagamiento de la fluorescencia.

Este método permite determinar la afinidad total, K_{eq} , y las constantes de equilibrio para cada paso (ver Esquema 2.11). K_{trig} representa la constante de equilibrio entre la forma trigonal del ácido borónico y el éster borónico neutro (**A** y **C**, respectivamente, Esquema 2.11); K_{tet} describe el equilibrio entre el boronato tetraédrico y el éster boronato (**B** y **D**, respectivamente, Esquema 2.11).



Esquema 2.11: Relación entre un ácido borónico y su éster boronato.

2.3.5. Resonancia Magnética Nuclear de ¹¹B.

La resonancia magnética nuclear de ¹¹B, es otro método usado comúnmente para la detección de ésteres borónicos. Si las distintas especies formadas pueden detectarse

ⁱ La transferencia de un protón del grupo hidroxilo de ARS al oxígeno de la cetona resulta en el apagamiento de la fluorescencia de ARS libre.

directamente, este método puede usarse para la determinación de las constantes de asociación; sin embargo la RMN-¹¹B tiene baja sensibilidad con poca resolución de las señales y se requieren altas concentraciones de los componentes del éster (ácido borónico-diol).^[17a]

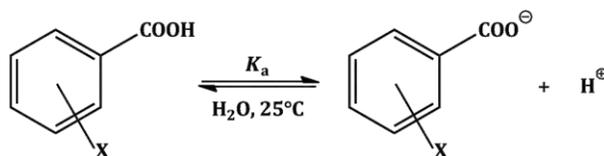
Henderson, et al.^[33] fueron los primeros en usar RMN-¹¹B para estudiar la interacción del anión borato con dioles en agua. Se ha observado que la formación y la hidrólisis de los ésteres borónicos son procesos lentos en la escala de tiempo de la RMN-¹¹B.

Las señales de boro para ácidos borónicos y de ésteres derivados tricoordinados generalmente son detectadas en el intervalo de 25–35 ppm, mientras que derivados tetracoordinados muestran señales alrededor de 10 ppm.

Mediante espectroscopia RMN-¹¹B, Pizer y Tihal^[14] determinaron las constantes de equilibrio del sistema ácido metilborónico y 1,2,3-propanetriol. En el espectro de dicho sistema se observa una señal ancha a 20 ppm, atribuida al equilibrio relativamente rápido $\text{CH}_3\text{B}(\text{OH})_2/\text{CH}_3\text{B}(\text{OH})_3^-$, además de dos señales a campo alto asignadas a los ésteres cíclicos formados, uno de cinco miembros y otro de seis miembros. La integración de las señales permitió calcular las constantes de equilibrio.

2.4. ECUACIÓN DE HAMMETT.

Hammett propuso que los efectos electrónicos (inductivo y de resonancia) de un conjunto de sustituyentes en diferentes reacciones orgánicas deben ser similares, de tal manera que cada grupo funcional unido a la molécula de ácido benzoico produce un efecto previsible sobre la acidez del mismo. Para la cuantificación de tal efecto Hammett definió el parámetro σ , ecuación (2.1), basado en el equilibrio de disociación del ácido benzoico (Esquema 2.12), para cada grupo sustituyente y para cada posición en el anillo aromático. El parámetro σ (constante del sustituyente) indica qué tan electrodonador o electroattractor es un grupo con respecto a hidrógeno.



Esquema 2.12: Equilibrio de disociación del ácido benzoico.

$$\sigma_x = \frac{\log K_a(\text{X-C}_6\text{H}_4\text{COOH})}{\log K_a(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH})} = \text{p}K_a(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}) - \text{p}K_a(\text{X-C}_6\text{H}_4\text{COOH}) \quad (2.1)$$

El parámetro σ solo se aplica para grupos aromáticos *m*- y *p*-sustituidos en los cuales los efectos electrónicos no se complican por interacciones estéricas entre el sustituyente y el sitio de reacción.

Debido a que los valores de $\text{p}K_a$ se ven afectados por la temperatura y el disolvente, σ está referido a 25°C en disolución acuosa. En la tabla 2.1 se muestran los valores de $\text{p}K_a$ para los ácidos nitro benzoicos y metil benzoicos, con los sustituyentes en posición *meta* y *para*, a partir de los cuales, con la ecuación (2.1), se pueden calcular σ_m y σ_p .^[34]

Tabla 2.1: Valores de $\text{p}K_a$ para ácidos benzoicos en agua a 25°C y constantes de Hammett σ .

X	$\text{p}K_a$ (<i>meta</i>)	$\text{p}K_a$ (<i>para</i>)	σ_m	σ_p
NO_2	3.50	3.43	0.71	0.78
CH_3	4.28	4.38	-0.07	-0.17

El $\text{p}K_a$ para el ácido benzoico es 4.21

Los grupos electroattractores, tal como el grupo NO_2 , incrementan la constante de equilibrio K_a , en la reacción del esquema 2.12, debido a que estabilizan el anión carboxilato; por ello el valor de $\text{p}K_a$ es numéricamente menor que el valor de $\text{p}K_a$ para el ácido benzoico, y consecuentemente σ tiene un valor positivo. Los grupos electrodonadores, como CH_3 , disminuyen la constante K_a y sus valores de σ son negativos. En resumen:

- si $\sigma = 0$, el sustituyente no tienen efecto (electrónicamente igual a H).
- si $\sigma =$ valor positivo, el sustituyente es electroattractor.
- si $\sigma =$ valor negativo, el sustituyente es electrodonador.

Los efectos inductivos de sustituyentes son mayores en posición *meta* que en posición *para* y por lo tanto, $\sigma_m > \sigma_p$. En cambio, la conjugación es más efectiva con sustituyentes en posición *para* que en *meta* y por lo tanto, para sustituyentes capaces a este tipo de interacción, $\sigma_p > \sigma_m$. En los casos cuando los efectos de conjugación son particularmente fuertes, se usan constantes de Hammett modificadas conocidos como σ^+ y σ^- , para conjugación con centros de reactividad positiva o negativamente cargados, respectivamente.

Generalizando, la reactividad de la cadena lateralⁱⁱ de bencenos *m*- y *p*-sustituídos se correlaciona linealmente con los valores de σ ; por lo tanto se puede escribir la ecuación:

$$\log \frac{k^X}{k^H} = \sigma \rho \quad \text{ó} \quad \log k^X = \sigma \rho + \log k^H \quad (2.2)$$

Donde k^X es la constante de velocidad para la reacción de la cadena lateral de derivados de bencenos *m*- y *p*-sustituídos, y k^H es la constante de velocidad para el compuesto no sustituido. La ecuación análoga para el equilibrio de la cadena lateral es:

$$\log \frac{K^X}{K^H} = \sigma \rho \quad \text{ó} \quad \log K^X = \sigma \rho + \log K^H \quad (2.3)$$

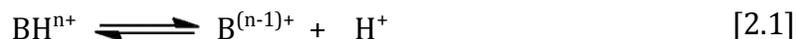
Las ecuaciones 2.2 y 2.3, conjuntamente son conocidas como la ecuación de Hammett.

En la ecuación de Hammett ρ es la constante de reacción y nos indica qué tan sensible es la reacción a los efectos electrónicos, por variación del valor σ del sustituyente. Por definición, ρ es igual a 1 para la ionización de los ácidos benzoicos en agua a 25°C.

Si el valor de ρ es positivo, significa que en el centro de reacción se genera una carga negativa y la reacción se acelera por sustituyentes electroattractores que estabilizan esta carga. En cambio la reacción se vuelve más lenta por la presencia de sustituyentes electrodonadores que desestabilizan la carga negativa. Si ρ es positivo para un equilibrio, por la misma razón, los sustituyentes electroattractores dirigen la reacción hacia el lado derecho de la ecuación y los sustituyentes electrodonadores favorecen la reacción en el sentido contrario. Un valor negativo de ρ implica lo opuesto, es decir indica que en el centro de reacción se genera una carga positiva.

ⁱⁱ Cadena de átomos unidos al anillo de benceno.

Es importante notar que las constantes de todas las disociaciones ácidas, con la forma general:

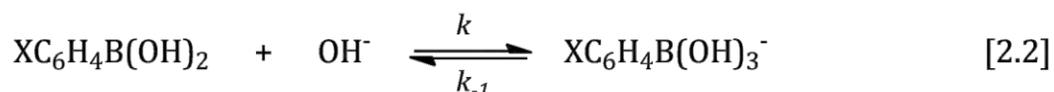


tienen valores positivos de ρ , debido a que la base $\text{B}^{(n-1)+}$ puede estabilizarse por sustituyentes electroattractores.

Dicho lo anterior, la ecuación de Hammett nos permite cuantificar los efectos electrónicos, lo cual involucra la contribución de los efectos inductivos y de resonancia, en el cambio de energía libre al ir de un estado a otro en un equilibrio o del estado basal al estado de transición durante el curso de una reacción. Tales cambios de energía son proporcionales al logaritmo de las constantes de equilibrio o de velocidad.

2.3.1. Correlación de Hammett para ácidos arilborónicos monosustituídos.

Se ha determinado que las constantes de velocidad k para la reacción de adición del ión hidróxido hacia ácidos arilborónicos sustituidos a 35°C (reacción [2.2]) se encuentran en el orden de 10^7 - $10^8 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$.^[35]



El efecto de los sustituyentes sobre las velocidades de dicha reacción se ajusta a la relación de Hammett $\log k^X / k^H = \rho\sigma$, con $\rho=1.18$ (Figura 2.5).

Las constantes de equilibrio, $K = k/k_{-1}$, también correlacionan linealmente con las constantes de Hammett σ ($\rho=2.00$, Figura 2.6), por lo tanto es claro que el efecto electrónico de los sustituyentes juega un papel importante en los procesos directo e inverso de la reacción [2.2].

Tanto la constante de equilibrio, K , como la constante de velocidad, k , tienden a aumentar con el incremento en la habilidad electroattractora de los sustituyentes.

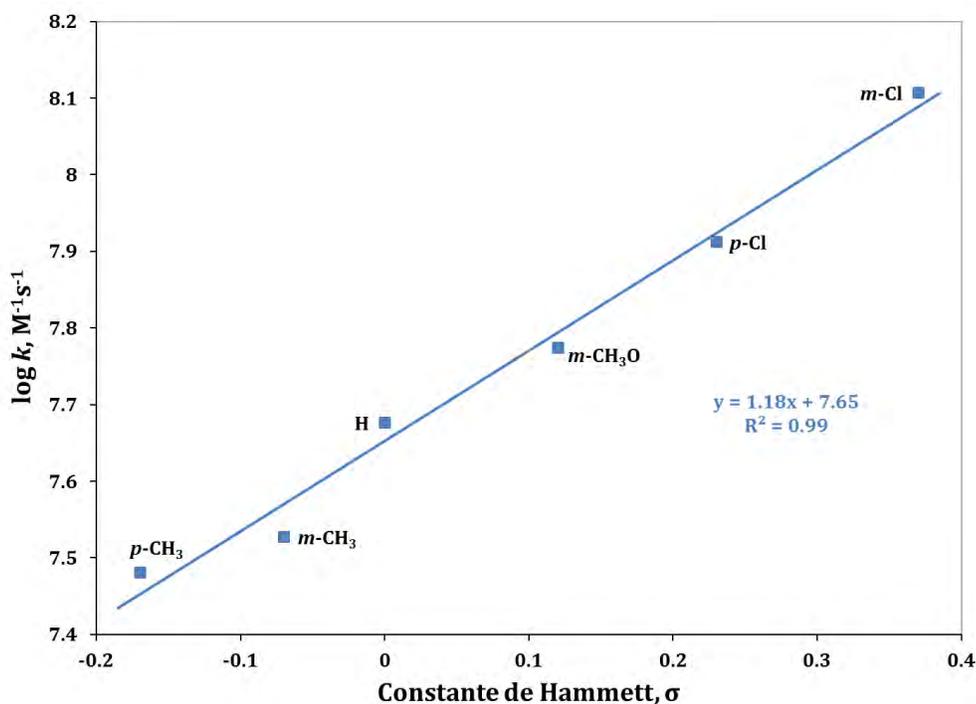


Figura 2.5: Gráfico de Hammett para la velocidad de asociación de algunos ácidos arilborónicos con el ión hidróxido a 35°C.

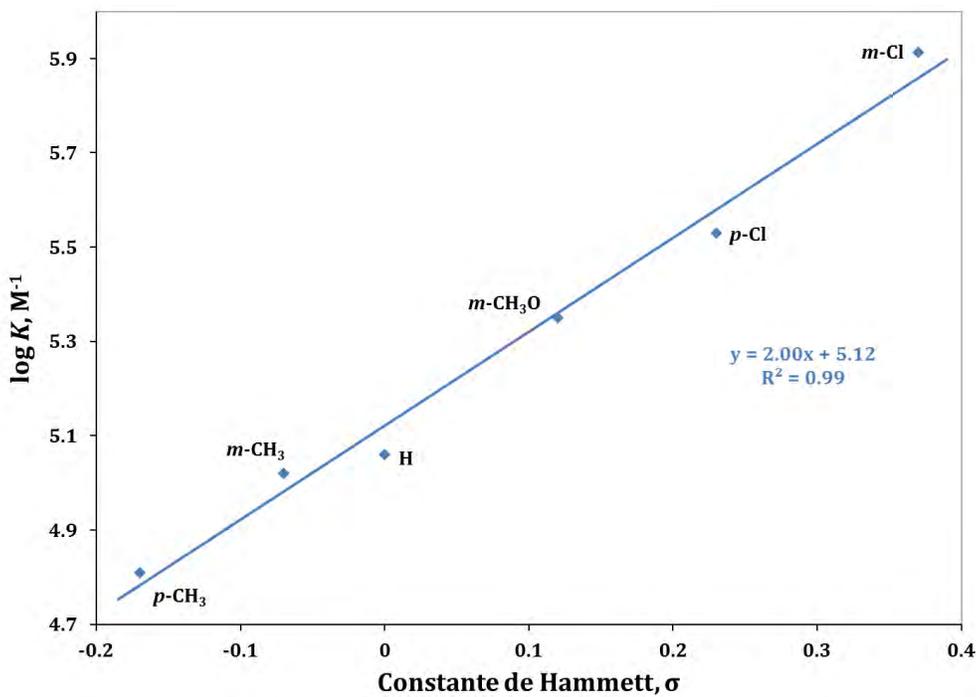


Figura 2.6: Gráfico de Hammett para la constante de equilibrio de la reacción de asociación de algunos ácidos arilborónicos con el ión hidróxido a 35°C.

Wang y colaboradores,^[17b] estudiaron la relación del pK_a de una serie de ácidos arilborónicos monosustituídos con respecto a sus sustituyentes empleando gráficos de Hammett; como era de esperarse se observó que los grupos electroattractores propician la disminución del valor de pK_a . Los valores de pK_a determinados experimentalmente fueron graficados contra los valores σ de Hammett para los diferentes sustituyentes (Figura 2.7), observándose una correlación lineal, con una pendiente de la recta de -2.1 consistente con la formación de una especie aniónica como producto final (en este caso el valor negativo de ρ se debe al hecho de que $pK_a = -\log K_a$).

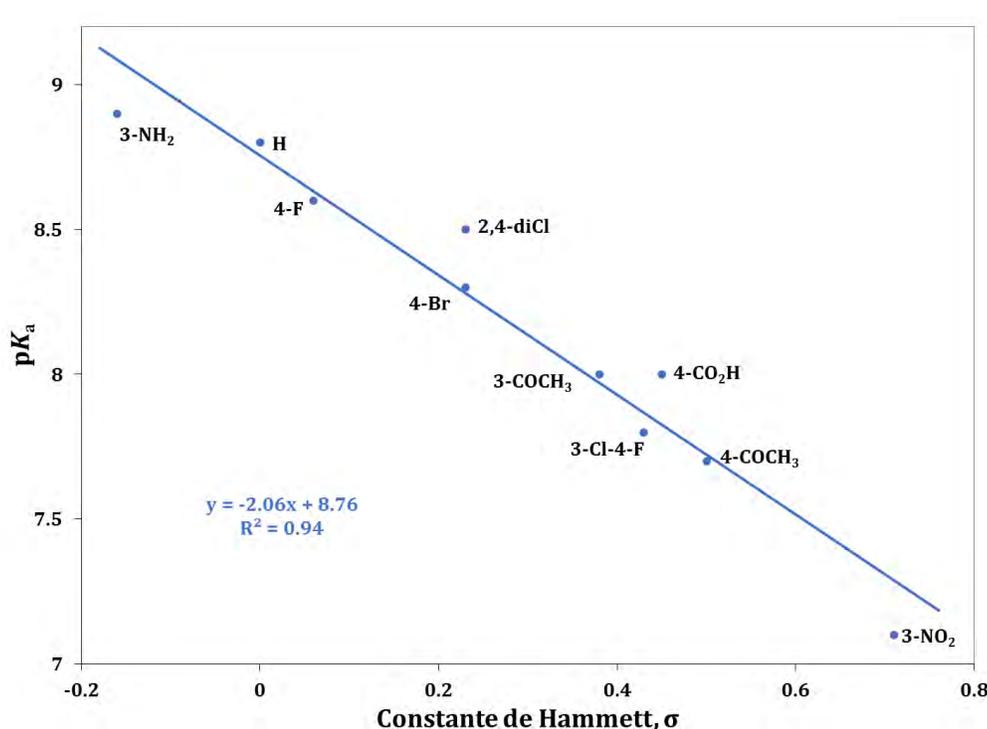


Figura 2.7: Gráfico de Hammett para el pK_a de algunos ácidos arilborónicos.

Benkovic y colaboradores^[36] realizaron un análisis de tipo Hammett, a fin de elucidar el efecto de los sustituyentes sobre el valor de pK_a de benzoxaboroles, una clase especial de ácidos borónicos aromáticos (Figura 2.8). Determinaron mediante espectrofotometría las constantes de ionización de diversos benzoxaboroles sustituidos en solución acuosa y al graficar los valores de pK_a de los benzoxaboroles en función de los valores de las constantes de Hammett, σ , observaron una correlación lineal con $\rho = -2.1$ (Figura 2.9). Tal valor de ρ , es idéntico al determinado para las constantes de ionización de ácidos

arilborónicos en agua, mostrado anteriormente, lo cual indica que el anillo oxaborol esencialmente no tiene efectos electrónicos en el sistema.

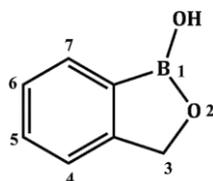


Figura 2.8: Estructura del benzoxaborol.

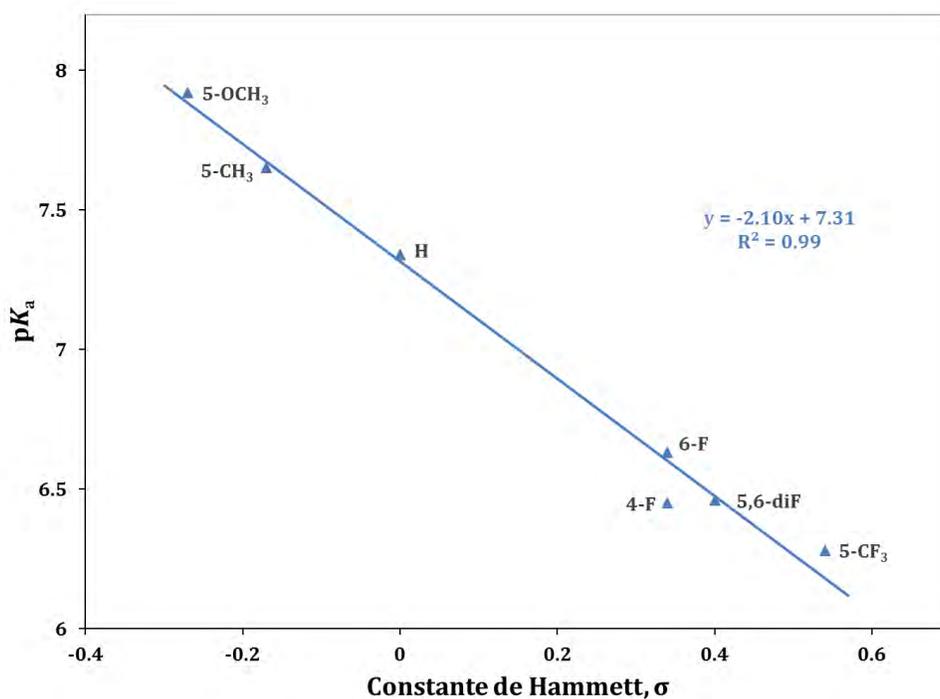


Figura 2.9: Gráfico de Hammett para el pK_a de benzoxaboroles con diferentes sustituyentes.

2.5. RECEPTORES BASADOS EN LA INTERACCIÓN ÁCIDO BORÓNICO-DIOL.

La detección de compuestos que contienen unidades diol, tales como carbohidratos y catecoles, representa una de las áreas de mayor importancia biológica debido a que muchos virus y bacterias usan carbohidratos como un fragmento de reconocimiento clave para la infección y toxicidad. Por otro lado, la detección de glucosa y proteínas glicosiladas es de suma importancia para el diagnóstico y monitoreo de diabetes.

Los ácidos borónicos se han usado ampliamente en la química de los carbohidratos funcionando como grupos protectores o como receptores y sensores. Hasta la fecha se han publicado una vasta cantidad de receptores para carbohidratos, polioles y moléculas relacionadas basados en ácidos borónicos que emplean diferentes métodos de detección, principalmente ópticos (UV-vis y fluorescencia) o electroquímicos (cambio de potencial redox o de conductividad).^[37] A continuación se presentan algunos ejemplos selectos de receptores para diferentes analitos típicos, como carbohidratos, neurotransmisores, etc.

Cabe mencionar que la asociación de carbohidratos con ácidos borónicos requiere de una disposición geométrica coplanar de la unidad diol. De hecho, en agua receptores de ácidos borónicos se asocian con glucosa en la forma furanosa, la cual presenta la disposición favorable coplanar de la unidad 1,2-diol.^[38]

Como un ejemplo consideramos un sensor para la detección de glucosa diseñado por Norrild y colaboradores^[39] que tiene estructura del ácido bispiridinioborónico con un grupo antraceno como vínculo (Figura 2.10), en el cual la introducción de dos cargas positivas se ideó para disminuir el pK_a del ácido borónicoⁱⁱⁱ y para lograr la solubilidad en agua. El grupo antraceno además de proveer el espacio y orientación adecuada de las dos unidades de ácido borónico para la asociación con glucosa, fue elegido como fluoróforo. La intensidad de la fluorescencia se incrementa tras la adición de D-glucosa con la formación del complejo sensor-glucosa en la forma furanosa, esto último comprobado por RMN-¹³C y ¹H en D₂O a pH 7.4.

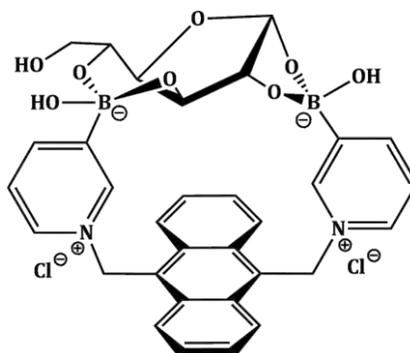
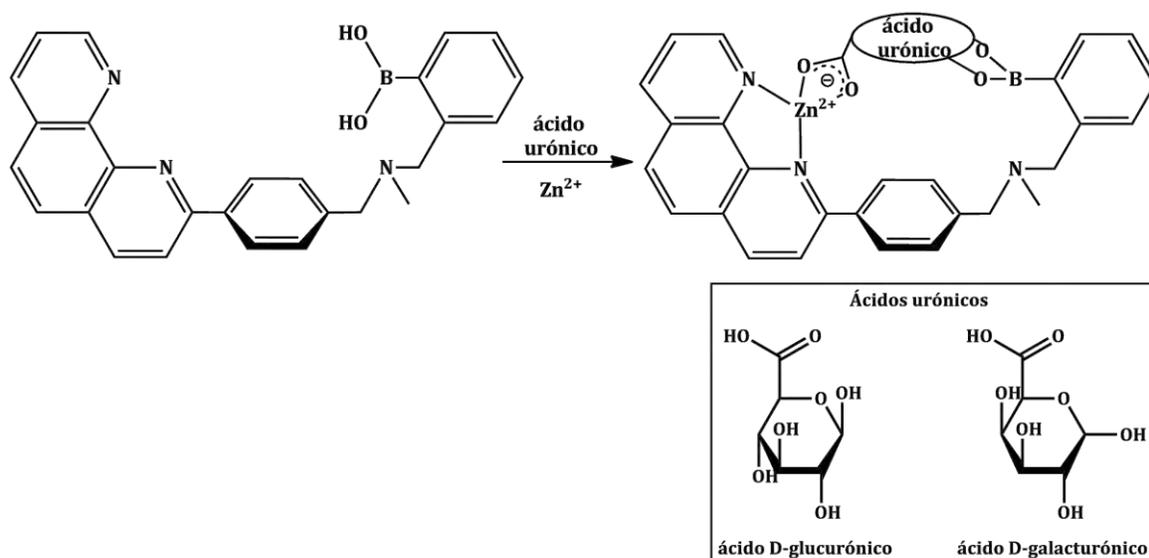


Figura 2.10: Sensor ácido bispiridinioborónico empleado para detectar D-glucosa.

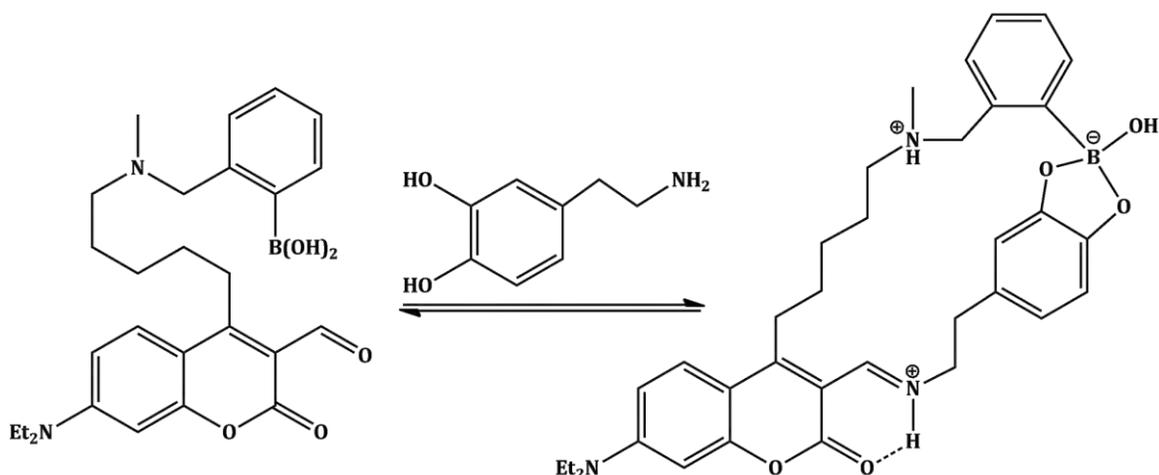
ⁱⁱⁱ Esto con el fin de mejorar la asociación entre analito y sensor.

Otro sensor basado en la interacción ácido borónico-diol fue preparado para la detección de ácidos urónicos (Esquema 2.13), en dicho sensor el grupo ácido borónico se usó para la asociación con la unidad diol, mientras que la 1,10-fenantrolina quelada con Zn(II) fue usada para la coordinación con el grupo carboxilato en los ácidos urónicos. [40] Las constantes de asociación (K_{as}) para los ácidos urónicos en agua-metanol (1:2 v/v) a pH 8 fueron determinadas. En presencia de Zn(II) para el caso del ácido D-glucurónico $\log K_{as}=3.4$ y para el ácido D-galacturónico $\log K_{as}=3.1$; en ausencia de Zn(II) la constante de asociación con el ácido D-glucurónico no pudo determinarse por tener un valor muy pequeño, mientras que, para el ácido D-galacturónico $\log K_{as}$ es 1.9. El hecho de que los valores de $\log K_{as}$ en ausencia de Zn(II) sean menores a los obtenidos en presencia de Zn(II), soporta la idea de que el ácido urónico se asocia a los dos sitios de unión del sensor simultáneamente.



Esquema 2.13: Sensor basado en ácido borónico usado para detectar ácidos urónicos.

El grupo de investigación de Glass^[41] diseñó un sensor (Esquema 2.14) para la detección de dopamina y norepinefrina, en el cual la formación de imina se usó para la interacción con el grupo amino y además la presencia de una unidad de ácido borónico en el sensor permitió la complejación con la unidad catecol de los analitos. Tras la formación del complejo sensor-analito se produce el apagamiento de la fluorescencia de 39–77% de su intensidad original.

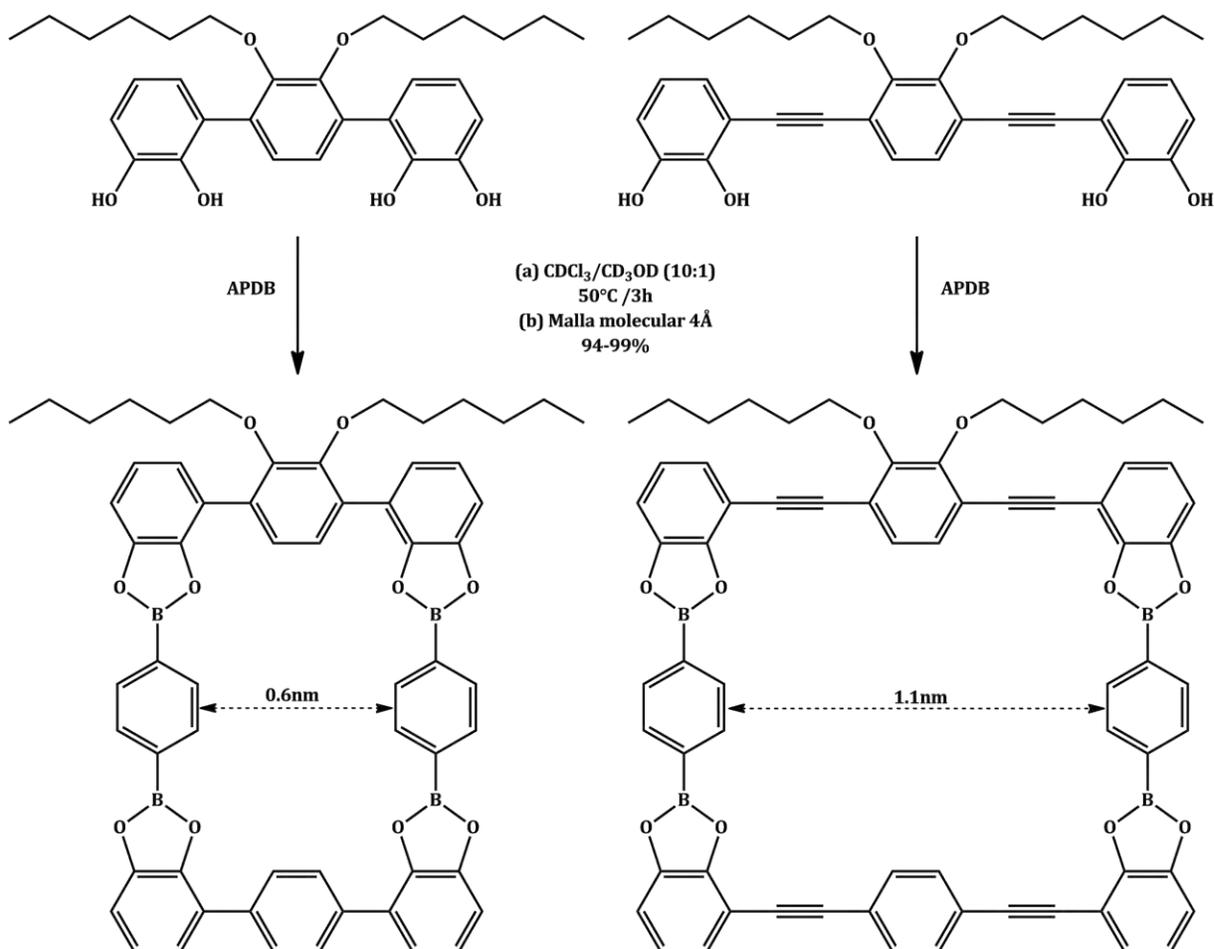


Esquema 2.14: Formación de un ión iminio y enlace de hidrógeno en la detección de dopamina.

2.6. AUTOENSAMBLE DE MACROCICLOS A PARTIR DE ÁCIDOS DIBORÓNICOS Y BIS(DIOLES).

En el esquema 2.15 se presenta la formación de macrociclos en forma de rectángulos a partir del ácido 1,4-bencendiborónico (APDB) y dos dicatocoles con diferentes espaciadores rígidos.^[42] El proceso no ocurre empleando solo cloroformo, ya que el ácido borónico se transforma en una boroxina^{iv}. La adición de 10% de metanol resuelve el problema y después de tres horas a 50°C la disolución está equilibrada, sin embargo, con un bajo rendimiento de los macrociclos. Para desplazar el equilibrio hacia la formación de ésteres boronato macrocíclicos se aplicaron mallas moleculares para sustraer agua y metanol. Las estructuras de macrociclos fueron corroboradas por espectroscopia RMN-¹H, radiación infraroja y espectrometría de masas.

^{iv} Las boroxinas, B₃O₃, son anillos de seis miembros generados por auto-condensación de tres moléculas de ácido borónico.



Esquema 2.15: Síntesis de macrociclos basados en ésteres borónicos por autoensamble de dicatecoles con el ácido 1,4-bencendiborónico (APDB).^[37]

Otra serie de macrociclos auto-ensamblados fue reportada por Iwasawa y colaboradores empleando un tetraol, derivado de *s*-indaceno (**15** en Figura 2.11), con varios ácidos diborónicos.

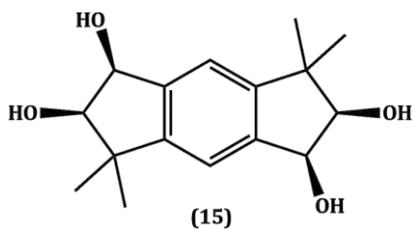
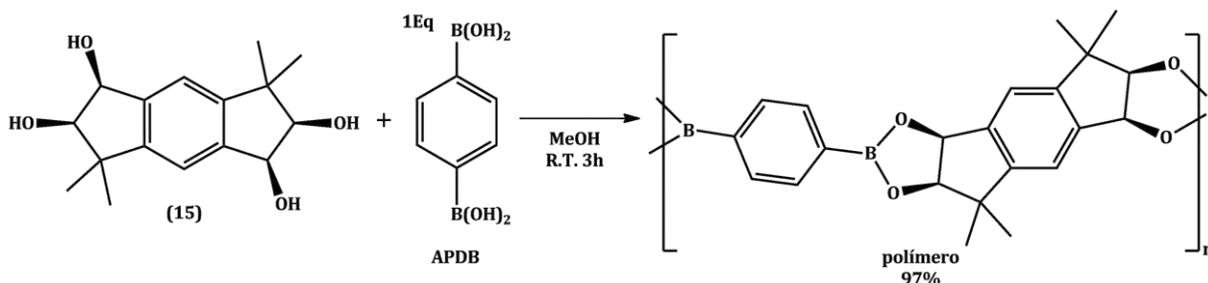


Figura 2.11: Tetraol derivado de *s*-indaceno empleado por Iwasawa para el autoensamble de macrociclos.

La interacción de (15), Figura 2.11, con APDB en metanol da un producto polimérico (Esquema 2.16); sin embargo cuando el proceso se realiza en presencia de co-solventes aromáticos se promueve la formación de diferentes macrociclos con moléculas de co-solvente atrapados como huéspedes incluidos en la cavidad de los macrociclos (Figura 2.12).^[43] Las estructuras de tales compuestos de inclusión fueron determinadas por difracción de rayos X.



Esquema 2.16: Autoensamble de un tetraol, derivado de *s*-indaceno, y ácido 1,4-bencendiborónico (APDB) en metanol.

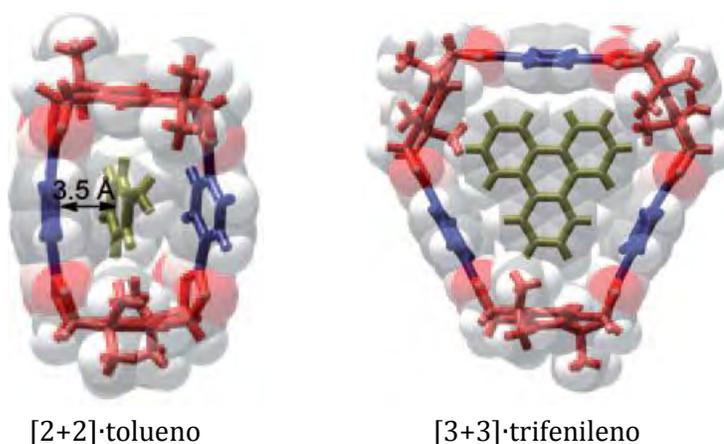
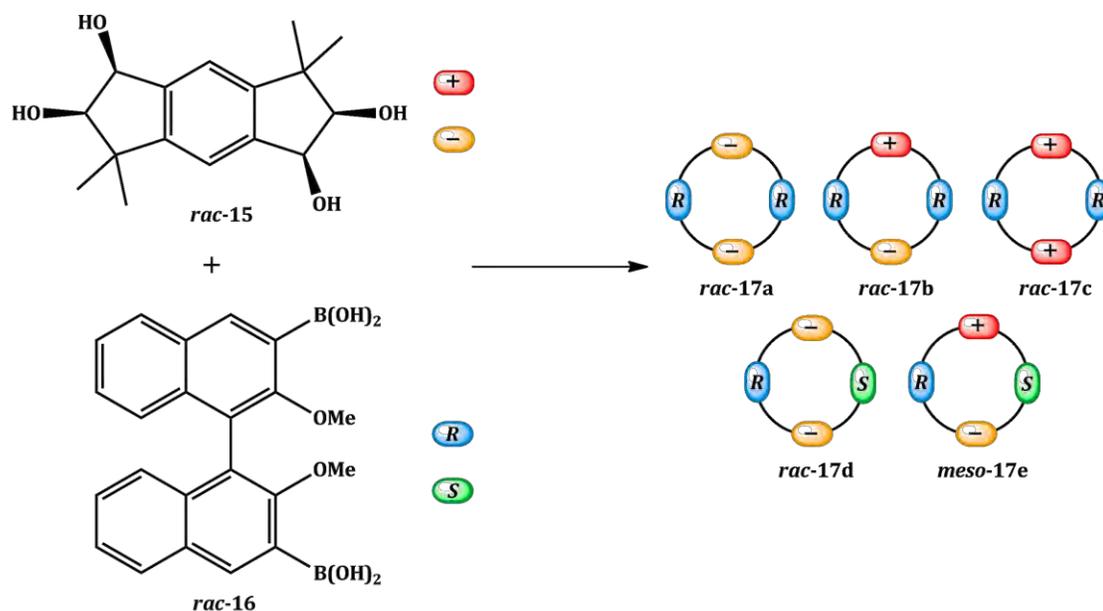


Figura 2.12: Estructura de Rayos X de macrociclos basados en ésteres borónicos con moléculas de disolvente (tolueno o trifenileno) incluidas en su cavidad.^[38]

El tetraol (15), Figura 2.11, es quiral y su interacción con el ácido binaftildiborónico también quiral produce una serie de macrociclos diastereoméricos. La interacción de la mezcla racémica del tetraol (*rac*-15) con la mezcla racémica del ácido borónico (*rac*-16) en metanol produce cinco diastereómeros de composición química [2+2] (Esquema 2.17). Cada uno de los diastereómeros puede obtenerse como producto predominante en las condiciones apropiadas; por ejemplo, el diastereómero (17a) (Figura 2.13) se obtiene en

un 91% de rendimiento después de agitar la mezcla equimolar de *rac-15* y *rac-16* durante una semana a temperatura ambiente.^[44]



Esquema 2.16: Autoensamble de macrociclos basados en ésteres borónicos provenientes de un tetraol y de un ácido diborónico quiral.

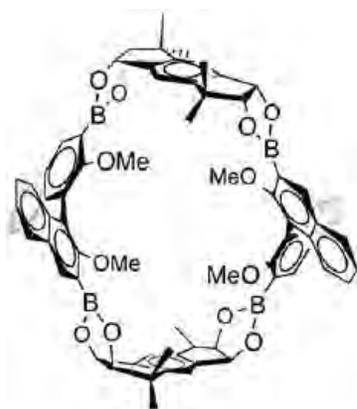


Figura 2.13: Estructura del macrociclo (**17a**) obtenido por autoensamble del tetraol, derivado de *s*-indaceno (Figura 2.11), y del ácido binaftildiborónico.^[39]

3.OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL.

Realizar un estudio cuantitativo del efecto de los sustituyentes y de la acidez del medio en la estabilidad de ésteres de ácidos arilborónicos, estableciendo además la relación entre las constantes de asociación y los valores de pK_a de diversos ácidos arilborónicos y 1,2-dioles.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Determinar las constantes de acidez K_a de cada uno de los ácidos arilborónicos y dioles, empleados en este estudio, mediante titulaciones potenciométricas.
2. Estudiar el efecto electrónico en la formación de ésteres borónicos en agua a partir de diversos ácidos arilborónicos y 1,2-dioles, con diferentes sustituyentes, por determinación de las constantes ρ de Hammett calculadas a partir de las constantes de equilibrio obtenidas mediante titulaciones potenciométricas.
3. Obtener perfiles de pH para las constantes de equilibrio observadas de la reacción entre diversos ácidos arilborónicos con un diol fluorescente soluble en agua, *Tiron*, mediante titulaciones seguidas por técnicas espectroscópicas, UV-Vis, Fluorescencia y RMN- ^{11}B a pH variable a fin de estudiar el efecto de la acidez del medio y de los sustituyentes en la estabilidad de los ésteres borónicos formados.
4. Comparar entre sí los resultados obtenidos de las constantes de equilibrio determinadas por diferentes técnicas.
5. Caracterizar los equilibrios de la formación de ésteres borónicos en agua por interacción de ácidos diborónicos con mono- y bis-catecoles mediante potenciometría y RMN- 1H .

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

4.1. REACTIVOS.

Se utilizaron reactivos comerciales de la compañía Sigma Aldrich® y Alfa Aesar® sin previa purificación; a continuación se mencionan tales reactivos empleados: Ácido fenil borónico, Ácido 4-(dimetilamino)fenil borónico, Ácido 3-clorofenil borónico, Ácido 4-clorofenil borónico 95%, Ácido 4-metoxifenil borónico, Ácido 3-nitrofenil borónico, Ácido 4-nitrofenil borónico, Ácido 3-(trifluorometil)fenil borónico, Ácido 4-(trifluorometil)fenil borónico, Ácido 1,3-bencendiborónico 97%, Ácido 1,4-bencendiborónico, Ácido bifenil-4,4'-diborónico, 4-nitrocatecol, sal disódica del ácido 4,5-dihidroxi-1,3-bencendisulfónico (Tiron), Pirocatecol, Glucosa 99.5%, 2,3-dihidroxibenzaldehído, Galeína (Violeta de alizarina), Rojo pirogalol, Ácido elágico, Ácido nordihidroguaiarético, 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol 96%, Buffers (CHES, MOPS, MES).

Se emplearon disolventes orgánicos grado reactivo, Metanol (MeOH) y Dimetilsulfóxido (DMSO), de la marca J. T. Baker® y Sigma Aldrich®, así como disolventes deuterados, óxido de deuterio D₂O (99.9% D) y DMSO-d₆ (99.9% D + 1% v/v TMS), de Sigma Aldrich® y Cambridge Isotope Laboratories, respectivamente.

El agua empleada para la preparación de disoluciones en los estudios de potenciometría y espectrofotometría fue destilada y desionizada con resistividad de 18±0.1 MΩ·cm a través de un equipo Nanopure Barnstead.

4.2. POTENCIOMETRÍA.

Las constantes de disociación ácida, de los diferentes ácidos fenilborónicos y 1,2-dioles, y las constantes de estabilidad para las reacciones de complejación, ácido borónico-diol, se determinaron por titulaciones potenciométricas. Las mediciones de pH 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, conforme se realizaban adiciones de disolución estándar de NaOH típicamente 0.5 M. 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 .

Todas las titulaciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno en un vaso de doble pared el cual se mantuvo a $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ empleando un baño de recirculación de agua. Se titularon disoluciones de 25 mL con una fuerza iónica de 0.05 M por adición de NaCl.

Para la determinación de constantes de estabilidad, se emplearon disoluciones de 2 a 5 mM, según la solubilidad de los ácidos borónicos, en presencia de 2 a 10 mM de catecoles ó 0.1 M de glucosa. Los valores de pK_a de todos los componentes se determinaron independientemente con disoluciones 2–5 mM y se emplearon como parámetros fijos en los ajustes de los resultados para las mezclas ácidos borónicos-dioles.

Para el cálculo de las constantes de equilibrio se empleó el programa Hyperquad 2003.^[45]

4.3. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-Vis Y FLUORESCENCIA.

Se realizaron titulaciones espectrofotométricas UV-Vis y fluorométricas en un intervalo de pH de entre 5.5 a 9.5, de una disolución de Tiron (0.1 mM para UV-Vis y 0.03 mM para fluorescencia) preparada en el buffer adecuado (MES, MOPS o CHES 0.05 M), con adiciones de disolución concentrada de ácido borónico preparada en el mismo buffer. Antes de obtener cada lectura, las mezclas se dejaron estabilizar durante 3 min. después de cada adición del ácido borónico.

Las mediciones espectrofotométricas UV-Vis se realizaron con dos equipos, Thermo Scientific Evolution y Hewlett Packard 8453, ambos de doble haz con arreglo de diodos, ventana espectral de 190–1100 nm, resolución de 1 nm y precisión de longitud de onda de $< \pm 0.5$ nm, equipados con compartimentos termostatados a $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ mediante un baño de recirculación de agua.

Las mediciones de intensidad de fluorescencia se realizaron en un espectrómetro Thermo Scientific Lumina con ventana espectral de 190–1100 nm, intervalo de intensidad de 0 a 65,000 cps equipado con compartimento termostatado a $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

En ambas técnicas se usaron celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

4.4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

Se realizaron titulaciones monitoreadas por resonancia magnética nuclear de ^{11}B y ^1H .

Los espectros de RMN- ^{11}B se obtuvieron en un equipo Varian Mercury con eterato de trifluoruro de boro ($\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{BF}_3$) en CDCl_3 como referencia externa usando 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.

A una disolución de 0.01 M del ácido borónico, en disolución buffer (MES) 0.05 M en D_2O a pH 5.5 (lectura de pH sin corregir), se le agregaron porciones de una disolución concentrada de Tiron preparada en el mismo buffer.

Los valores medidos de pH en D_2O se corrigen a los valores respectivos de pD con la ecuación $\text{pD} = \text{pH} + 0.4$.^[46]

Los espectros de RMN- ^1H se obtuvieron en un equipo Varian Unity Inova con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna, en este caso se adicionaron porciones de una disolución concentrada de NaOH a una mezcla de ácido borónico-bisdiol en $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO } d_6$ 1:1.

5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ESTUDIO CON DIOLES.

Se realizó un estudio de la estabilidad de ésteres borónicos formados a partir de diversos ácidos arilborónicos y dioles de acidez variable (Figura 5.1), tomando en consideración la reacción de formación del éster borónico tetraédrico.

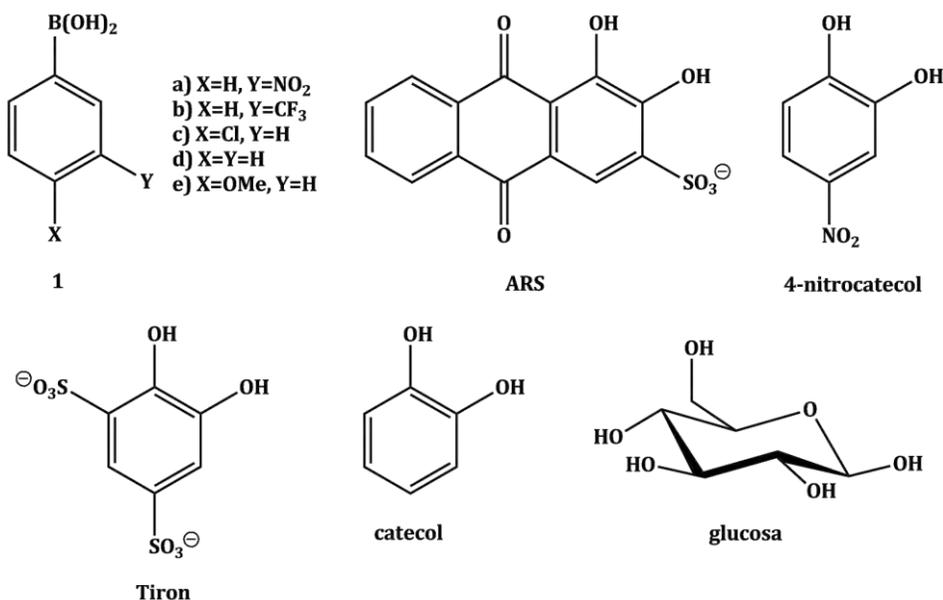
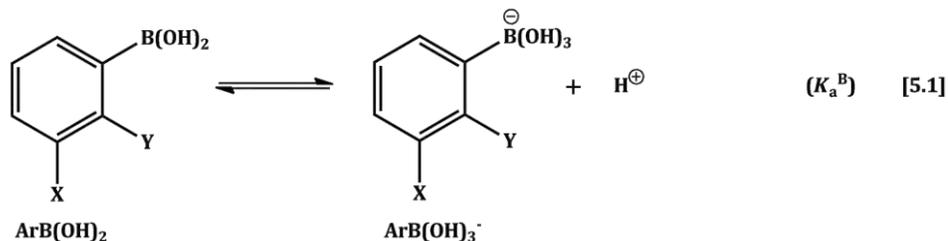
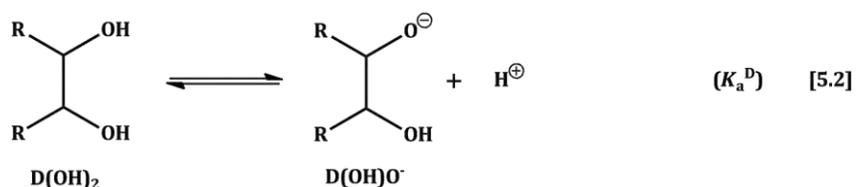


Figura 5.1: Ácidos arilborónicos y dioles empleados en este estudio.

Para la formación de los ésteres borónicos en un amplio intervalo de pH, se tiene que tomar en cuenta la desprotonación tanto del ácido borónico como del diol, por lo tanto, se consideraron simultáneamente los siguientes procesos: 1) La disociación del ácido borónico con su respectiva constante de disociación K_a^B (Equilibrio [5.1]), y 2) El primer paso de disociación del diol con su respectiva constante de disociación K_a^D (Equilibrio [5.2]).

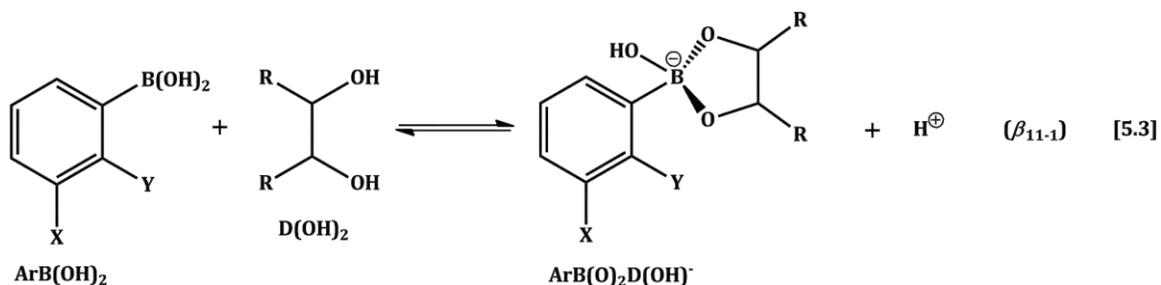


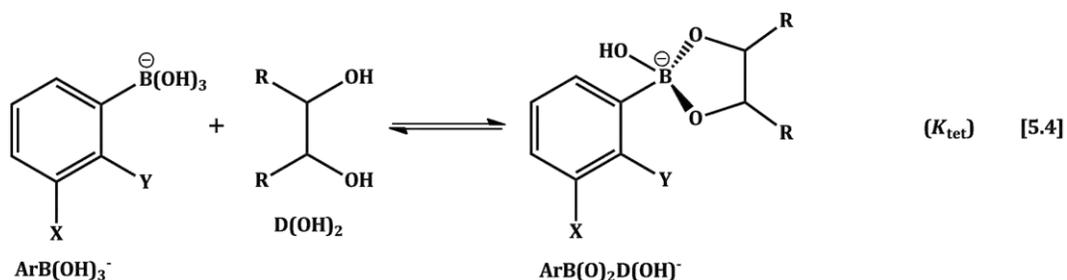


La segunda disociación de los dioles no se considera debido a que en condiciones experimentales no es posible llegar a valores de pH tan altos, comparables con el 2do. pK_a de los dioles (ver en Anexo, Tabla 7.1, valores de pK_{a2} reportados para los dioles empleados en este estudio).

Además en la formación de ésteres borónicos se tiene que considerar la formación de dos tipos de ésteres: el éster trigonal neutro y en el éster tetraédrico aniónico. Sin embargo en disoluciones acuosas diluidas, la formación del éster trigonal con algunas excepciones contribuye de manera insignificante al proceso completo. Cabe mencionar que a pesar de esto último, en el ajuste de resultados potenciométricos, para lo cual se empleó el programa Hyperquad 2003^[45], siempre se incluyó la formación del éster trigonal neutro dentro del esquema de reacción, pero las respectivas constantes de equilibrio fueron rechazadas durante el proceso iterativo que realiza el programa en el proceso de refinamiento de datos.

Así, para la formación del éster borónico se tiene de manera general la constante de equilibrio β_{11-1} (Equilibrio [5.3]) y se consideró también la formación del éster tetraédrico a partir de la interacción del ácido borónico desprotonado con el diol neutro (Equilibrio [5.4]). La constante de equilibrio K_{tet} para la reacción [5.4] es utilizada frecuentemente en la literatura porque dicha reacción formalmente corresponde a un proceso de asociación observado a valores altos de pH entre azúcares todavía neutros y ácidos borónicos ya desprotonados.





La ecuación que relaciona entre sí las constantes de equilibrio K_{tet} y β_{11-1} se muestra en la Ecuación (5.1).

$$K_{tet} = \frac{\beta_{11-1}}{K_a^B} \quad \text{ó} \quad \log K_{tet} = \log \beta_{11-1} + pK_a^B \quad (5.1)$$

Un parámetro experimental importante que refleja el grado de formación de los ésteres borónicos a cierto valor de pH, es la constante de formación observada (K_{obs}) (Ecuación (5.2)), la cual está definida en términos de las concentraciones totales de todos los componentes.

$$K_{obs} = \frac{[\text{ArB(O)}_2\text{D(OH)}^-]}{[\text{ArB(OH)}_2]_T [\text{D(OH)}_2]_T} \quad (5.2)$$

El subíndice “T” en la ecuación (5.2) se refiere a la concentración total, que es la suma de las formas neutras y desprotonadas de ácido borónico o diol; en el caso del éster debido a que la forma tetraédrica es el único producto de reacción, la concentración total del éster aniónico coincide con su concentración al equilibrio.

Al combinar la ecuación anterior con las ecuaciones de balance de masas y las expresiones respectivas para las constantes de disociación se obtiene la ecuación (5.3), con la cual es posible predecir los perfiles de K_{obs} en función del pH. El pH óptimo y la K_{obs} máxima correspondiente, se obtienen con las ecuaciones (5.4) y (5.5) respectivamente.

$$K_{obs} = \frac{\beta_{11-1}[\text{H}^+]}{(K_a^D + [\text{H}^+])(K_a^B + [\text{H}^+])} \quad (5.3)$$

$$\text{pH}_{opt} = \frac{(pK_a^D + pK_a^B)}{2} \quad (5.4)$$

$$K_{\text{obs}}^{\text{max}} = \frac{\beta_{11-1}/K_a^{\text{D}}}{\left(1 + (K_a^{\text{B}}/K_a^{\text{D}})^{0.5}\right)^2} \quad (5.5)$$

5.1.1. Potenciometría

Como primer paso, en este trabajo de investigación, se determinaron las constantes de disociación ácida de cada ácido borónico y diol mediante titulaciones potenciométricas. Las constantes de equilibrio para la reacción de formación de ésteres empleando todo el conjunto de ácidos borónicos y dioles también fueron determinadas por potenciometría. A modo de ejemplo, en la Figura 5.2, se muestran las curvas de titulación del ácido fenilborónico, Tiron y de la mezcla ácido fenilborónico-Tiron con hidróxido de sodio.

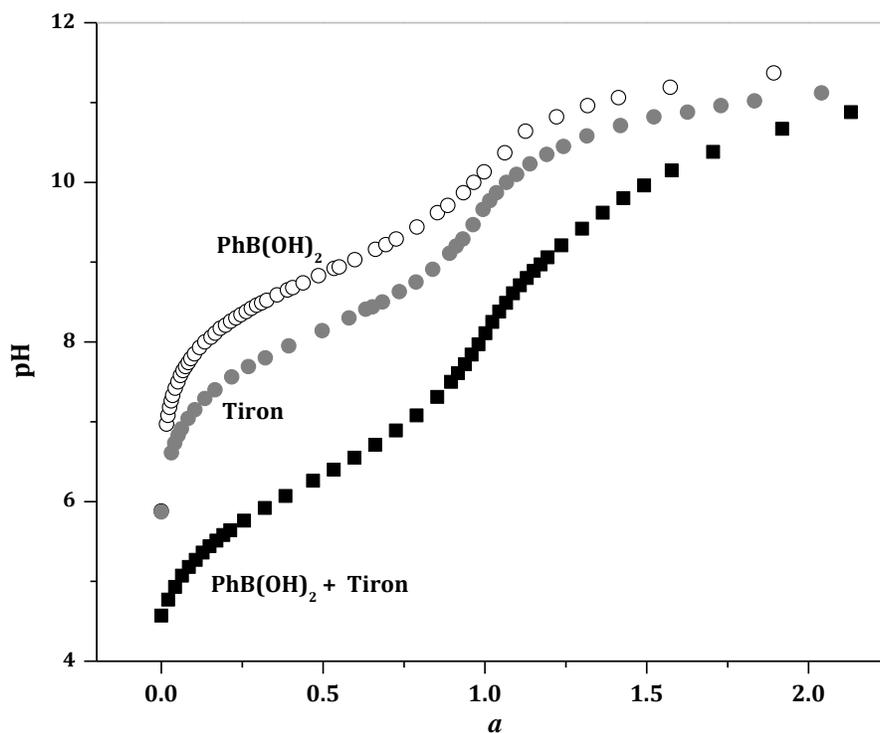


Figura 5.2: Curvas de titulación potenciométrica para el ácido fenilborónico 2 mM (círculos blancos), Tiron 2 mM (círculos grises) y para la mezcla 1:1 ácido fenilborónico con Tiron (cuadrados negros) con NaOH, a 25°C, fuerza iónica 0.05 M por adición de NaCl, “α” es el número de equivalentes de NaOH.

Las curvas de titulación potenciométrica tienen un perfil sigmoideal característico donde el salto de pH corresponde al punto de equivalencia. Lo que cualitativamente indica una interacción fuerte entre el ácido fenilborónico y Tiron, en acuerdo con la reacción [5.3],

es un notable desplazamiento de la curva de titulación de la mezcla a pH más bajo debido a la liberación de protón tras la formación del éster y además, la presencia de un solo punto de equivalencia (en caso de interacción débil debe titularse cada componente por separado y el punto de equivalencia debe corresponder a la suma de volúmenes de NaOH consumidos para la titulación de cada componente). Las constantes de equilibrio correspondientes se obtuvieron mediante el ajuste de los datos potenciométricos empleando el programa Hyperquad 2003^[45]. Los diagramas de distribución de especies del ácido fenilborónico y de la asociación del ácido con Tiron se muestran en la Figura 5.3, junto con las curvas teóricas de ajuste de datos experimentales.

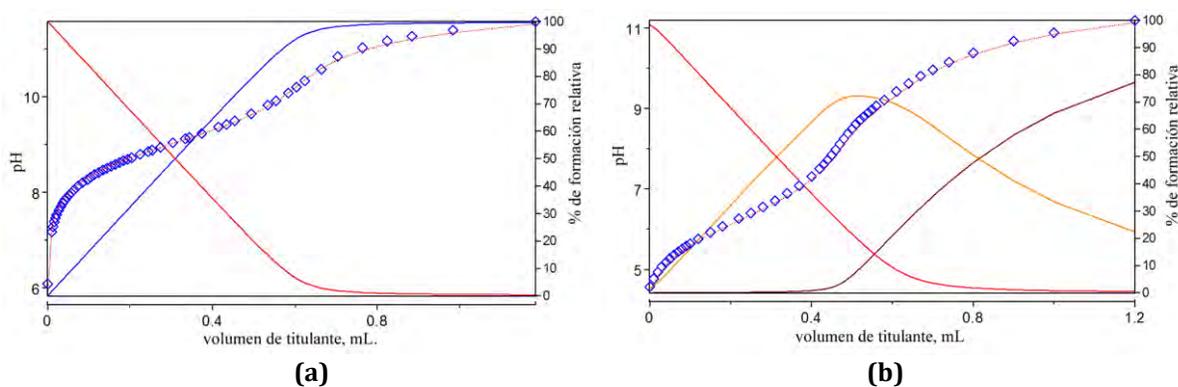


Figura 5.3: Diagramas de distribución de especies de: (a) ácido fenilborónico y (b) mezcla ácido fenilborónico-tiron, se muestra la curva titulación experimental (cuadrados) y el ajuste de la curva generado por Hyperquad (línea punteada).

Los valores de pK_a^B y pK_a^D determinados para todos los ácidos borónicos y dioles, además de las constantes de equilibrio β_{11-1} se muestran en la Tabla 5.1. Los valores de β_{11-1} para el diol rojo de alizarina S (ARS) con los diferentes ácidos borónicos se calcularon usando la Ecuación (5.3) a partir de valores de K_{obs} a pH 7.5 previamente reportados.^[8]

En acuerdo con resultados encontrados en la literatura,^[17b,35,36] los valores de pK_a^B determinados siguen la ecuación de Hammett (Ecuación (5.6), Figura 5.4) con un valor de $\rho = -2.0 \pm 0.1$ (pK_a^H es el valor de pK_a para el ácido fenilborónico sin sustituyente).

$$pK_a^B = \rho\sigma + pK_a^H \quad (5.6)$$

Tabla 5.1: Constantes de equilibrio para la formación de ésteres provenientes de diversos ácidos arilborónicos y dioles en agua a 25°C.

Ácido borónico			Dioles				
			ARS ^(a)	4-Nitrocatecol	Tiron	Catecol	Glucosa
sustituyente	$\sigma^{(b)}$	pK_a^B	$\log \beta_{11-1}^{(c)}$				
3-CO ₂ Me-5-NO ₂	1.08	6.74	-1.07				
4-NO ₂	0.78	7.23	-1.37		-2.19		
3-NO ₂	0.71	7.27	-1.29	-2.12	-2.28	-3.15	-5.36
3-CF ₃	0.43	7.94		-2.51	-2.77	-3.62	-5.85
4-CONH ₂	0.36	8.18	-1.87				
4-Cl	0.23	8.26		-2.87	-2.86	-3.96	-6.43
H	0	8.90	-2.30	-3.02	-3.48	-4.33	-6.75
4-MeO	-0.27	9.24		-3.41	-3.75	-4.84	-7.30
pK_a^D			5.5	6.90	8.16	9.32	12.25
P		-2.0	1.2	1.3	1.5	1.7	2.0

(a) Datos reportados en referencia [8], (b) Un compendio de constantes de Hammett en referencia [47] (c) Errores en $\log \beta_{11-1}$ son iguales o menores que ± 0.03 .

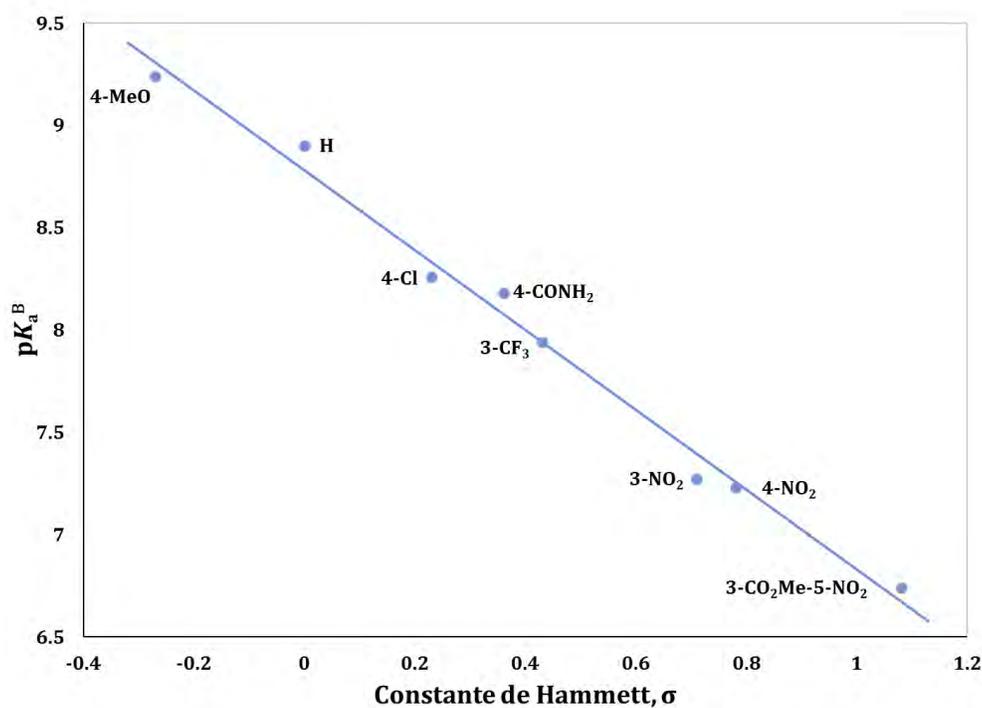


Figura 5.4: Gráfico de Hammett para el pK_a de los ácidos arilborónicos.

Un gráfico de Hammett para β_{11-1} , de acuerdo a la Ecuación (5.7), para cada par ácido borónico-diol, se muestra en la Figura 5.5, y los valores de ρ correspondientes se muestran en la Tabla 5.1.

$$\log \beta_{11-1} = \rho \sigma + \log \beta_{11-1}^H \quad (5.7)$$

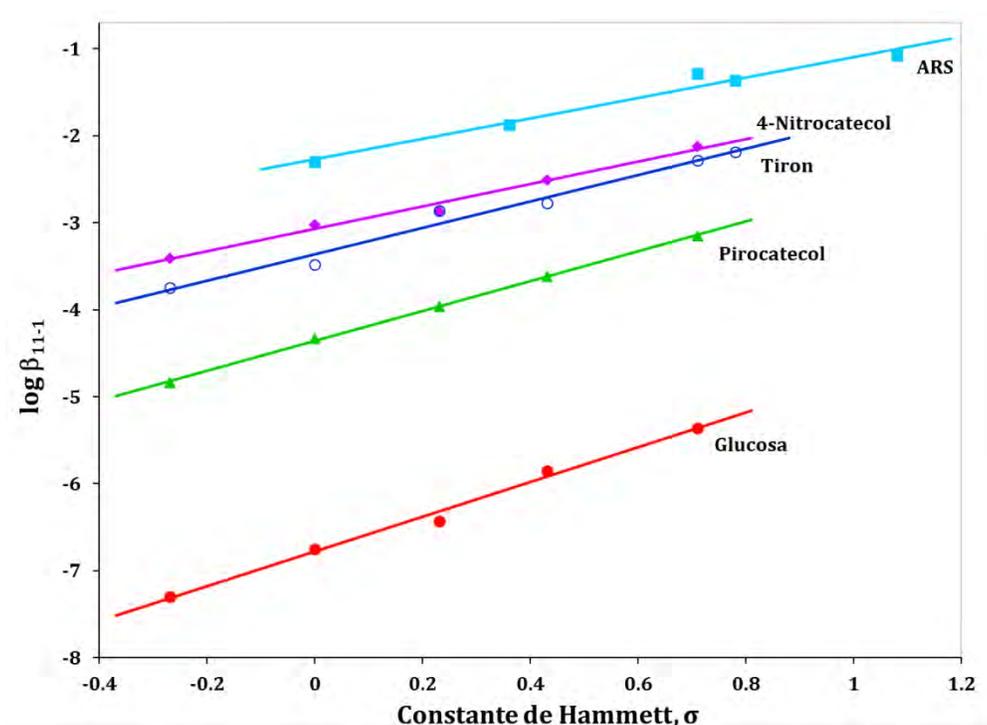


Figura 5.5: Gráfico de Hammett para $\log \beta_{11-1}$ con los diversos ácidos arilborónicos y dioles.

Como puede observarse, los valores de ρ son progresivamente más pequeños para los dioles con mayor acidez, dicha tendencia es la esperada debido a que el valor absoluto de ρ refleja el grado de carga negativa desarrollada sobre el grupo boronato del éster y los dioles con mayor acidez donan menor carga negativa.

El valor de ρ para los diferentes ácidos borónicos con glucosa coincide en su valor absoluto dentro del límite de los errores experimentales, con el valor de ρ para el pK_a^B pero con signo opuesto. Observando la Ecuación (5.1), esto último indica que K_{tet} para glucosa debe ser independiente del efecto de sustituyentes y esto se comprueba con la correlación de Hammett para K_{tet} , Figura 5.6, donde el valor respectivo de $\rho = 0.05 \pm 0.2$. Además con dioles de mayor acidez los valores absolutos de ρ (K_{tet}) son mayores, con signo negativo, y se enlistan en la Tabla 7.2 de Anexos.

Empleando la Ecuación (5.3) y con los valores de las constantes de equilibrio obtenidas por potenciometría, es posible obtener los perfiles de K_{obs} en función del pH. En la Figura 5.7, se muestran tales perfiles para el caso del diol con mayor acidez, ARS, y para el diol con menor acidez, la glucosa.

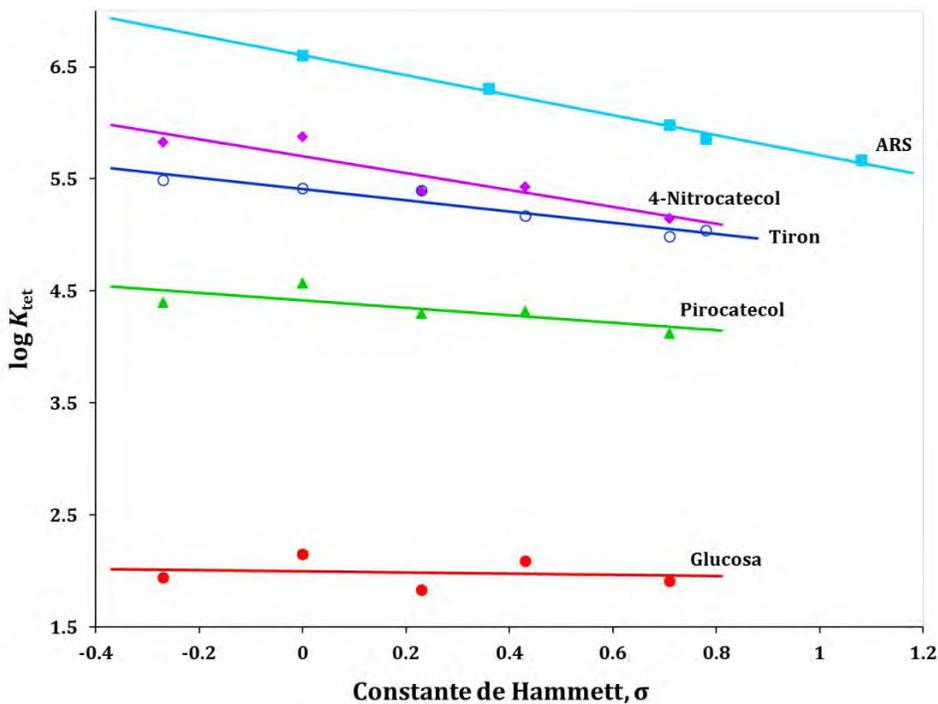


Figura 5.6: Gráfico de Hammett para $\log K_{tet}$ con los diversos ácidos arilborónicos y dioles.

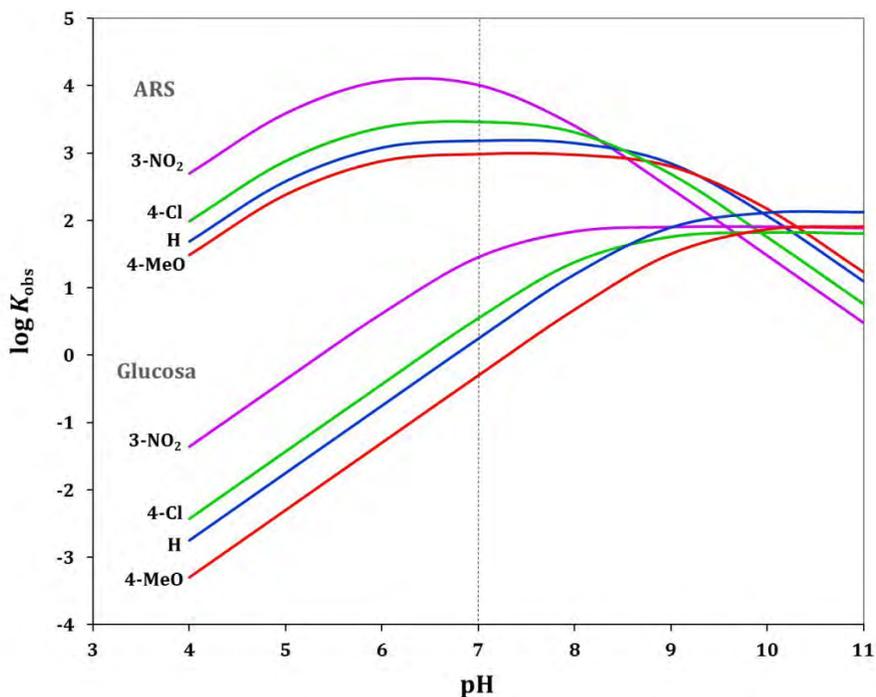


Figura 5.7: Perfiles de pH para $\log K_{obs}$ calculados con la ecuación 5.3 para ARS y glucosa con diferentes ácidos arilborónicos sustituidos.

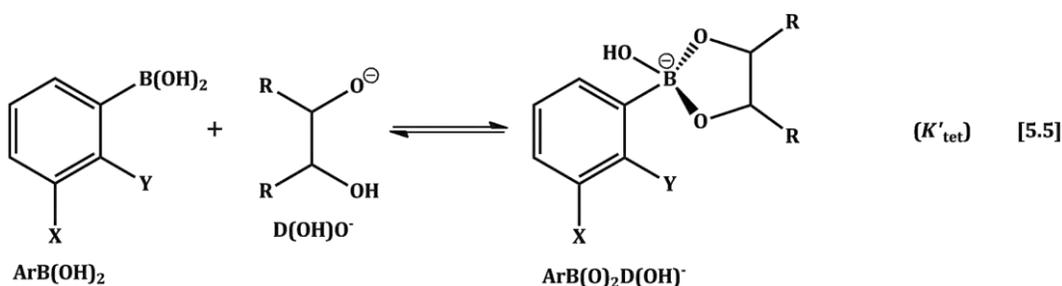
En el gráfico anterior (Figura 5.7) es posible observar que el pH óptimo es más pronunciado cuando los valores de pK_a del ácido borónico y el diol son cercanos entre sí, como ocurre en el caso de ARS y el ácido 3-nitrofenilborónico (**1a**, Figura 5.1) con $\Delta pK_a = 1.8$. Cuando existe una gran diferencia entre los valores de pK_a , como en el caso de glucosa con los diferentes ácidos borónicos, se observa una región plana alrededor del pH óptimo estimado teóricamente donde K_{obs} permanece prácticamente constante. Así, con dioles menos ácidos con valores de pK_a por arriba de 12, se observa un tipo de “saturación” en lugar de un gráfico en forma de campana. Observando la Ecuación (5.3) cuando $K_a^D \ll [H^+]$, condición que se cumple para la glucosa a $pH < 11$, la expresión para K_{obs} se convierte en la Ecuación (5.8), la cual predice un incremento de K_{obs} conforme aumenta el valor de pH (disminución en $[H^+]$), hasta el valor límite de $\beta_{11-1}/K_a^B = K_{tet}$.

$$K_{obs} = \frac{\beta_{11-1}}{K_a^B + [H^+]} \quad \text{cuando } K_a^D \ll [H^+] \quad (5.8)$$

El valor máximo de K_{obs} para ARS aumenta por más de un orden de magnitud al ir del ácido con menor acidez, (**1e**, Figura 5.1), al de mayor acidez (**1a**), mientras que con la glucosa permanece constante para todos los ácidos borónicos. Tales resultados pueden predecirse a partir de la Ecuación (5.5). En el caso de ARS, la relación $K_a^B/K_a^D \ll 1$ y $K_{obs}^{max} = \beta_{11-1}/K_a^D$, que para un mismo diol variará según β_{11-1} para los diferentes ácidos borónicos. Puede demostrarse que:

$$\frac{\beta_{11-1}}{K_a^D} = K'_{tet} \quad (5.9)$$

Donde K'_{tet} es la constante de equilibrio para la reacción entre el ácido borónico neutro y el diol monoaniónico, Equilibrio [5.5], que para el caso de ARS, es la forma en la que predominan los reactantes a pH alrededor del pH óptimo.



En el caso de la glucosa, $K_a^B/K_a^D \gg 1$ y $K_{\text{obs}}^{\text{max}} = \beta_{11-1}/K_a^B = K_{\text{tet}}$ (que como se analizó anteriormente es independiente del sustituyente); el mismo resultado se observa a partir de la ecuación (5.8) cuando $[H^+] \ll K_a^B$, lo cual corresponde a la región de pH donde K_{obs} alcanza su máximo valor.

Con un valor de pH=7 (ver datos a lo largo de la línea punteada, Figura 5.7), la K_{obs} aumenta al ir de **1e** a **1a** (Figura 5.1) en aproximadamente la misma medida para ambos dioles, aunque por diferentes razones. Para ARS esta es la variación en $K_{\text{obs}}^{\text{max}} \approx K'_{\text{tet}}$, mientras que para glucosa este es el efecto al desplazarse hacia la izquierda del perfil de pH al ir hacia valores más grandes de K_a^B con constante $K_{\text{obs}}^{\text{max}} = K_{\text{tet}}$.

5.1.2. Espectrofotometría UV-Vis y Fluorescencia

Para la determinación de las K_{obs} en un intervalo de pH, se eligió como reacción modelo la formación del éster borónico proveniente del 4,5-dihidroxi-1,3-bencendisulfonato (Tiron), un diol fluorescente soluble en agua, que nos permitió determinar las constantes por espectrofotometría UV-Vis y fluorometría. Los ácidos borónicos seleccionados para este estudio fueron el ácido fenilborónico sin sustituyente (**1d**, Figura 5.1), además de dos ácidos borónicos sustituidos, con un sustituyente electroattractor 3-nitro (**1a**) y con un sustituyente electrodonador 4-metoxi (**1e**), a fin de cubrir todo el intervalo de fuerza de los ácidos borónicos.

Antes de presentar los valores de K_{obs} obtenidos, se muestran los espectros de absorción y emisión de Tiron a pH variable (Figuras 5.8 y 5.9 respectivamente).

En el espectro de absorción la desprotonación de Tiron se manifiesta por la desaparición de un máximo en 291 nm y la aparición de dos máximos con mayor intensidad a 260 y 307 nm, con tres puntos isobésticos a 244, 280 y 293 nm. En el espectro de emisión la desprotonación de Tiron provoca el desplazamiento del máximo de emisión de 339 nm hacia un máximo con una intensidad tres veces menor a 369 nm.

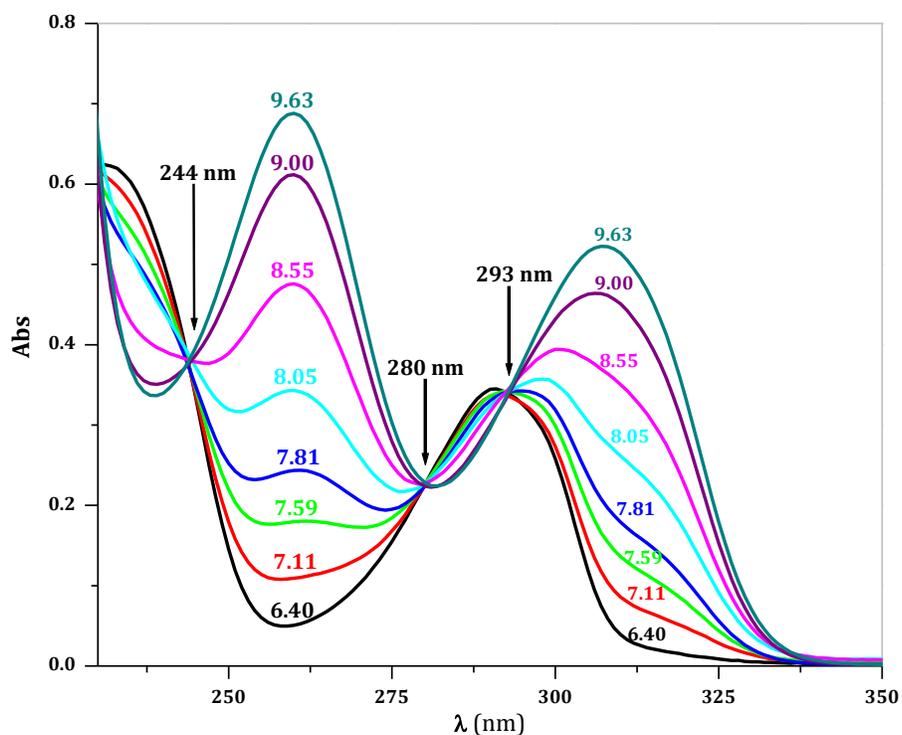


Figura 5.8: Espectros UV-Vis de Tiron 0.1 mM a pH variable. Los números sobre las curvas representan los valores de pH.

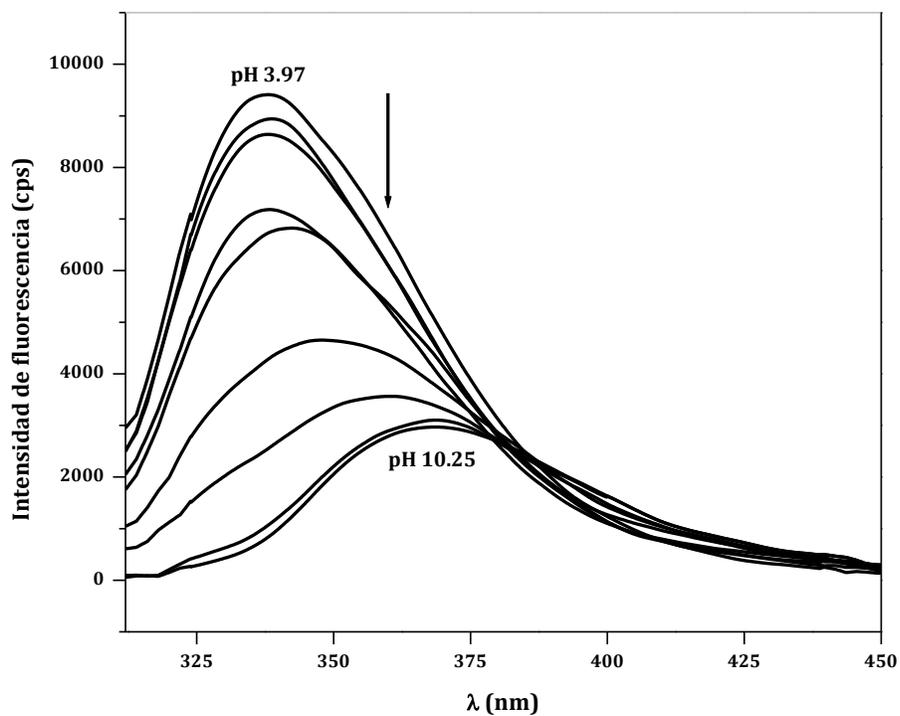


Figura 5.9: Espectros de fluorescencia de Tiron 0.03 mM a pH variable, excitación a 290 nm.

A partir del perfil de pH para la absorción a 308 nm y la emisión a 330 nm de Tiron (Figura 5.10) es posible calcular los valores de pK_a^D con valor 8.13 ± 0.04 y 7.82 ± 0.02 respectivamente. El valor de pK_a^D obtenido por espectrofotometría coincide con el determinado por potenciometría (Tabla 5.1), pero el valor obtenido por fluorescencia es menor en 0.3 unidades; dicho valor de pK_a^D obtenido por fluorimetría puede reflejar una mayor acidez del estado excitado de un fluoróforo comparado con su estado basal. En el caso de ARS, un efecto similar pero más pronunciado es observado, ya que su valor de pK_a^D determinado por espectrofotometría es de 5.5,^[48] mientras que por datos de fluorimetría es igual a 4.^[17,49]

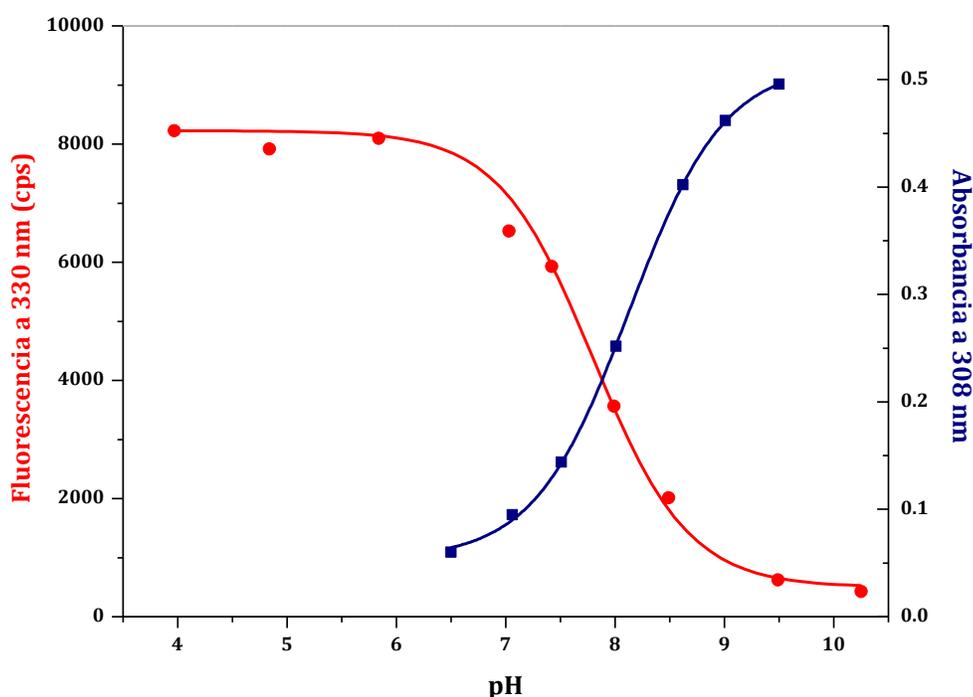


Figura 5.10: Perfiles de absorción (cuadrados) y emisión (círculos) de Tiron a diferente valor de pH.

En la titulación de Tiron con ácido fenilborónico a pH 7.4 seguida por espectrofotometría (Figura 5.11), se observa un desplazamiento del máximo de absorción a 280 nm, longitud de onda en la cual no hay interferencia de la absorción de ácido fenilborónico; dicho efecto observado después de la complejación del ácido borónico con diol se asemeja al efecto inducido por la desprotonación de Tiron como se espera por formación de un éster aniónico de acuerdo al Esquema 5.1. Los espectros de absorción de los ésteres borónicos obtenidos a partir de Tiron con los ácidos borónicos sustituidos se muestran

en la Figura 5.12; todos los ésteres tienen un máximo de absorción similar a 302 nm y una absorptividad molar cerca de $6000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

En el caso de la titulación de Tiron con ácido fenilborónico a pH 7.3 monitoreada por fluorometría (Figura 5.13), se observa que el máximo de emisión se desplaza hacia longitudes de onda más altas como ocurre con la desprotonación de Tiron, sin embargo la intensidad se incrementa en lugar de disminuir. Los espectros de emisión de los ésteres obtenidos a partir de Tiron y los diferentes ácidos borónicos sustituidos, además de los espectros de la forma neutra y aniónica de Tiron se muestran en la Figura 5.14 y como puede observarse, la intensidad de la fluorescencia es muy sensible al cambio de sustituyente, produciéndose el apagamiento de la fluorescencia con sustituyentes electroattractores; tal efecto es con frecuencia observado en fluoróforos orgánicos.

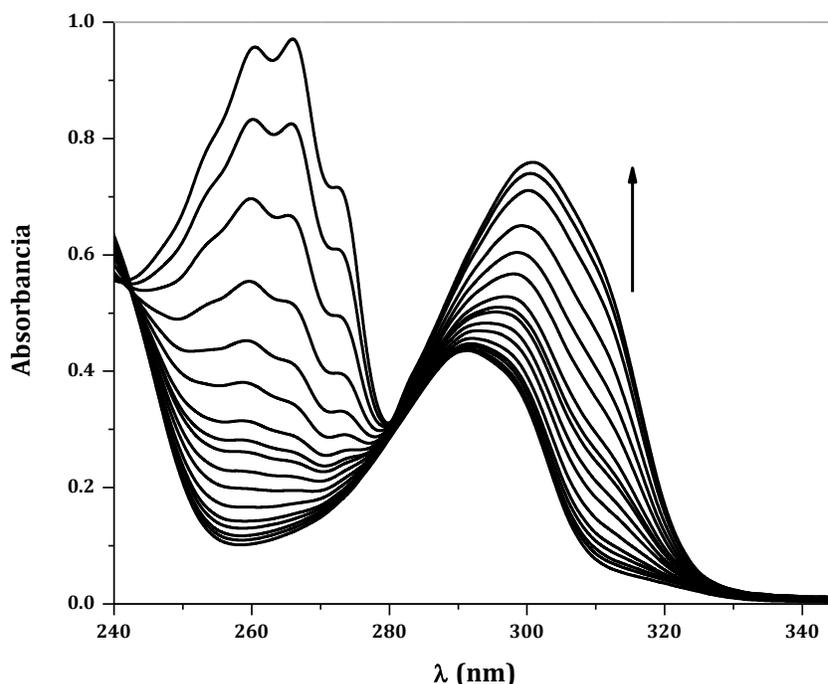


Figura 5.11: Titulación espectrofotométrica de Tiron 0.1 mM con ácido fenilborónico a pH 7.3, (buffer MOPS 0.05 M).

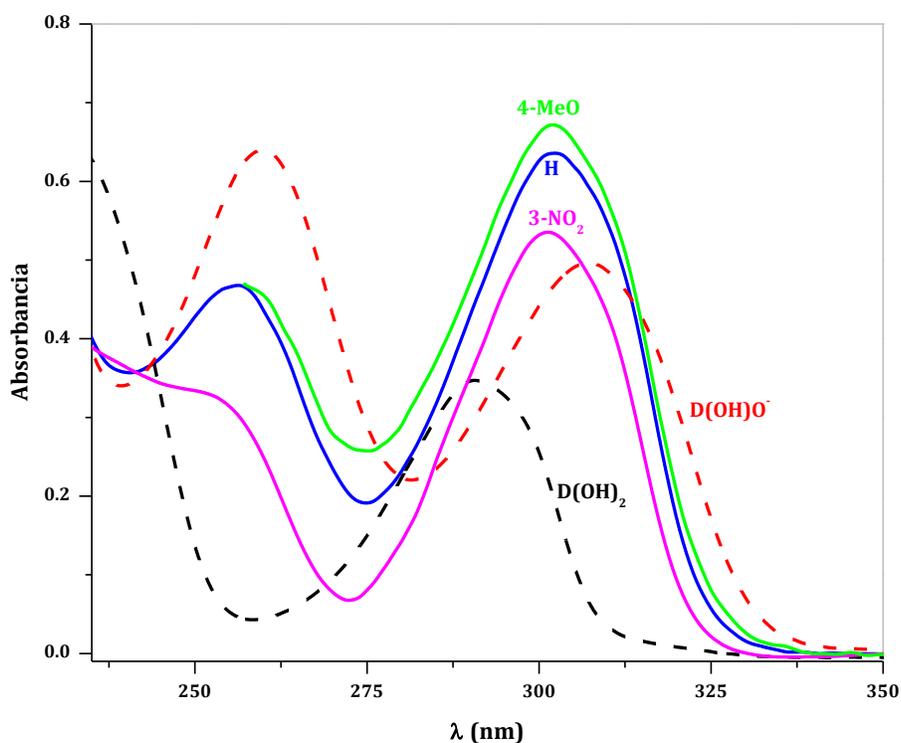


Figura 5.12: Espectros UV-Vis de ésteres borónicos 0.1 mM derivados de Tiron y diferentes ácidos arilborónicos sustituidos, líneas punteadas corresponden a los espectros de Tiron en su forma neutra y aniónica.

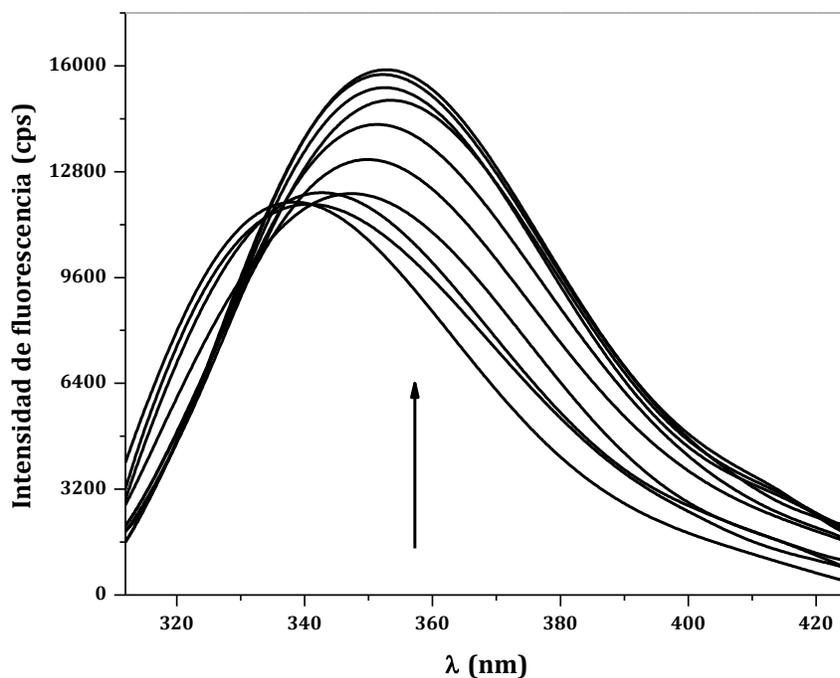


Figura 5.13: Titulación fluorométrica de Tiron 0.03 mM con ácido fenilborónico a pH 7.3, (buffer MOPS 0.05M), excitación a 290 nm.

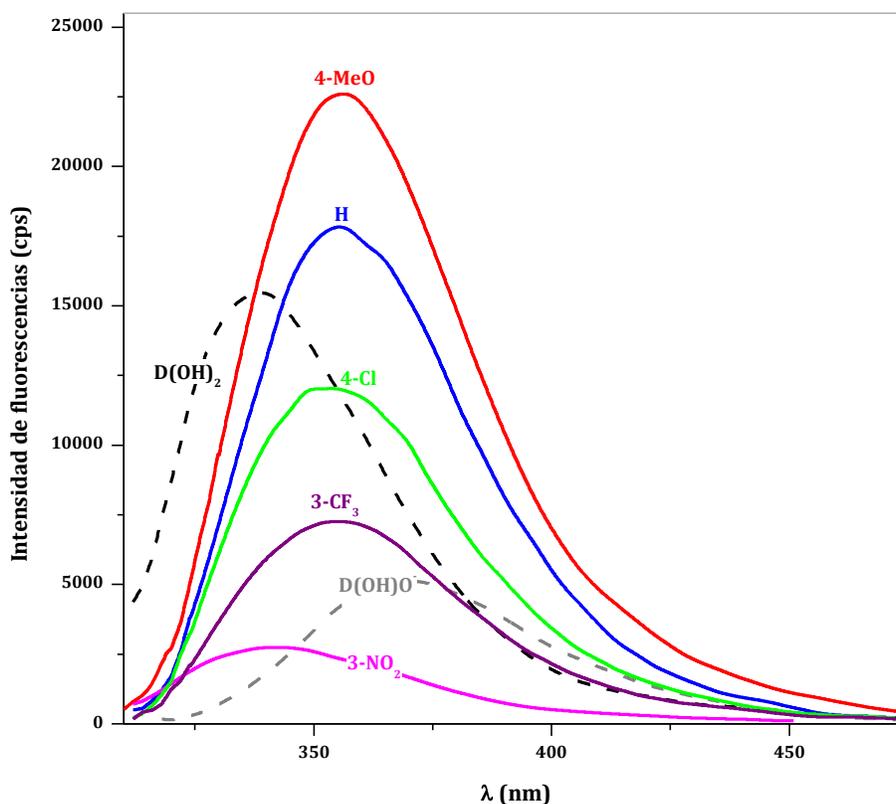


Figura 5.14: Espectros de emisión de ésteres borónicos 0.03 mM derivados de Tiron y diferentes ácidos arilborónicos sustituidos. Las líneas punteadas corresponden a los espectros de Tiron en su forma neutra y aniónica.

Los perfiles de las titulaciones espectrofotométricas y fluorométricas observados a una sola longitud de onda (Figuras 5.15 y 5.16, respectivamente), se ajustan a un modelo teórico para una reacción estequiométrica 1:1, lo cual nos permite calcular el valor de la constante observada. De esta manera, las constantes de equilibrio observadas (K_{obs}) para la formación del éster borónico fueron calculadas a partir de perfiles de absorbancia o intensidad de fluorescencia (A) contra concentración de ácido borónico (B) a una sola longitud de onda por ajuste de mínimos cuadrados con la Ecuación (5.9), empleando el programa Origin Pro 8.5.0.

$$A = A_0 + 0.5\Delta\epsilon \left[[D]_T + [B]_T + \frac{1}{K_{obs}} - \left(\left([D]_T + [B]_T + \frac{1}{K_{obs}} \right)^2 - 4[D]_T[B]_T \right)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (5.9)$$

En la ecuación (5.9) el subíndice T se refiere a concentraciones totales, A_0 es la absorbancia o intensidad de fluorescencia inicial de Tiron (D), medida en ausencia de B, y $\Delta\epsilon$ es la diferencia en absorptividades molares o de los respectivos coeficientes de

proporcionalidad para la fluorescencia del éster borónico y tiron libre. Los valores logarítmicos de K_{obs} calculados mediante el ajuste de los datos obtenidos por espectrofotometría y fluorimetría a diferentes valores de pH se presentan en la Tabla 5.2.

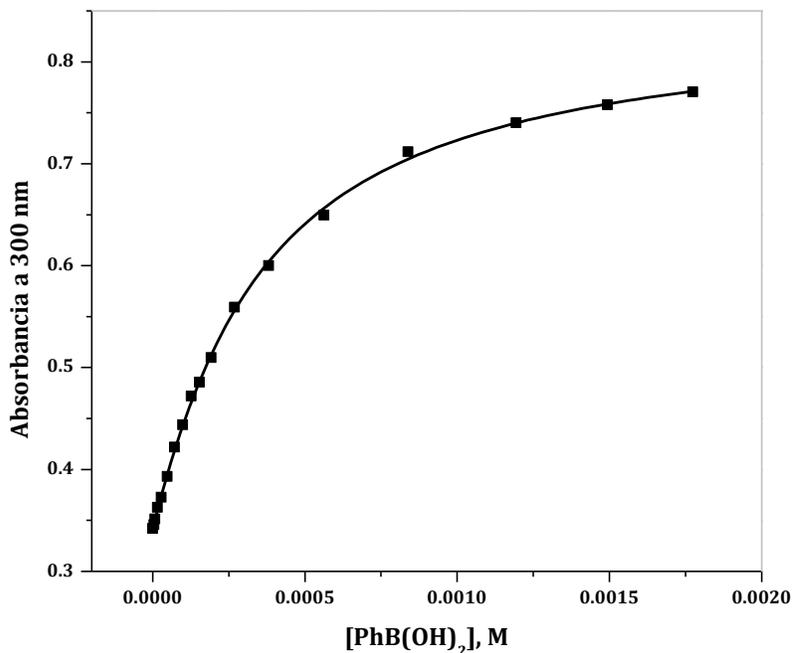


Figura 5.15: Perfil de titulación espectrofotométrica a 330 nm. Titulación de Tiron 0.1 mM con ácido fenilborónico a pH 7.3, (buffer MOPS 0.05 M).

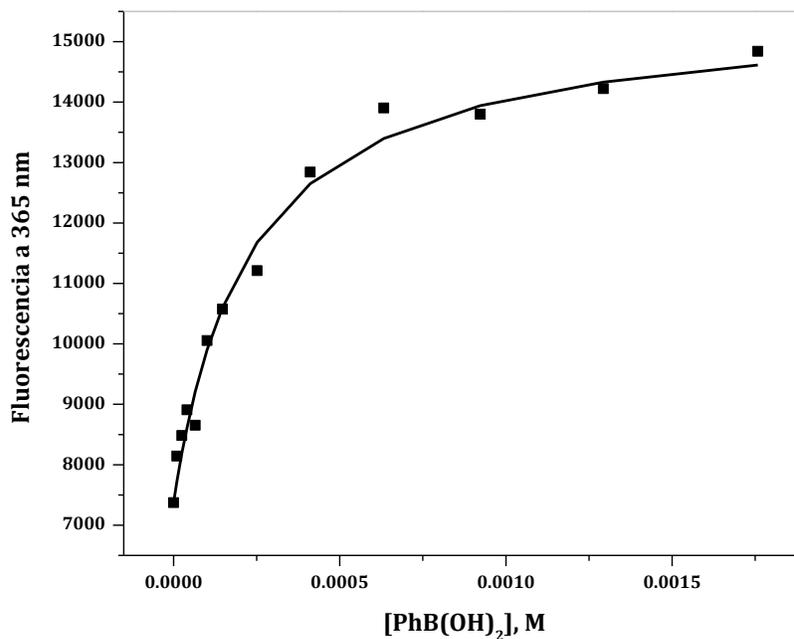


Figura 5.16: Perfil de titulación fluorométrica a 365 nm. Titulación de Tiron 0.03 mM con ácido fenilborónico a pH 7.3, (buffer MOPS 0.05 M), excitación a 290 nm.

Tabla 5.2: Logaritmos de la constantes de estabilidad observadas a 25°C para ésteres, provenientes de tiron y diferentes ácidos arilborónicos sustituidos, determinadas por titulaciones UV-Vis y fluorometría a pH variable.

pH	log $K_{\text{obs}}^{(a)}$	
	UV-Vis	Fluorescencia
3-NO₂ (1a)		
5.5	3.25	
7.11	4.51	
7.59	4.93	4.85
8.05	4.7	4.8
H (1d)		
5.5	2.1	
6.5	3.25	
7	3.75	3.16
7.4	3.98	3.7
7.8	4.2	4.3
8.5	4.38	
9	4.28	4.18
9.6	3.87	
4-MeO (1e)		
5.5	1.9	
6.5	2.86	2.99
7.06	3.41	3.34
7.51	3.64	3.57
8.01	3.94	3.83
8.62	4.08	3.97
9.01	4.06	3.85
9.51	3.87	

(a) Errores iguales o menores que ± 0.05

Los resultados espectrofotométricos y de fluorescencia concuerdan entre sí en los límites de los errores absolutos, así que, en el análisis siguiente solo se usarán los datos obtenidos por espectrofotometría debido a que son los más reproducibles.

Los perfiles del logaritmo de las constantes observadas en función del pH, obtenidas por espectrofotometría se muestran gráficamente en la Figura 5.17. Las líneas sólidas son los perfiles teóricos calculados usando la ecuación (5.3) y los parámetros obtenidos por potenciometría (β_{11-1} , pK_a^B y pK_a^D , Tabla 5.1). Los resultados espectrofotométricos se

acercan a los perfiles calculados de los datos potenciométricos pero no siguen el perfil exacto.

Los valores de K_{obs} pueden usarse para calcular los valores de β_{11-1} a cada valor de pH, aplicando la ecuación (5.3) y empleando también los valores de pK_a^B y pK_a^D determinados por potenciometría. Los valores promedio de $\log \beta_{11-1}$ para los diferentes ácidos borónicos son: -2.21(4), -3.40(4) y -3.80(5) para **1a**, **1d** y **1e**, respectivamente; tales valores de $\log \beta_{11-1}$ coinciden con los obtenidos por potenciometría (Tabla 5.1) dentro de los límites de error.

Por otra parte, es posible ajustar los perfiles de K_{obs} empleando de manera directa la ecuación (5.3) a fin de obtener todos los parámetros a partir de únicamente datos espectrofotométricos. Tales ajustes se muestran como líneas punteadas en la Figura 5.17 y nos proporcionan el siguiente conjunto de parámetros: $\log \beta_{11-1} = -2.20(1)$, $-3.28(4)$ y $-3.61(2)$; $pK_a^D = 8.2(3)$, $7.9(1)$ y $7.79(5)$; $pK_a^B = 7.3(3)$, $9.0(2)$ y $9.5(1)$, para **1a**, **1d** y **1e**, respectivamente. Para el ácido 3-nitrofenilborónico (**1a**), los resultados espectrofotométricos son muy cercanos a los potenciométricos, pero para el caso de los otros dos ácidos, **1d** y **1e**, el ajuste de los datos espectrofotométricos requiere de valores de pK_a más bajos de Tiron y valores más altos de pK_a^B que los determinados por potenciometría. Dicha diferencia no puede atribuirse a un tipo de efecto del buffer, puesto que como se observó anteriormente, el valor de pK_a de Tiron determinado espectrofotométricamente, empleando los mismos buffers que los usados para las titulaciones con ácidos borónicos, coincide con su valor determinado por potenciometría. Además el valor de K_{obs} es independiente de la concentración de buffer en el intervalo de 5–50 mM.

Una posible causa de la diferencia entre los resultados espectrofotométricos y potenciométricos es que exista una significativa interdependencia entre los valores de los parámetros de la ecuación (5.3), de tal manera que las iteraciones durante el procedimiento de ajuste encuentran un mínimo con un valor pequeño de β_{11-1} , el cual es de cierta forma compensado por el desplazamiento de valores de pK_a . La interdependencia de parámetros parece ser menor en las interacciones entre ácidos borónicos y dioles que poseen una mayor diferencia entre sus valores de pK_a , ya que en este caso, la región de pH óptimo es más amplia. La mejor manera de obtener valores de

β_{11-1} a partir de titulaciones espectrofotométricas es aplicando la ecuación (5.3) con los valores ajustados de pK_a determinados independientemente.

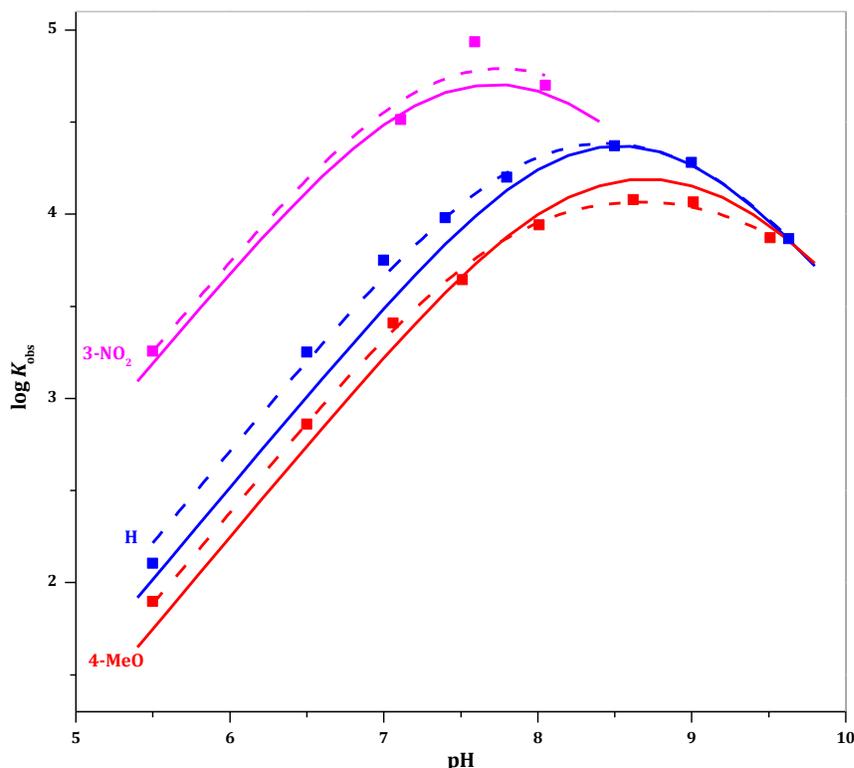


Figura 5.17: Perfiles de $\log K_{obs}$ en función del pH para la formación de ésteres borónicos derivados de Tiron con **1a**, **1b** y **1e**. Las líneas sólidas corresponden a los perfiles teóricos calculados con parámetros obtenidos por potenciometría y las líneas punteadas corresponden al ajuste de las curvas.

5.1.3. Resonancia Magnética Nuclear de ¹¹B

Se realizaron titulaciones monitoreadas por RMN-¹¹B de tres ácidos borónicos **1a**, **1d** y **1e** (Figura 5.1) con Tiron a pH 5.5.

En la figura 5.18 se muestra el seguimiento de una titulación para **1a**, y como puede observarse en ausencia de Tiron solo se encuentra una señal a 31.0 ppm correspondiente a la forma trigonal neutra del ácido 3-nitrofenilborónico. A medida que se adiciona el diol se observa una nueva señal creciente a 12.9 ppm, que corresponde al éster boronato tetraédrico, y el simultáneo decrecimiento de la señal en 31.0 ppm. Para los ácidos **1d** y **1e** las respectivas señales son observadas a 31.8 ppm y 31.6 ppm para los ácidos libres,

mientras que las señales para los ésteres derivados se observan a 13.4 y 13.5 ppm respectivamente (Anexo, Figuras 7.8 y 7.9).

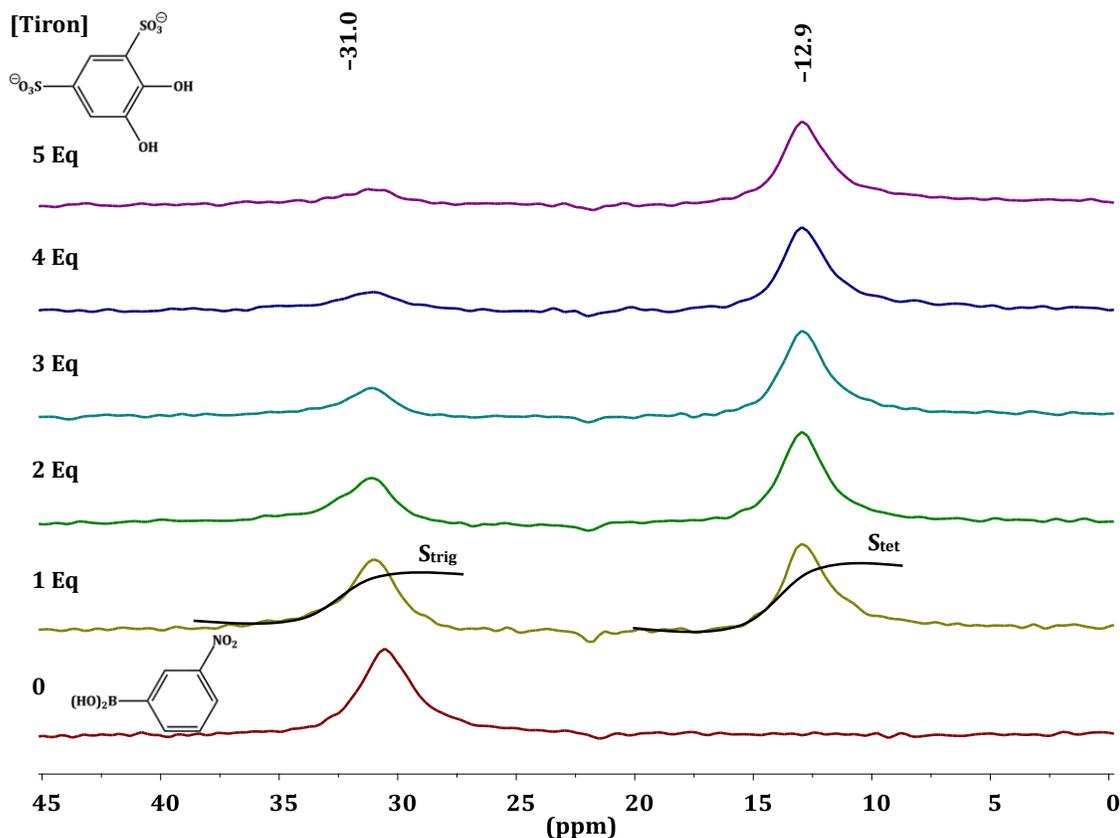


Figura 5.18: Titulación seguida por RMN ^{11}B del ácido 3-nitrofenilborónico 0.01 M con Tiron a pH 5.5 (buffer MES 0.05 M en D_2O).

La relación entre la integral de la señal del éster y la integral de la señal del ácido borónico libre ($S_{\text{tet}}/S_{\text{tri}}$) es igual a la relación de concentraciones, por lo tanto es posible calcular la concentración de todos los componentes al equilibrio a partir de la ecuación del balance de masas para finalmente calcular la K_{obs} de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\frac{S_{\text{tet}}}{S_{\text{tri}}} = \frac{[\text{éster}]}{[\text{ácido borónico libre}]} = K_{\text{obs}}[\text{diol libre}] \quad (5.10)$$

En la Figura 5.19 se muestra un gráfico de $S_{\text{tet}}/S_{\text{tri}}$ en función de la concentración de Tiron libre, en donde la pendiente de la recta es la constante observada. Los valores de K_{obs} para la formación de ésteres a partir de los ácidos **1a**, **1b** y **1e** se encuentran en la tabla 5.3.

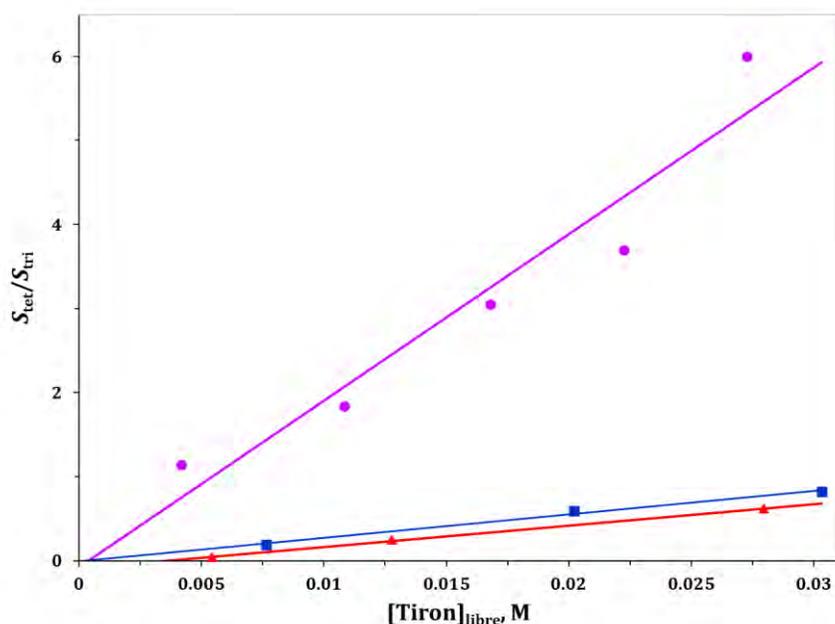


Figura 5.19: Gráfico de S_{tet}/S_{tri} en función de la concentración de Tiron libre para los ácidos borónicos **1a** (círculos), **1d** (cuadrados), y **1e** (triángulos).

La $K_{obs}=190 M^{-1}$ para **1a** calculada mediante esta técnica es un orden de magnitud menor que el valor esperado de acuerdo a los resultados de potenciometría y fluorimetría (Figura 5.17). Debido a que las titulaciones seguidas por RMN se realizaron en agua deuterada (D_2O) y podría haber efecto isotópico del disolvente involucrado, se decidió repetir las titulaciones espectrofotométricas de Tiron con los tres ácidos borónicos en las mismas condiciones que para RMN, en agua deuterada, pH 5.5 y con igual concentración de buffer (MES 0.05M) (Anexo, Figuras 8.4-8.6). Los valores de K_{obs} obtenidos por espectrofotometría en tales condiciones se muestran en la tabla 5.3.

Tabla 5.3: Constantes de estabilidad observadas para ésteres, provenientes de tiron y ácidos arilborónicos sustituidos, determinadas por titulaciones UV-Vis y RMN ^{11}B en D_2O a pH 5.5.

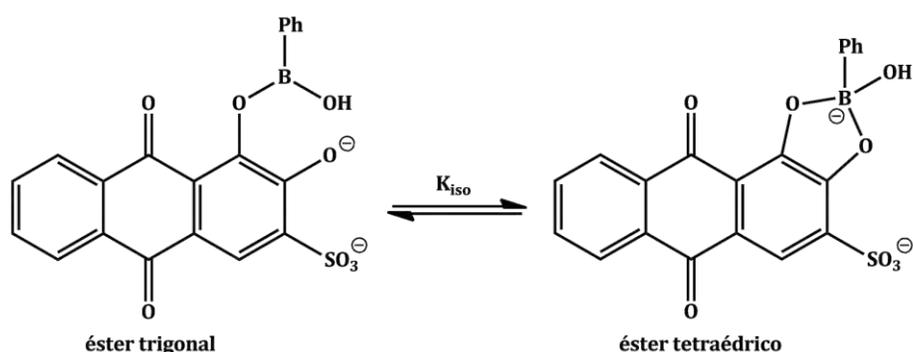
Ácido borónico	K_{obs}, M^{-1}	
	UV-Vis	RMN ^{11}B
1a	1600±100	190±20
1d	110±8	27±5
1e	70±7	21±6

Las constantes determinadas por espectrofotometría en D_2O son alrededor de 10% menores a las calculadas en H_2O , pero en todos los casos los valores de K_{obs} obtenidos

por RMN son mucho más bajos, con una diferencia más marcada para el ácido 3-nitrofenilborónico.

Otra diferencia en las condiciones experimentales empleadas, es el intervalo de concentraciones de ácido borónico y Tiron, el cual es más alto para el caso de las titulaciones seguidas por RMN (10–50 mM) con respecto al intervalo empleado para las titulaciones espectrofotométricas (0.1–5 mM). Esto último puede alterar los coeficientes de actividad y conducir a la formación en cierto grado de agregados moleculares;^[30] sin embargo, estos efectos no pueden ser tan significativos tomando en cuenta que se está usando la misma concentración total de buffer 0.05 M en ambos experimentos.

Así que, los valores bajos de K_{obs} calculados por RMN son resultado de la pequeña integración del área de la señal que corresponde al éster borónico tetraédrico. En la reacción de ácido fenilborónico (**1d**) con ARS reportada por Benkovic^[50], se sugiere que esto se debe a que el éster borónico en su forma tetraédrica es el producto minoritario en comparación con la forma trigonal con la cual se encuentra en equilibrio (Esquema 5.1), y que la señal del éster trigonal no es resuelta en el espectro de ^{11}B por la posible superposición con la señal del ácido borónico libre. Sin embargo, los resultados obtenidos en la Figura 5.19, no se ajustan a dicho modelo.



Esquema 5.1: Equilibrio entre la forma trigonal y la forma tetraédrica del éster formado a partir de ARS y ácido fenilborónico.

Si los productos de reacción existen como una mezcla de varios isómeros de la misma estequiometría, la K_{obs} medida por titulación espectrofotométrica, es la suma de las constantes de formación de todos los isómeros y se refiere a la conversión de los reactivos de partida hacia la suma de las concentraciones de todos los isómeros. En el caso de **1a**,

con $K_{\text{obs}}=1600 \text{ M}^{-1}$, la adición del primer equivalente de Tiron debe convertir al ácido borónico en la mezcla de ésteres casi de manera cuantitativa; la relación debería ser cercana a la constante de isomerización (K_{iso}) y permanecer constante aún con adiciones de Tiron, sin embargo al incrementar la concentración de Tiron, la relación $S_{\text{tet}}/S_{\text{tri}}$ aumenta de manera proporcional.

Por lo tanto, si $S_{\text{tet}}/S_{\text{tri}}$ alcanza un valor de seis, la fracción del isómero tetraédrico debe estar por arriba del 85% y el isómero trigonal debe ser el componente minoritario.

Dicho lo anterior, es difícil proponer un esquema de reacción que pueda explicar la anomalía del valor bajo de K_{obs} determinado en este caso por RMN ^{11}B .

Cabe mencionar que lo descrito en la literatura sobre la determinación de constantes de estabilidad de ésteres borónicos por la integración de señales en RMN ^{11}B y la confirmación de resultados mediante la determinación de las constantes de equilibrio por medio de otras técnicas, solo se ha empleado en la interacción de carbohidratos o dioles alifáticos con ácido bórico o metilborónico, los cuales dan señales más delgadas.^[18, 51]

Un posible problema en el caso de ácidos arilborónicos y dioles aromáticos podría ser la existencia de interacciones cuadrupolares entre el núcleo de ^{11}B y los anillos aromáticos, conduciendo al ensanchamiento de las señales y por lo tanto a la falta de proporcionalidad entre el área de las señales y la concentración de las respectivas especies.

5.1.4. Análisis del efecto de sustituyentes en términos de relación de Brønsted

Para un estudio más detallado del efecto de los sustituyentes en la formación de los ésteres borónicos, se analizó la posible correlación de tipo Brønsted de los parámetros de la ecuación de Hammett (Ecuación (5.6)) con los valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ de dioles, por lo que se realizaron gráficos de la constante de reacción ρ y de $\log \beta_{11-1}$ en función del $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ (Figura 5.20), obteniendo funciones lineales en acuerdo con las ecuaciones (5.11) y (5.12).

$$\rho = 0.5 \pm 0.1 + (0.13 \pm 0.01)pK_a^D \quad (5.11)$$

$$\log \beta_{11-1}^H = 1.7 \pm 0.6 - (0.67 \pm 0.07)pK_a^D \quad (5.12)$$

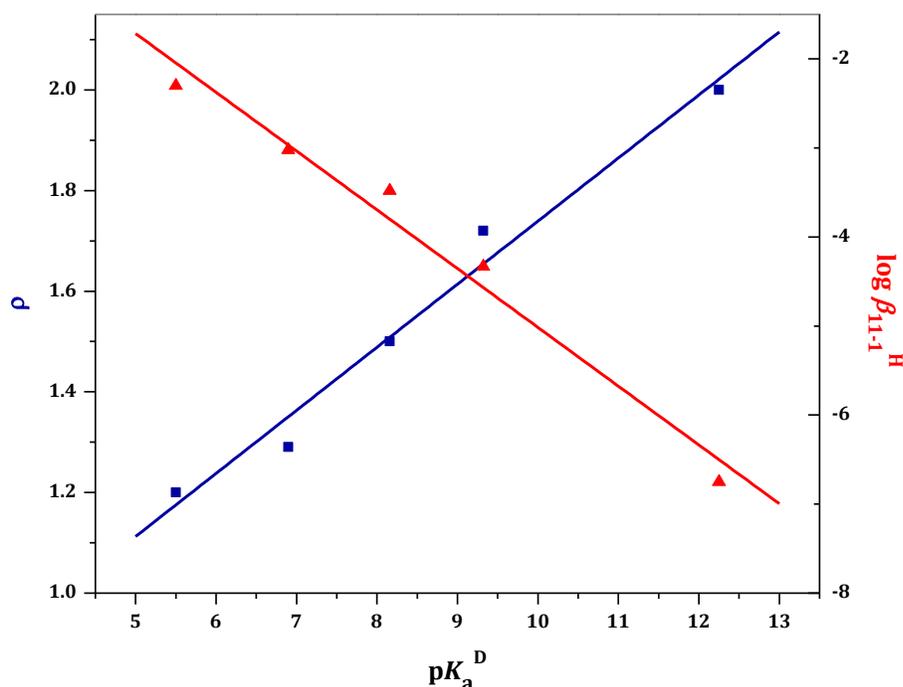


Figura 5.20: Correlación de los parámetros de la ecuación de Hammett (constante ρ , cuadrados, y $\log \beta_{11-1}$, triángulos), para la formación de ésteres borónicos, con el pK_a de dioles.

Claramente la presencia de glucosa en la misma correlación lineal con dioles aromáticos es inesperada, puesto que su interacción con ácidos borónicos es en su forma minoritaria, furanosa^[52], mientras que el valor reportado de pK_a se refiere a su forma mayoritaria, piranosa. Sin embargo, tal situación permite elaborar una ecuación general, la cual predice el valor de $\log \beta_{11-1}$ para cualquier par diol-ácido borónico a partir de los valores de pK_a de ambos componentes. Así, de la combinación de las ecuaciones (5.6), (5.7) con (5.11), (5.12) y parámetros redondeados según sus errores estándar, se obtiene la ecuación (5.13).

$$\log \beta_{11-1} = 3.9 - 0.25pK_a^B - 0.1pK_a^D - 0.065 - 0.1pK_a^B pK_a^D \quad (5.13)$$

La correlación de los valores logarítmicos de las constantes de estabilidad experimentales ($\log \beta_{11-1}^{exp}$), de todo el conjunto de ácidos borónicos y dioles en Tabla 5.1, con los valores calculados ($\log \beta_{11-1}^{cal}$), se muestran en la Figura 5.21; tal correlación

sigue la ecuación (5.14) con un coeficiente de 0.98554 y una desviación estándar de 0.3 que corresponde aproximadamente a la precisión de la ecuación (5.13) según los errores estándar en sus parámetros.

$$\log \beta_{11-1}^{exp} = (1.00 \pm 0.03) \log \beta_{11-1}^{cal} + (-0.05 \pm 0.1) \quad (5.14)$$

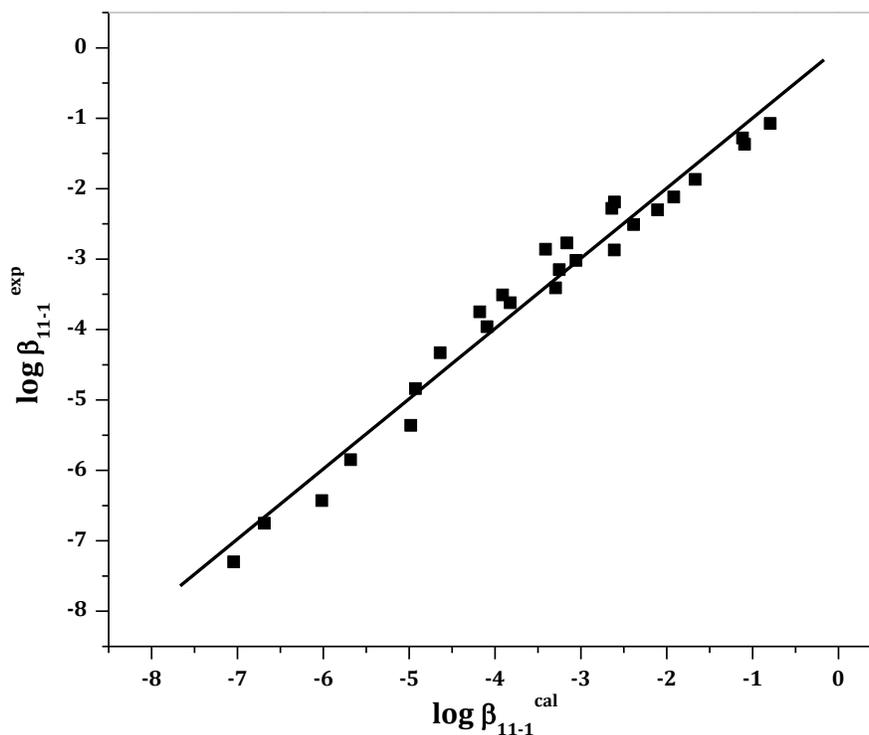


Figura 5.21: Correlación entre el logaritmo de las constantes de equilibrio experimentales y las constantes de equilibrio calculadas mediante la ecuación (5.13) para la formación de ésteres borónicos a partir de todo el conjunto de ácidos borónicos y dioles de la Tabla 5.1.

Con el fin de evaluar la validez de la ecuación (5.13) y su posible aplicación en el análisis de datos experimentales se procedió a comparar las constantes de equilibrio experimentales con las constantes calculadas mediante la ecuación obtenida, para un grupo de 45 reacciones entre diferentes tipos de ácidos borónicos y dioles (Tabla 5.4 y Figura 5.22) para los cuales los valores de pK_a^B y pK_a^D se encuentran en literatura, junto con los valores de $\log \beta_{11-1}$ o K_{obs} a cierto pH a partir del cual se puede calcular los valores de β_{11-1} con la ecuación (5.3).

El resultado de la correlación entre los valores de $\log \beta_{11-1}^{exp}$ y $\log \beta_{11-1}^{cal}$, a partir de los datos encontrados en la literatura, se muestra en la Figura 5.23, en donde la recta corresponde a $\beta_{11-1}^{exp} = \beta_{11-1}^{cal}$

Tabla 5.4: Constantes de equilibrio experimentales y calculadas con ecuación (5.13) para la formación de ésteres borónicos, provenientes diversos ácidos borónicos y dioles.

	Ácido borónico	Diol	pK _a ^B	pK _a ^D	logβ ₁₁₋₁ cal	logβ ₁₁₋₁ exp	Ref.
1	H ₃ BO ₃	1,2-etanodiol	8.98	14.8	-8.44	-8.83	[53]
2	H ₃ BO ₃	4-metilcatecol	8.98	9.39	-4.77	-5.20	[54]
3	H ₃ BO ₃	Catecol	8.98	9.27	-4.68	-4.96	
4	H ₃ BO ₃	4-nitrocatecol	8.98	6.69	-2.92	-3.82	
5	H ₃ BO ₃	ácido tartárico	8.98	2.89	-0.32	-1.74	
6	MeB(OH) ₂	ácido salicílico	10.4	2.83	-0.90	-2.35	[18]
7	MeB(OH) ₂	ácido mandélico	10.4	3.22	-1.20	-2.68	
8	MeB(OH) ₂	4-nitrocatecol	10.4	6.69	-4.05	-4.37	
9	MeB(OH) ₂	Catecol	10.4	9.27	-5.85	-5.80	
10	MeB(OH) ₂	1,2-etanodiol	10.4	14.8	-10.15	-9.66	
11	PhB(OH) ₂	4-metilcatecol	8.72	9.39	-4.54	-4.52	[54]
12	PhB(OH) ₂	Catecol	8.72	9.27	-4.46	-4.33	
13	PhB(OH) ₂	4-nitrocatecol	8.72	6.69	-2.74	-3.02	
14	PhB(OH) ₂	ácido láctico	8.72	3.7	-0.75	-2.43	
15	PhB(OH) ₂	ácido malónico	8.72	2.59	-0.007	-1.58	
16	PhB(OH) ₂	ácido oxálico	8.72	1.04	1.03	0.51	
17	PhB(OH) ₂	ácido salicílico	8.72	2.83	-0.17	-1.17	[55]
18	PhB(OH) ₂	Manitol	8.72	13.5	-7.28	-5.28	[54]
19	PhB(OH) ₂	1,2-etanodiol	8.72	14.8	-8.13	-8.34	[53]
20	PhB(OH) ₂	1,3-propanodiol	8.72	15.5	-8.61	-8.78	[6]
21	PhB(OH) ₂	Glicerol	8.72	14.4	-7.88	-7.43	
22	PhB(OH) ₂	Fructosa	8.9	12.03	-6.49	-5.36	[29]
23	Ph ₂ BOH	ARS	6.2	5.5	-0.42	0.58	[56]
24	Ph ₂ BOH	Catecol	6.2	9.27	-2.31	-1.83	
25	Ph ₂ BOH	ácido láctico	6.2	3.7	0.49	0.015	
26	Ph ₂ BOH	Fructosa	6.2	12.03	-3.70	-3.44	
27	Ph ₂ BOH	Glucosa	6.2	12.28	-3.83	-4.74	
28	2	Fructosa	8.35	12.03	-5.92	-4.48	
29	3	Fructosa	8.0	12.03	-5.56	-4.06	
30	4	Fructosa	9.0	12.03	-6.59	-5.64	
31	5	Fructosa	7.0	12.03	-4.53	-3.40	
32	6	Glucosa	7.34 ^{b)}	12.28	-5.00	-5.58	[57]
33	6	metil α-D-glucopiranosido	7.34 ^{b)}	13.71	-5.85	-5.73	
34	6	ARS ^{c)}	7.7	6.0	-1.63	-2.36	[58]
35	7	glucosa ^{d)}	10.2	12.25	-7.83	-8.35	[59]
36	7	fructosa ^{d)}	10.2	12.03	-8.00	-6.45	
37	7	1,2-etanodiol ^{d)}	10.2	14.8	-9.92	-9.54	
38	8	ácido siálico	8.6	2.6	0.037	-1.00	[60]
39	8	Glucosa	8.6	12.28	-6.34	-6.67	

Continuación Tabla 5.4

Ácido borónico	Diol	pK_a^B	pK_a^D	$\log\beta_{11-1}$ cal	$\log\beta_{11-1}$ exp	Ref.	
40	8	Manosa	8.6	12.08	-6.21	-6.44	
41	8	galactosa	8.6	12.35	-6.39	-6.20	
42	9	Glucosa	7.9	12.28	-5.59	-6.05	[61]
43	10	Glucosa	7.7	12.25	-5.36	-7.29	
44	11	Glucosa	7.9	12.25	-5.59	-6.99	
45	12	Glucosa	8.0	12.25	-5.71	-5.65	[62]

(a) pK_a^B obtenidos de las referencias citadas; pK_a^D citados en la ref. [63]; valores de β_{11-1} en algunos casos reportados y en otros calculados a partir de K_{obs} reportadas a cierto pH empleando la ecuación (5.3) o a partir de K_{tet} con la ecuación (5.1); (b) de ref. 36; (c) con 4% v/v DMSO, (d) en mezcla MeOH-H₂O (1:2, w/w).

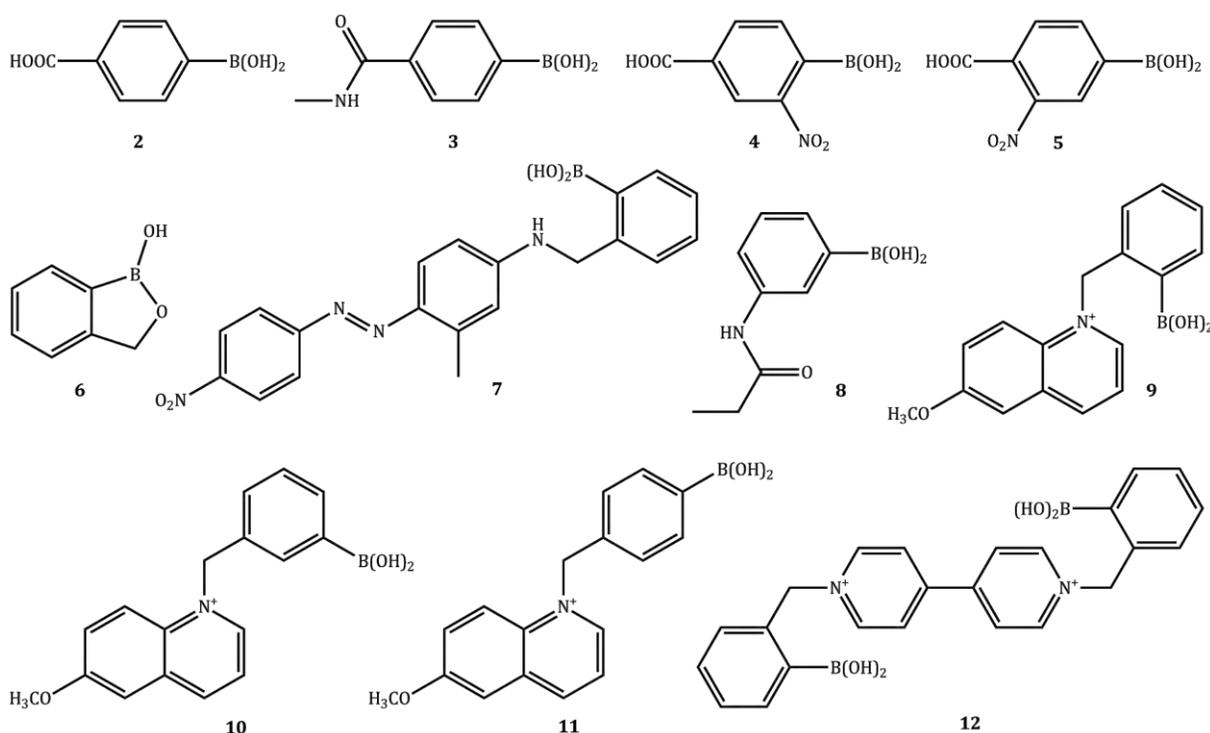


Figura 5.22: Diversos ácidos borónicos, con valores de β_{11-1} o K_{obs} de su asociación con dioles reportados en literatura (Tabla 5.4).

De acuerdo al gráfico de la Figura 5.23, la validez de la ecuación (5.13), no se limita a ácidos arilborónicos sustituidos, si no también es aplicable a los datos de benzoxaborol

(6, Figura 5.22), ácidos metilborónico, difenilborónico^v y bórico, con valores de β_{11-1} cercanos a los esperados.

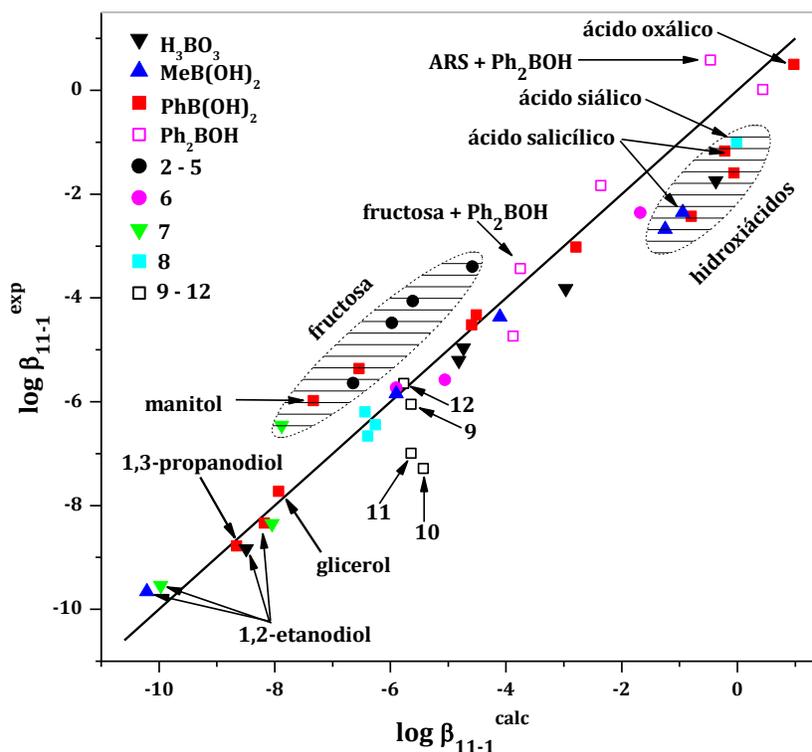


Figura 5.23: Correlación entre $\log \beta_{11-1}^{exp}$ y $\log \beta_{11-1}^{calc}$ para la formación de ésteres borónicos a partir de todo el conjunto de ácidos borónicos y dioles en la Tabla 5.4.

La ecuación (5.13) predice satisfactoriamente las constantes de estabilidad en un amplio rango de valores de β_{11-1} de alrededor de 10^{-10} a 1, con dioles en un rango de acidez con alrededor de 14 órdenes de magnitud desde el 1,3-propanodiol hasta el ácido oxálico.

Los datos de ésteres de fructosa con diferentes ácidos borónicos (ver puntos dentro de la elipse sobre la línea recta, Figura 5.23) muestran una desviación hacia valores más altos de los esperados por más de un orden de magnitud, lo cual puede atribuirse a la contribución de una constante de asociación adicional, debido a que algunos ácidos borónicos pueden asociarse a un tercer grupo hidroxilo de la molécula del sacárido. El punto correspondiente para la fructosa con ácido fenilborónico, el cual no puede asociarse a un tercer grupo hidroxilo, se encuentra cercano a la recta correspondiente a

^v Los ácidos borónicos son susceptibles a oxidación sin embargo, estudios de RMN-¹H indican que la descomposición del ácido difenilborónico en D₂O saturada con aire ocurre lentamente, menos del 20% después de 44 horas.^[55]

la constante de estabilidad pronosticada para los dioles. En el caso de los datos de ésteres derivados de hidroxiacidos (ver puntos dentro de la elipse debajo de la línea recta, Figura 5.23) también muestran una desviación pero hacia valores más bajos de los esperados probablemente debido a efectos estéricos.

Poliolios como glicerol o manitol forman complejos más estables que dioles alifáticos simples (entradas 18-21, Tabla 5.4). La ecuación (5.13), dentro de los límites de precisión, predice el valor de β_{11-1} para 1,2-etanodiol y 1,3-propanodiol con constantes de estabilidad pequeñas debido a sus valores de pK_a altos. Cabe mencionar que los valores experimentales de β_{11-1} para el caso de polioliolios requieren de una corrección estadística antes de ser comparados con los valores calculados los cuales son válidos para un diol con su respectiva acidez.

Se ha propuesto que los ácidos borónicos, como **9** y **12** en Figura 5.22, que poseen un sustituyente cargado positivamente en posición *orto* con respecto al grupo boronato, forman ésteres extraordinariamente estables debido a la interacción electrostática del sustituyente con el grupo boronato.^[64] Las constantes de estabilidad para los ésteres derivados de dichos ácidos son cercanas a las calculadas como se esperaba según su acidez. Sin embargo, para los compuestos **10** y **11** (que son isómeros de **9**) los valores de β_{11-1} son más bajos a los esperados, por lo tanto debe existir un efecto adicional que provee mayor estabilidad al emplearse el isómero *orto*.

De acuerdo a lo anterior, la ecuación (5.13) es de gran utilidad para el análisis de los posibles factores que contribuyen a la estabilidad de los ésteres borónicos, más allá de lo esperado simplemente por las propiedades ácido-base del ácido borónico y del diol.

Como se puede deducir de la ecuación (5.13), una mayor acidez (bajos valores de pK_a) tanto del ácido borónico como del diol, favorece la estabilidad de los ésteres borónicos formados, expresada en términos de β_{11-1} , lo cual está en acuerdo con observaciones cualitativas previas.^[55] Dicha tendencia parece lógica debido a que la reacción de formación del éster está acompañada de la desprotonación favorecida a mayor carácter ácido de ambos componentes.

Claramente si se consideran las constantes de estabilidad en términos de K_{tet} o K'_{tet} se encontrarán tendencias diferentes. Como se analizó anteriormente, tales constantes bajo

ciertas condiciones representan a las constantes de estabilidad observadas, aunque generalmente K_{obs} es un parámetro complejo dependiente del pH.

Al combinar las ecuaciones (5.5) y (5.13), se obtiene la ecuación (5.15) que predice el valor de $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ alcanzada a pH óptimo para cualquier par ácido borónico-diol.

$$\log K_{\text{obs}}^{\text{max}} = 3.9 - 0.25\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}} + 0.9\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} - 0.065\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} - 2\log\left(1 + \left(\frac{K_{\text{a}}^{\text{B}}}{K_{\text{a}}^{\text{D}}}\right)^{0.5}\right) \quad \dots(5.15)$$

Los valores obtenidos a través de la ecuación (5.15) se muestran en el siguiente gráfico (Figura 5.24) el cual cubre un amplio intervalo de valores de $\text{p}K_{\text{a}}$, de 5 a 11 para los ácidos borónicos y de 2 a 15 para los dioles. De acuerdo a lo observado en el gráfico, el valor más alto de $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ es cercano a 10^5 M^{-1} , el cual se obtiene al combinar un ácido borónico con un diol, ambos con valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ cercanos a 5 y con $\text{pH}=5$, según la ecuación (5.4). Entre los sistemas analizados, el que más se aproxima a los valores mencionados, es la reacción entre el ácido difenilborónico ($\text{Ph}_2\text{B}(\text{OH})$) y ARS (entrada 23, Tabla 5.4), para el cual se ha reportado un valor logarítmico de K_{obs} igual a 5.2 a pH 7.0.^[65] Tal valor es incluso más alto que el estimado por la ecuación (5.15), $\log K_{\text{obs}}=4.9$, el cual puede observarse al pH óptimo de 5.85. Al ubicar el punto respectivo para el sistema $\text{Ph}_2\text{B}(\text{OH})$ -ARS en la figura 5.23 se observa una desviación positiva del valor de β_{11-1} , probablemente como resultado de interacciones hidrofóbicas o de apilamiento π entre uno de los anillos del ácido difenilborónico y ARS.

Como se puede deducir de la ecuación (5.15), para cada ácido borónico existe un diol óptimo con un $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ cercano, pero no exactamente igual a $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}$; por ejemplo, el valor más alto de $\log K_{\text{obs}}^{\text{max}}=4.0$ para el ácido fenilborónico ($\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}=8.9$) debe observarse con un diol con $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}=8.3$ a $\text{pH}_{\text{opt}}=8.6$. En acuerdo con esta predicción de los resultados obtenidos por espectrofotometría (Tabla 5.2) se observa que $\log K_{\text{obs}}=4.38$ a pH 8.5 para **1d** con Tiron.

Por otra parte, con un diol dado $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ se incrementa gradualmente a medida que disminuye el valor de $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}$, esto último en el caso de dioles con $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ por debajo de 8, porque con dioles con menor carácter ácido el efecto es mínimo.

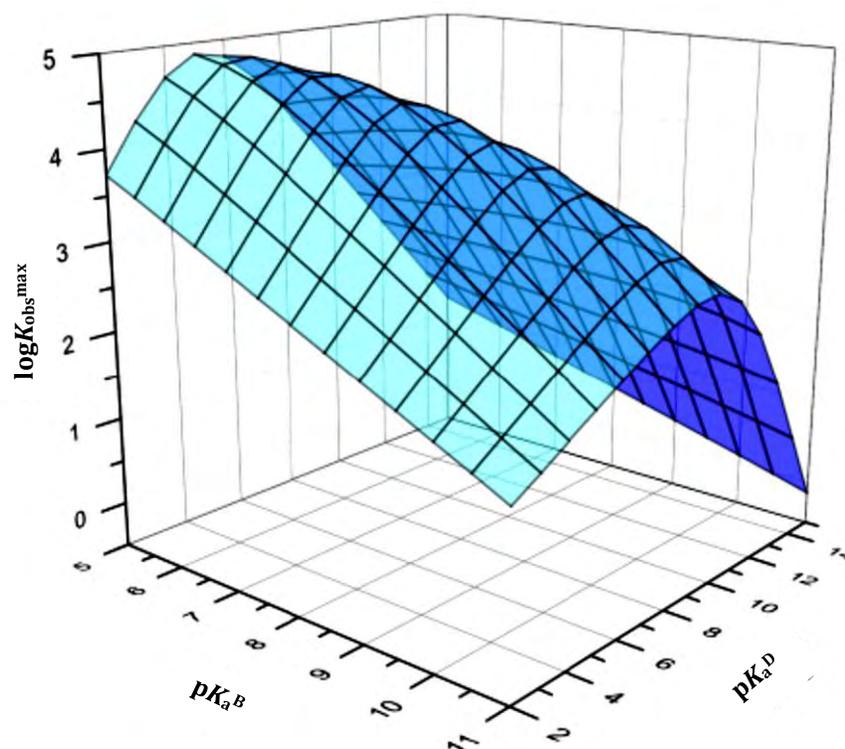


Figura 5.24: Valores logarítmicos de $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ correspondientes a pH óptimo para diferentes pares de ácidos borónicos y dioles, ecuación (5.15).

5.2. ESTUDIO CON ÁCIDOS DIBORÓNICOS

En este estudio se emplearon dos ácidos diborónicos, el ácido *meta*-fenilendiborónico y *para*-fenilendiborónico para su asociación con dos dioles diferentes, tiron y 2,3-dihidroxibenzaldeído. Como primer paso, se determinaron los valores de pK_a de los ácidos diborónicos y del 2,3-dihidroxibenzaldeído mediante titulaciones potenciométricas, tales valores obtenidos se muestran en la Tabla 5.3 y la curva de titulación para el caso del ácido *meta*-fenilendiborónico se muestra en la Figura 5.25.

Tabla 5.3: Valores de pK_a de ácidos fenilendiborónicos y de 2,3-dihidroxibenzaldeído determinados por potenciometría a 25°C y fuerza iónica 50 mM.

	pK_{a1}	pK_{a2}
ácido <i>m</i> -fenilendiborónico	8.43±0.01	10.42±0.03
ácido <i>p</i> -fenilendiborónico	8.24±0.01	10.31±0.01
2,3-dihidroxibenzaldeído	7.32±0.01	11.42±0.01

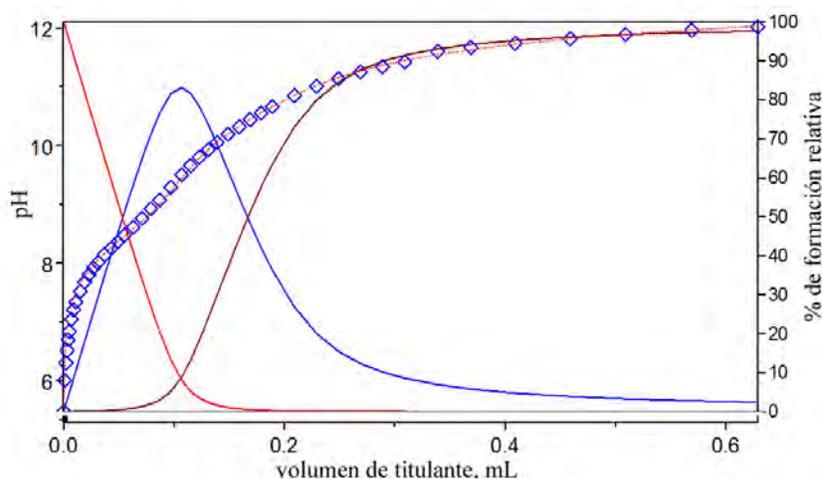


Figura 5.25: Gráfico de distribución de especies del ácido 1,3-fenilendiborónico, se muestra la curva titulación experimental (cuadrados) y el ajuste de la curva generado por Hyperquad (línea punteada).

En comparación con el ácido fenilborónico ($pK_a=8.9$), los primeros valores de pK_a de los ácidos diborónicos son un poco más bajos, mientras que los segundos son más altos. El primer efecto se debe principalmente al factor estadístico por presencia de dos grupos borónicos equivalentes que aumenta la constante de acidez casi tres veces, es decir disminuye el valor de pK_a hasta $\log 3 = 0.48$. Un efecto adicional en el caso del isómero *para* se debe al efecto inductivo electroceptor del grupo $B(OH)_2$. La ionización del grupo $B(OH)_2$ lo convierte en el grupo aniónico $B(OH)_2^-$ que al contrario del grupo neutro posee un fuerte efecto electrodonador (ver tabla 5.4), lo que explica un aumento notable en el segundo pK_a .

Tabla 5.4: Constantes de Hammett.^[47]

Sustituyente	σ_{meta}	σ_{para}
$B(OH)_2$	-0.01	0.12
$B(OH)_2^-$	-0.48	-0.44

Al incluir los resultados para ácidos diborónicos (círculos, Figura 5.26) en la misma grafica de Hammett junto con ácidos monoborónicos estudiados anteriormente (cuadrados), se ve claramente que los resultados para pK_{a1} con diborónicos están en acuerdo con los monoborónicos mientras que los valores de pK_{a2} son notablemente más altos de como se esperaría en base a solo efectos electrónicos. Es probable que este

efecto se debe a la repulsión electrostática entre grupos $\text{B}(\text{OH})_3^-$ dentro de la misma molécula del ácido diborónico que desestabiliza su forma dianiónica, es decir hace más difícil la desprotonación del segundo grupo borónico.

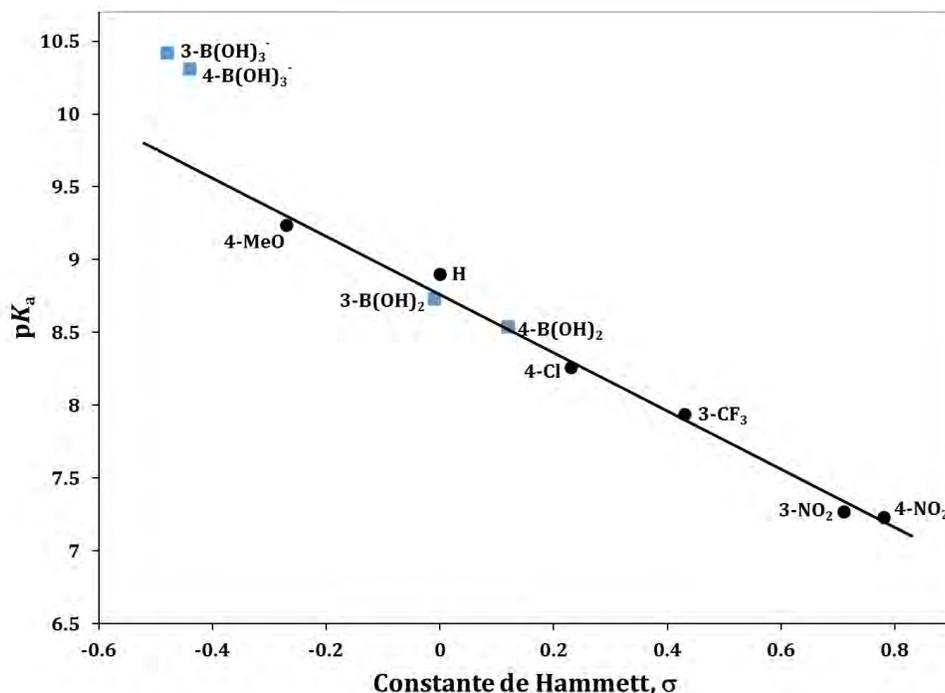
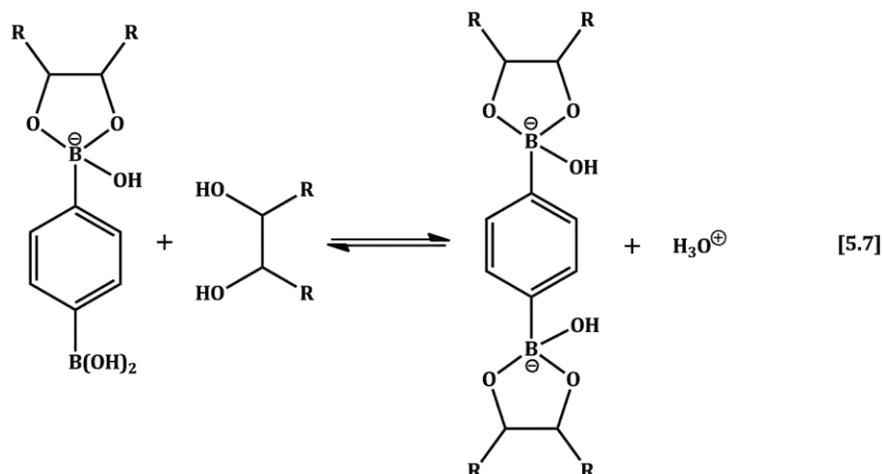
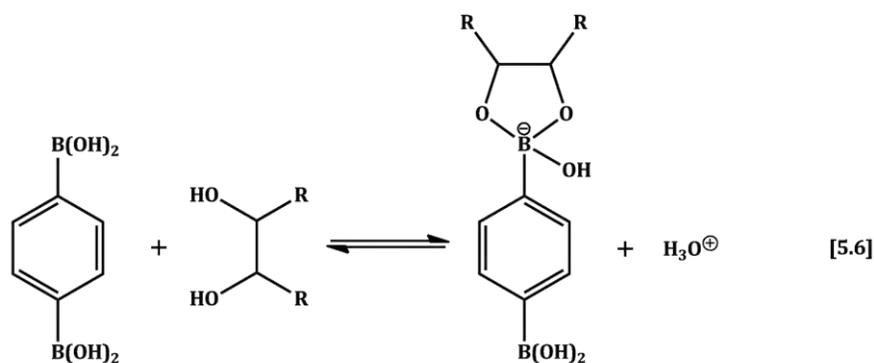


Figura 5.26: Gráfico de Hammett para el pK_a de ácidos monoborónicos (círculos) y ácidos diborónicos (cuadrados).

De acuerdo con lo establecido en el capítulo anterior, la estabilidad de ésteres boronato decae al aumentar el valor de pK_a del ácido borónico. Por lo tanto la complejación de ácido diborónico con dos moléculas de un diol es poco probable debido a que la segunda molécula de diol debe formar un éster con un segundo grupo borónico que posee un valor alto de pK_a . Sin embargo, la situación real puede ser diferente.

Considerando la formación de mono- y bis-ésteres de un diol con, por ejemplo, ácido *para*-fenilendiborónico (Equilibrios 5.6 y 5.7, respectivamente), la primera reacción produce un grupo aniónico de éster parecido a $\text{B}(\text{OH})_3^-$, el cual puede tener un efecto electrodonador más bajo debido a que el átomo de boro de un éster es más electrofílico que el boro del ácido borónico. Como consecuencia el efecto sobre el pK_a del segundo grupo borónico puede ser menor y la formación de un diéster por la segunda reacción puede ser lo suficientemente favorable para llevarse a cabo.



En la Tabla 5.5 se muestran las constantes de formación de ésteres de ambos ácidos diborónicos con dos dioles, tiron y 2,3-dihidroxibenzaldehído,^{vi} determinadas por titulaciones potenciométricas, mediante el ajuste de datos empleando el programa Hyperquad 2003^[45]. En la figura 5.27 se muestran los diagramas de distribución de especies junto con las curvas de titulación para la formación del éster derivado del ácido *para*-fenilendiborónico con tiron y 2,3-dihidroxibenzaldehído.

Tabla 5.5: Constantes de formación de ésteres con ácidos bis-borónicos obtenidas por potenciometría a 25°C.

	Tiron		2,3-dihidroxibenzaldehído	
	<i>meta</i>	<i>para</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>
$\log \beta_{11-1}$	-2.76±0.02	-2.67±0.02	-2.76±0.04	-2.62±0.02
$\log \beta_{11-2}$	-12.56±0.03	-12.48±0.03	-12.8±01	-12.02±0.03
$\log \beta_{21-2}$	-7.67±0.03	-7.53±0.03	-7.08±0.07	-6.65±0.03

^{vi} El 2,3-dihidroxibenzaldehído fue empleado con el propósito de incorporar un grupo funcional carbonilo el cual puede ser útil para ensamblar los ésteres borónicos con poliaminas mediante formación de bases de Schiff.

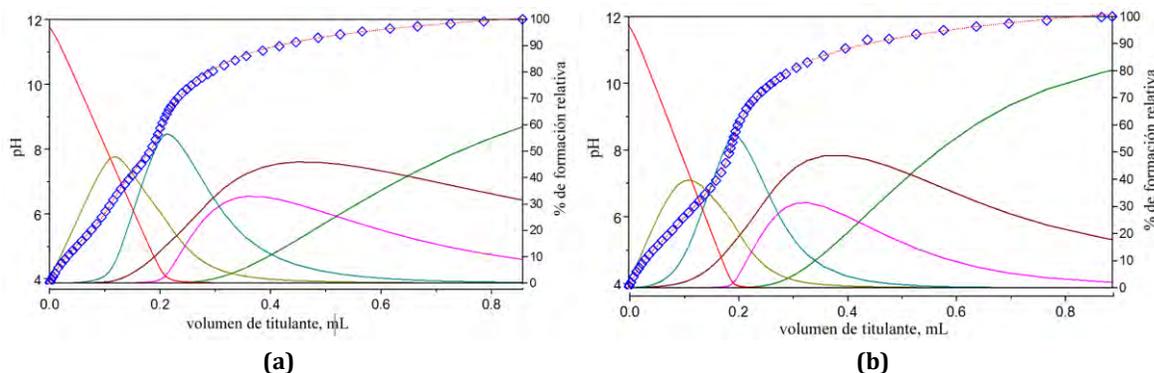
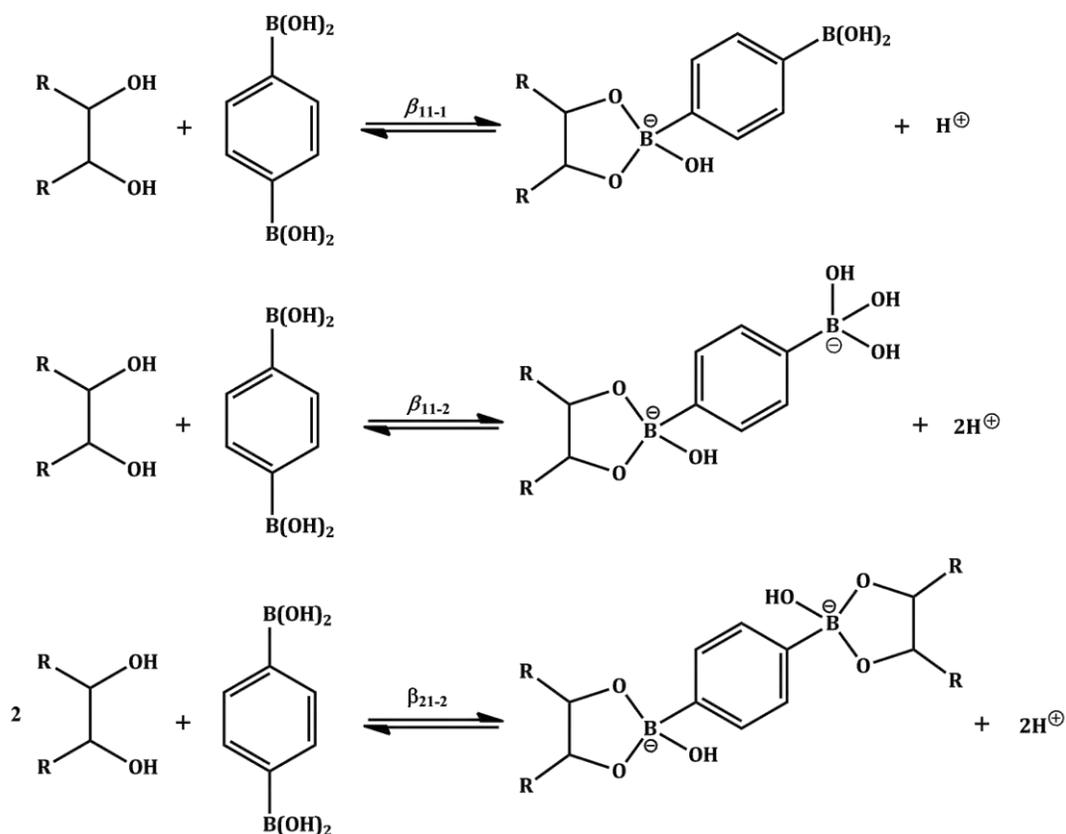


Figura 5.27: Diagramas de distribución de especies de la asociación del ácido para-fenilendiborónico con (a) tiron y (b) 2,3-Dihidrohbenzaldehído, se muestran las curvas titulación (cuadrados) y el ajuste de las curvas generado por Hyperquad (línea punteada).

Analizando en primera instancia los resultados con tiron, los valores de β_{11-1} son aproximadamente 6 veces mayores que para ácido fenilborónico. Una parte de tal efecto corresponde al factor estadístico y el resto se debe al efecto electrónico del segundo grupo borónico. La constante β_{11-2} corresponde a la formación de un monoéster donde el segundo grupo del ácido borónico es desprotonado. Entonces la diferencia entre $\log \beta_{11-1}$ y $\log \beta_{11-2}$ representa el valor de pK_a del segundo grupo del ácido borónico en el monoéster, un análogo de pK_{a2} pero con el grupo éster aniónico en lugar de $B(OH)_3^-$. De los resultados en la Tabla 5.5 vemos que estos valores de pK_a son 9.80 y 9.81 para isómeros *meta* y *para*. Comparando con pK_{a2} en la Tabla 5.3 vemos que como se esperaba estos últimos son más grandes en acuerdo con efecto electrodonador de $B(OH)_3^-$ más fuerte comparando con el de ésteres (ver constantes de Hammett para $B(OH)_3^-$, tabla 5.4).

La constante β_{21-2} corresponde al proceso de formación del diéster por una reacción que es la suma de las reacciones [5.6] y [5.7]. La diferencia entre $\log \beta_{21-2}$ y $\log \beta_{11-1}$ corresponde solo a la reacción [5.7] y es igual aproximadamente a -5 con tiron y ambos ácidos diborónicos. Comparando con $\log \beta_{11-1}$ observamos que la estabilidad del éster con el segundo grupo boronato es menor que con el primero; lo cual es un efecto más grande del que se esperaba sólo debido a mayor pK_a del segundo grupo y probablemente se debe adicionalmente a la repulsión electrostática de dos moléculas de tiron dianiónicas. En el Esquema 5.2, se muestran los equilibrios de formación, con sus

respectivas constantes β_{pqr} , para el caso de la reacción entre un diol y ácido *para*-fenilendiborónico.



Esquema 5.2: Equilibrios de formación de complejos a partir de un diol y ácido *para*-diborónico.

Para visualizar la situación con formación relativa de mono y diésteres de ácidos diborónicos con tiron es útil calcular los diagramas de distribución de especies en función del pH. El comportamiento de ácidos *meta*- y *para*-diborónicos es muy similar, así que a modo de ejemplo en la Figura 5.28 se muestra la distribución de especies calculada con el isómero *para*; la relación molar ácido diborónico-tiron es 1:2 y se muestran dos concentraciones totales del ácido, 1 mM y 10 mM. Como se observa en tales diagramas aún en alta dilución la formación de un diéster es notable alrededor de pH 9 y a mayor concentración el diéster es una especie predominante con rendimiento de casi 80%.

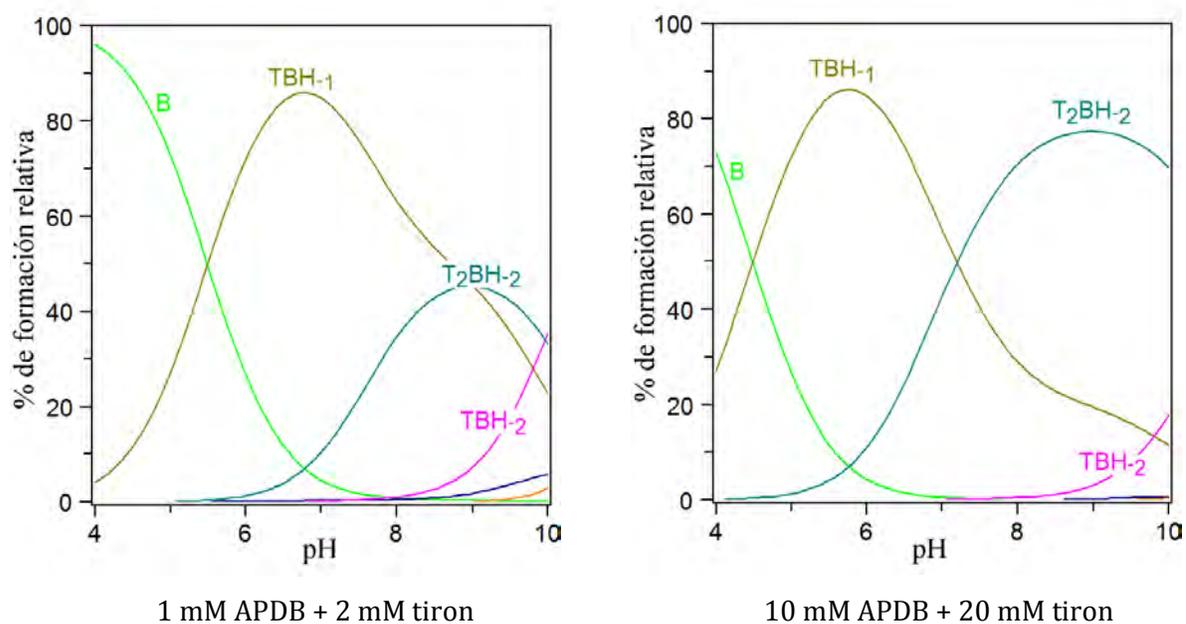


Figura 5.28: Diagramas de distribución de especies en función del pH para la asociación del ácido para-fenilendiborónico con tiron.

En el caso de 2,3-dihidroxibenzaldehído la estabilidad de monoésteres es similar a la observada con tiron, pero la estabilidad de diésteres es un poco mayor. La diferencia entre $\log \beta_{21-2}$ y $\log \beta_{11-1}$ es igual a -4.3 con ácido *meta*-diborónico y de -4 con el isómero *para*. Evidentemente en este caso la estabilidad relativa del segundo éster es un orden de magnitud mayor que en el caso de tiron. La razón de tal efecto es el hecho de que 2,3-dihidroxibenzaldehído es un diol neutro y el diéster no sufre del efecto desestabilizante adicional por repulsión entre cargas negativas como es el caso de tiron. Los diagramas de distribución de especies, Figura 5.29, calculadas en las mismas condiciones como en el caso de tiron muestran mayor fracción del diéster a un pH óptimo más bajo.

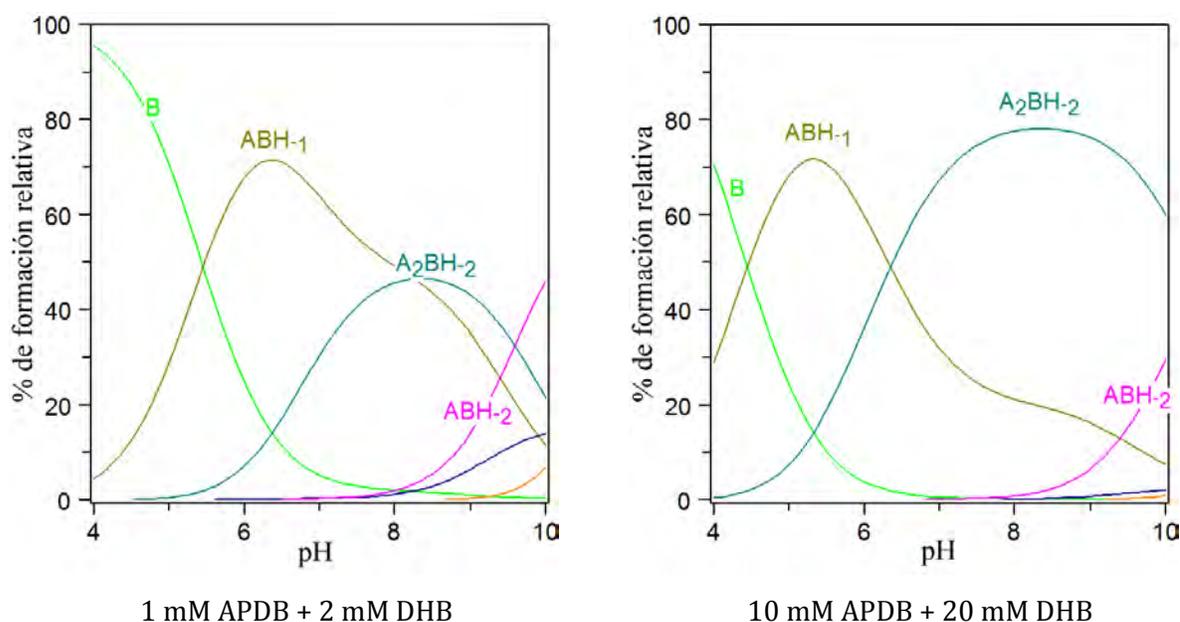


Figura 5.29: Diagramas de distribución de especies en función del pH para la asociación del ácido para-fenilendiborónico con 2,3-dihidroxibenzaldehido (DHB).

En conclusión, en el estudio de interacción de ácidos diborónicos con dos catecoles diferentes se demuestra la posibilidad de observar la formación de ésteres con ambos grupos borónicos aún en disoluciones diluidas. Esto indica la viabilidad de generar estructuras supramoleculares a partir de ácidos diborónicos por autoensamble con polioles aún en medio acuoso.

5.3. ESTUDIO CON BISDIOLES

Para el estudio de la formación de ésteres borónicos derivados de bisdioles se eligieron una serie de biscatecoles debido a que los catecoles presentan mayor afinidad hacia los ácidos borónicos en comparación con polioles alifáticos. En la primera etapa se realizaron pruebas de interacción de varios biscatecoles accesibles comercialmente (Figura 5.30) mediante espectrofotometría UV-Vis con ácido fenilborónico en un intervalo de pH entre 7 y 10.

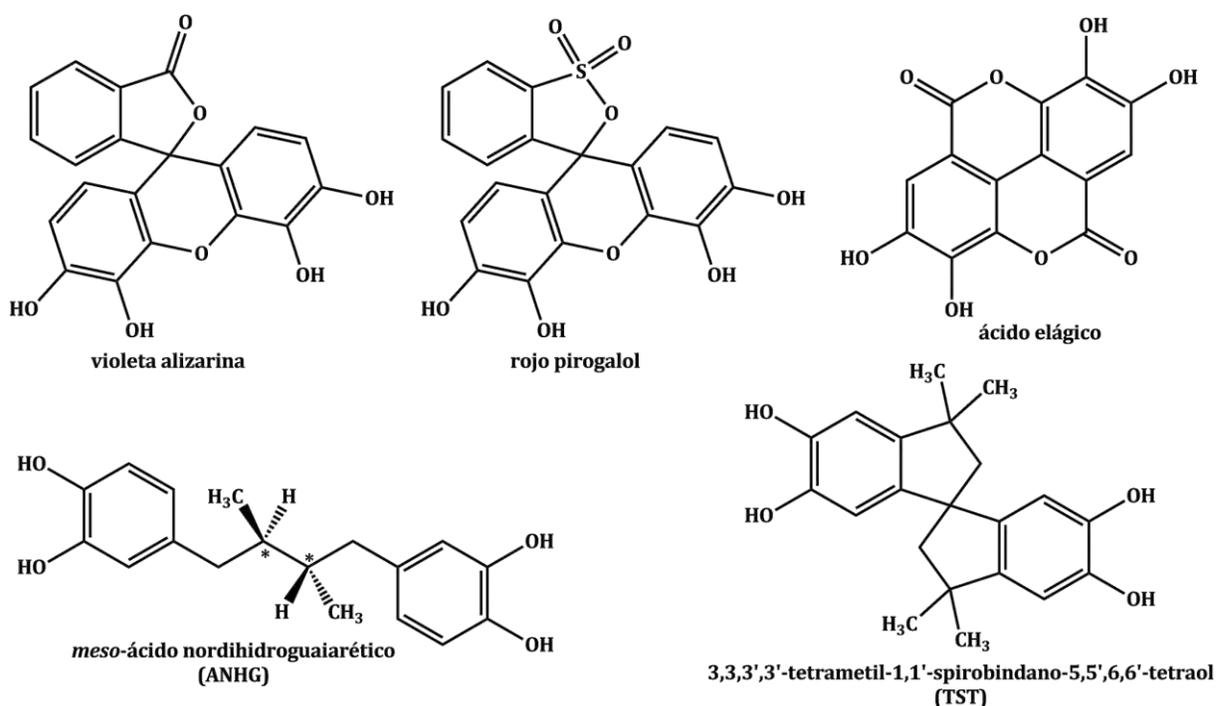


Figura 5.30: Biscatecoles empleados en el estudio de asociación con ácido fenilendiborónico.

Las interacciones de ácido fenilborónico con violeta alizarina y rojo pirogalol resultaron ser muy débiles por lo que no se continuó trabajando con dichos biscatecoles.

El ácido elágico es un ácido fuerte que existe en su forma doble desprotonada a pH arriba de 5.6^[66], lo cual significa que el pH óptimo para su interacción con el ácido fenilborónico se ubica alrededor de pH 7. En la Figura 5.31 se presenta el perfil de su titulación seguida por espectrofotometría con ácido fenilborónico a pH 7. El ajuste de datos a un modelo de complejación 1:1 nos proporciona un valor de $K_{obs} = 800 \pm 50 \text{ M}^{-1}$, el cual es cercano al valor de K_{obs} para rojo de alizarina S (ARS), un catecol de acidez similar a su pH óptimo. La constante de estabilidad no es lo suficientemente grande para permitir la determinación de la estequiometría de la interacción, pero el hecho de que los espectros pasan por un punto isobéptico puede ser indicativo de la formación de solo un complejo 1:1.

La reacción con ácido nordihidroguaiarético (ANHG) requiere de un valor de pH arriba de 8, pero en medios básicos el ácido sufre oxidación rápida con formación de productos no identificados de color rojo y esto no permitió monitorear la interacción con ácido fenilborónico por espectrofotometría (ver anexo, Figura 7.7).

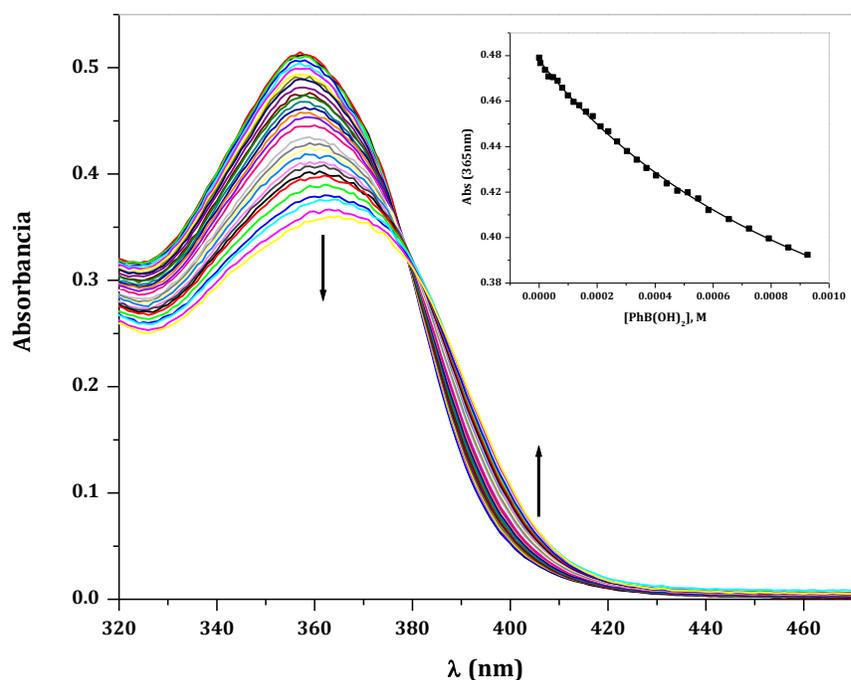


Figura 5.31: Titulación por espectrofotometría UV-Vis de 0.03 mM de ácido elágico con ácido fenilborónico a pH 7; el recuadro superior derecho muestra el perfil de titulación a 365 nm.

El biscatecol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-espirobindano-5,5',6,6'-tetraol (TST) también sufre autooxidación en medios básicos, pero no es tan intensa como en el caso de ANHG. Complejos macrocíclicos de TST con ácido bórico en estado sólido se encuentran reportados en literatura, sin embargo, la interacción de este biscatecol con ácidos borónicos en disolución no ha sido estudiada,^[67] de ahí el interés por trabajar con dicho compuesto.

La titulación espectrofotométrica de TST con ácido fenilborónico a pH 8.6 se muestra en la Figura 5.32. La formación de productos de oxidación que se manifiesta con la aparición de una banda de absorción visible alrededor de 420 nm es muy baja. Por otro lado es clara la formación de un éster borónico por aparición de una banda de absorción intensa con un máximo a 305 nm. El ajuste formal del perfil de absorbancia contra concentración del ácido borónico da un valor de $K_{obs} = 2.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ que indica una asociación fuerte, sin embargo por esta técnica es imposible determinar una esquema de interacción más detallada ya que cambios espectrales correspondientes a la formación de complejos 1:1 y 1:2 deben ser similares.

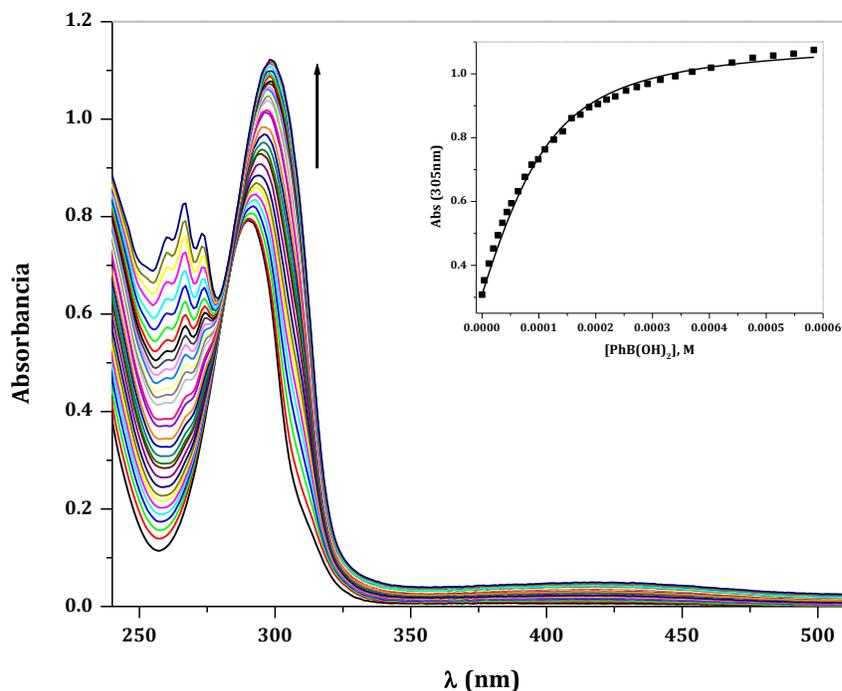


Figura 5.32: Titulación por espectrofotometría UV-Vis de 0.1 mM de TST con ácido fenilborónico a pH 8.6; el recuadro superior derecho muestra el perfil de titulación a 305 nm.

Para el estudio por potenciometría un obstáculo fue la baja solubilidad de TST en agua; así que se ensayaron diferentes mezclas de disolventes encontrando que era posible realizar titulaciones potenciométricas en presencia de 50% v/v de DMSO. La Figura 5.33 presenta los resultados de la titulación de TST sin y con ácido fenilborónico que muestran claramente un desplazamiento hacia abajo de la curva de titulación en presencia del ácido fenilborónico indicando formación de ésteres con ambos grupos catecol. El ajuste de datos usando el programa Hyperquad permite calcular valores de pK_a de TST (10.40 y 11.41) y del ácido fenilborónico (11.50) además de $\log \beta = -5.53$ para primer y -6.38 para segundo éster ($[SB(OH)]^-$ y $[SB_2(OH)_2]^{2-}$, ver Figura 5.34); adicionalmente a pH arriba de 11 se observa la formación de un tercer complejo ($[SB(OH)]^{2-}$, Figura 5.34). Las constantes de estabilidad son más bajas que para catecol y ácido fenilborónico en agua debido a un aumento en pK_a tanto del diol como del ácido fenilborónico en presencia de 50% de DMSO; sin embargo hay que tomar en cuenta el efecto de aumento de pK_w en este medio hasta 15.9^{vii} que significa que a pH 10 donde la

^{vii} El valor de $pK_w = 15.90$ se obtuvo por titulación potenciométrica de HCl en mezcla agua/DMSO 50% v/v a 25°C.

formación de ésteres con ambos grupos catecol ya es completa (ver Figura 5.33) el valor de pOH es 5.9, es decir el mismo como en agua a pH 8.1.

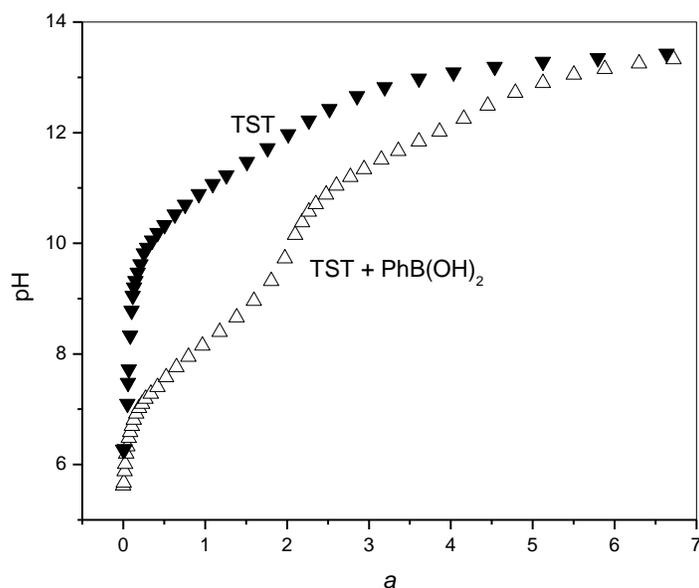


Figura 5.33: Titulación potenciométrica de TST en 50% v/v DMSO en ausencia (triángulos negros) y en presencia (triángulos blancos) de ácido fenilborónico; "a" es el número de equivalentes de NaOH respecto de TST.

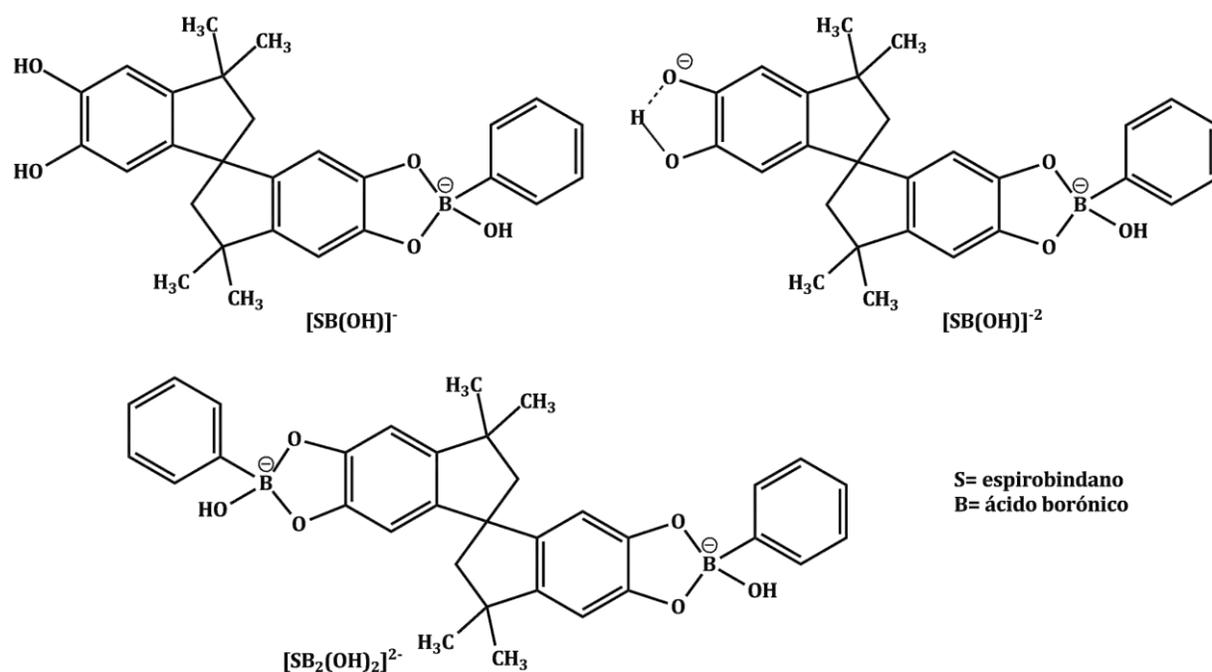


Figura 5.34: Estructuras de complejos de TST con ácido fenilborónico.

También se realizaron estudios de la asociación de TST con los siguientes ácidos diborónicos: ácido 1,3-fenilendiborónico (AMDB), ácido 1,4-fenilendiborónico (APDB) y ácido bifeníl 4,4'-diborónico (ABFDB). Se obtuvieron en primera instancia las constantes de disociación ácida de todos los ácidos diborónicos en mezcla de disolventes agua/DMSO 50% v/v; tales constantes se muestran en la Tabla 5.6, junto con los valores ya mencionados para TMS y ácido fenilborónico (AFB).

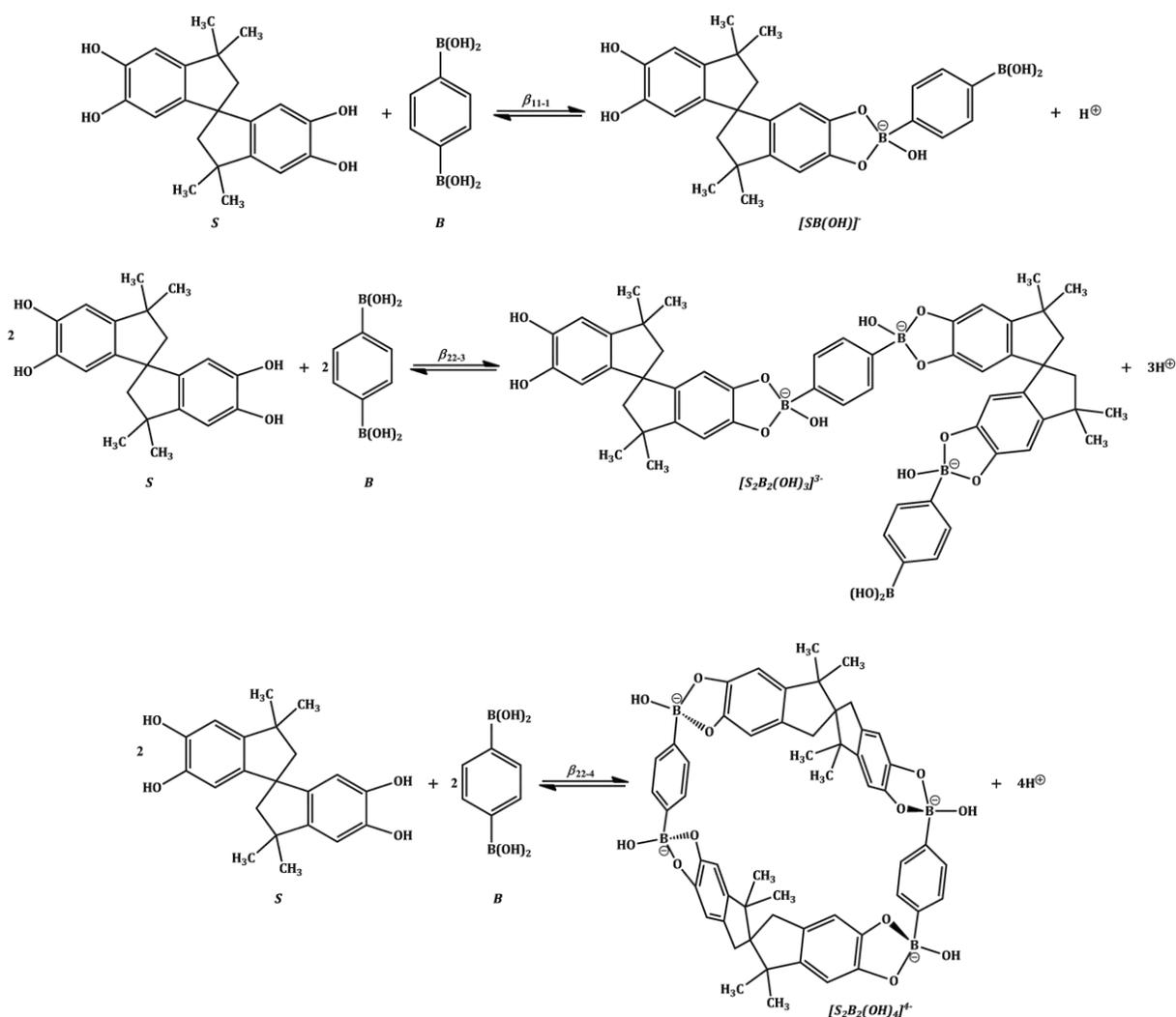
Tabla 5.6: Constantes de disociación ácida de TST, ácido fenilborónico y ácidos diborónicos obtenidas por potenciometría a 25°C en mezcla agua/DMSO 50% v/v.

	pK_{a_1}	pK_{a_2}
TST	10.40	11.41
AFB	11.50	
AMDB	10.51	12.39
APDB	10.25	12.37
ABFDB	11.42	12.46

Una vez determinados los valores de pK_a de los ácidos borónicos, se procedió a la determinación de constantes de formación de los ésteres borónicos derivados de TST con ácidos diborónicos. En la Tabla 5.7, se enlistan los resultados obtenidos por potenciometría, incluyendo los resultados ya mencionados con ácido fenilborónico, y en el Esquema 5.3 se muestran los equilibrios de formación de ésteres borónicos a partir TST con el ácido *para*-fenilendiborónico.

Tabla 5.7: Constantes de formación de ésteres derivados de TST con ácido fenilborónico y ácidos diborónicos obtenidas por potenciometría a 25°C en mezcla agua/DMSO 50% v/v.

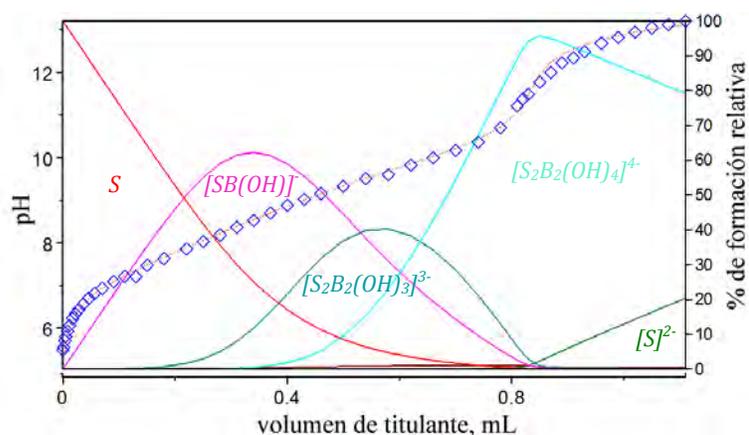
	AFB	AMDB	APDB	ABFDB
$\log \beta_{110}$		2.08±0.11		
$\log \beta_{11-1}$	-5.53±0.01	-4.99±0.03	-5.11±0.02	-5.31±0.03
$\log \beta_{12-2}$	-11.91±0.02			
$\log \beta_{11-2}$	-15.73±0.05			
$\log \beta_{22-3}$		-17.30±0.05	-17.01±0.07	-16.79±0.07
$\log \beta_{22-4}$		-27.92±0.03	-26.98±0.05	-26.23±0.06



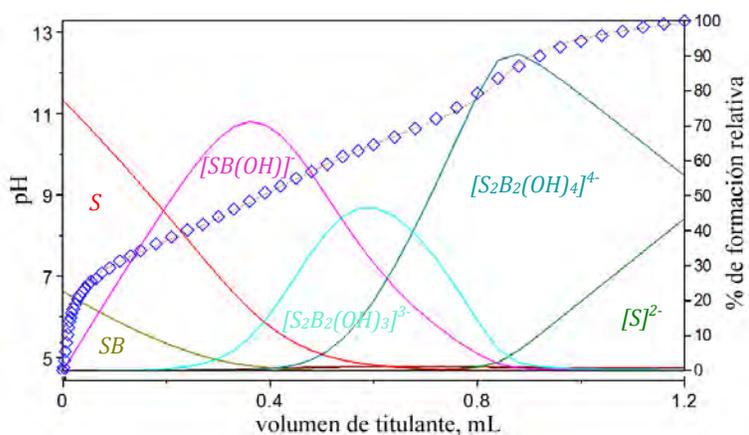
Esquema 5.3: Equilibrios de formación de ésteres borónicos derivados de TST y ácido *para*-fenilendiborónico.

Los diagramas de distribución de especies para la formación de ésteres con TST y los ácidos diborónicos se muestran en la Figura 5.35. En el caso de ácidos diborónicos las especies $[SB(OH)]^-$ deben ser del mismo tipo como en el caso de ácido fenilborónico. Las constantes $\log \beta_{11-1}$ para todos los ácidos correlacionan correctamente con pK_a del ácido.

Las estructuras probables de las especies $[S_2B_2(OH)_3]^{3-}$ y $[S_2B_2(OH)_4]^{4-}$ para el caso del ácido *para*-fenilendiborónico se expresan en la Figura 5.36; tales estructuras se generaron con el programa Chem3D Pro 12.0 con minimización de energía usando un campo de fuerzas MM2.



(a)



(b)

Figura 5.35: Diagramas de distribución de especies de la formación de ésteres derivados de TST con: (a) ácido para-fenilendiborónico y (b) ácido meta-fenilendiborónico; se muestra la curva de titulación experimental (cuadrados) y el ajuste de la curva generado por Hyperquad (línea roja punteada).

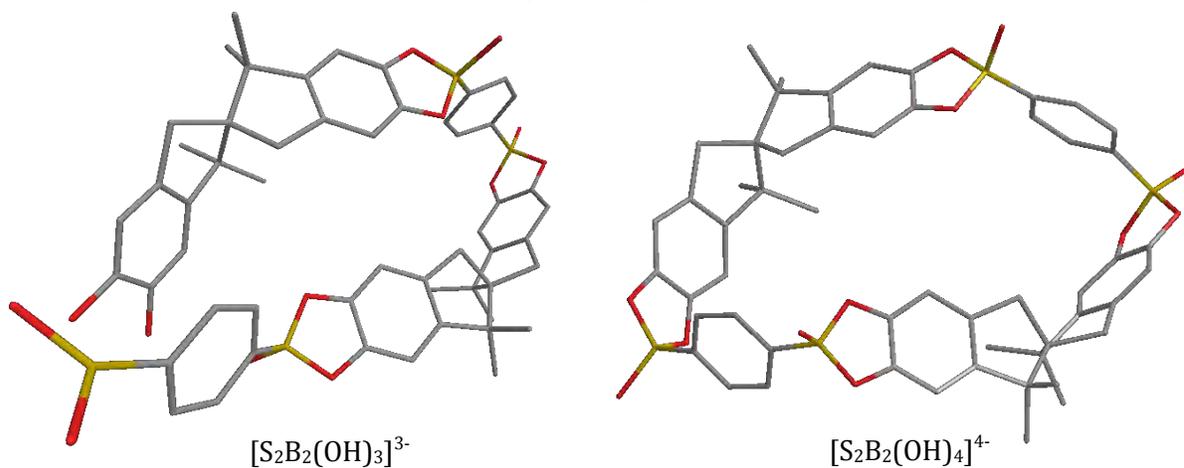


Figura 5.36: Estructuras probables de complejos de TST con ácido para-fenilendiborónico.

A continuación se presenta el seguimiento de formación de ésteres borónicos derivados de TST por titulaciones en RMN ^1H y la simulación de la distribución de especies para

condiciones de RMN. Antes de cada titulación, se presentan las posibles estructuras de los ésteres derivados de cada uno de los ácidos borónicos.

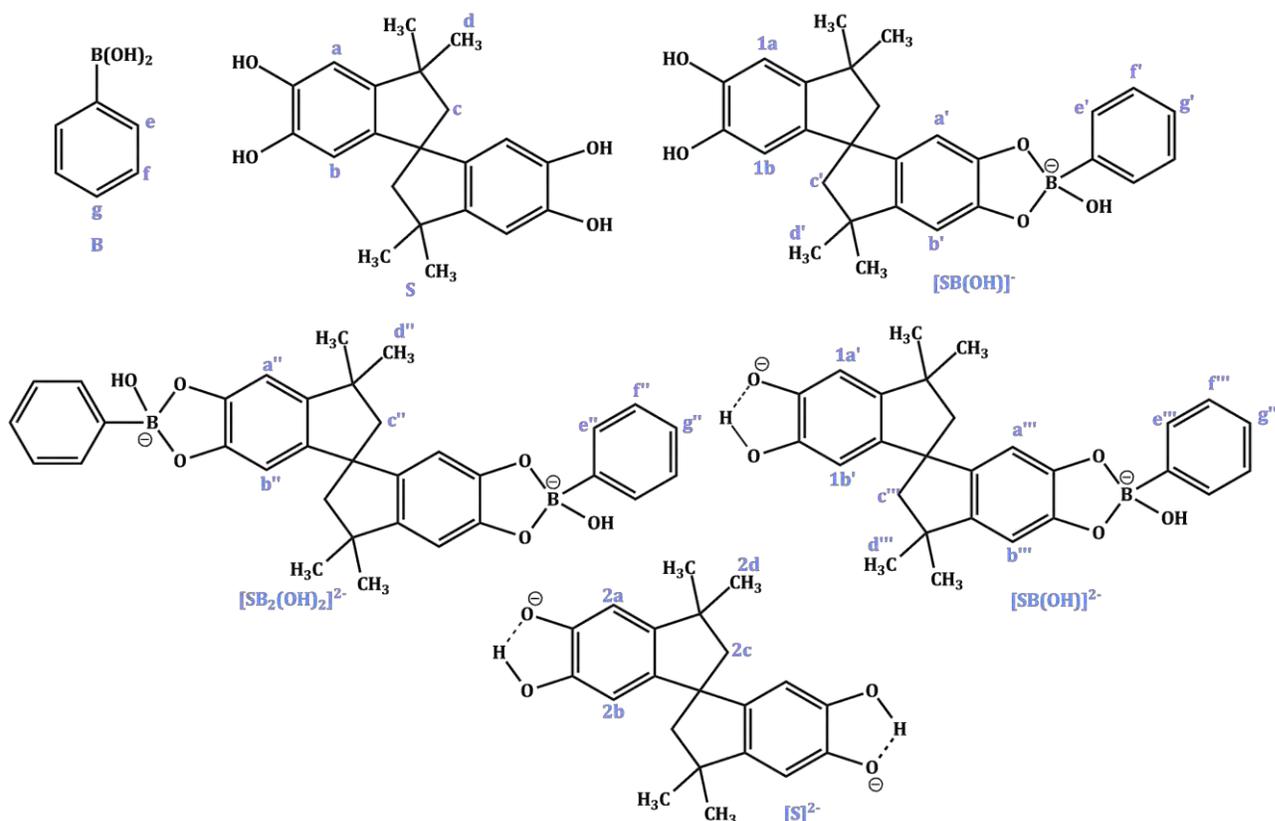


Figura 5.37: Estructuras de ácido fenilborónico (B), tetrametilespirobindano tetraol (S) y ésteres derivados a partir de ambos componentes.

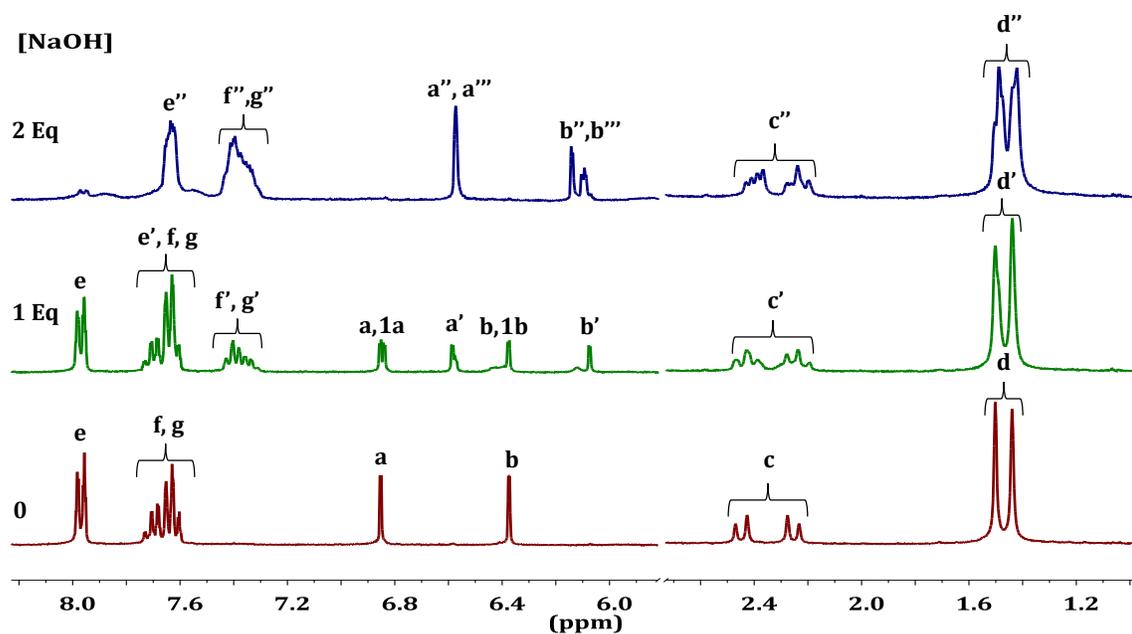


Figura 5.38: Titulación seguida por RMN ¹H de TST-ácido fenilborónico en relación 1:2 (0.01-0.02M) con NaOH en mezcla 1:1 D₂O/DMSO d₆ (Equivalentes de NaOH en relación a TST).

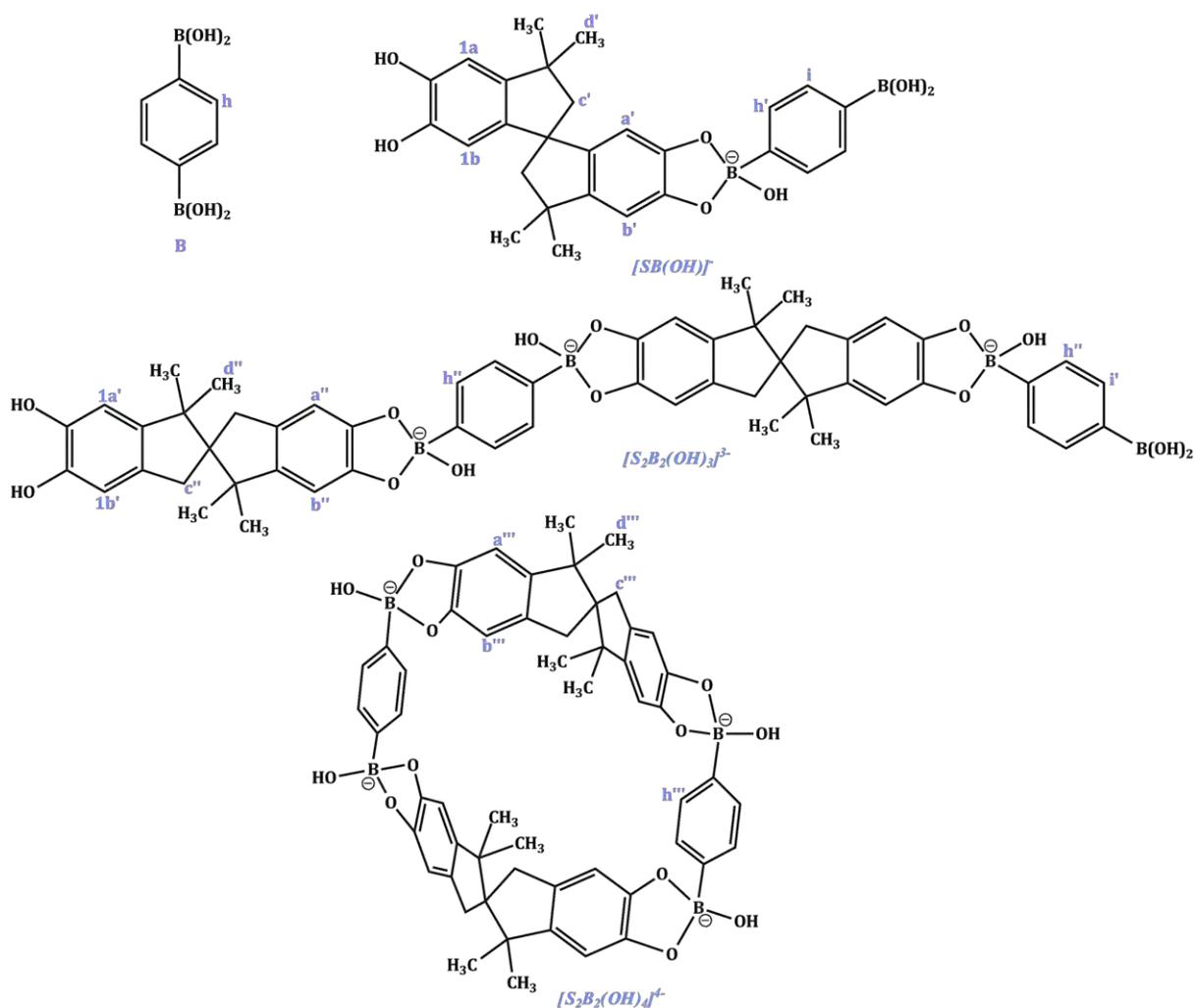


Figura 5.39: Estructura del ácido para-fenilendiborónico (**B**) y de sus ésteres derivados con TST (**S**).

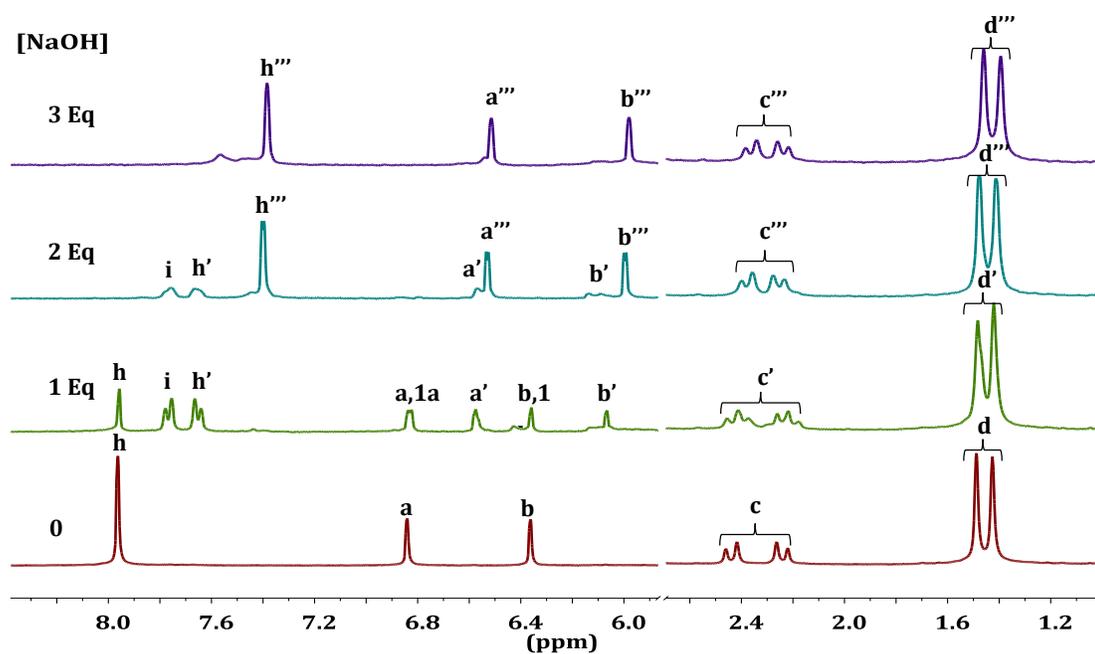


Figura 5.40: Titulación seguida por RMN ¹H de TST-ácido para-fenilendiborónico en relación 1:1 (0.01 M) con NaOH en mezcla 1:1 D₂O/DMSO d₆.

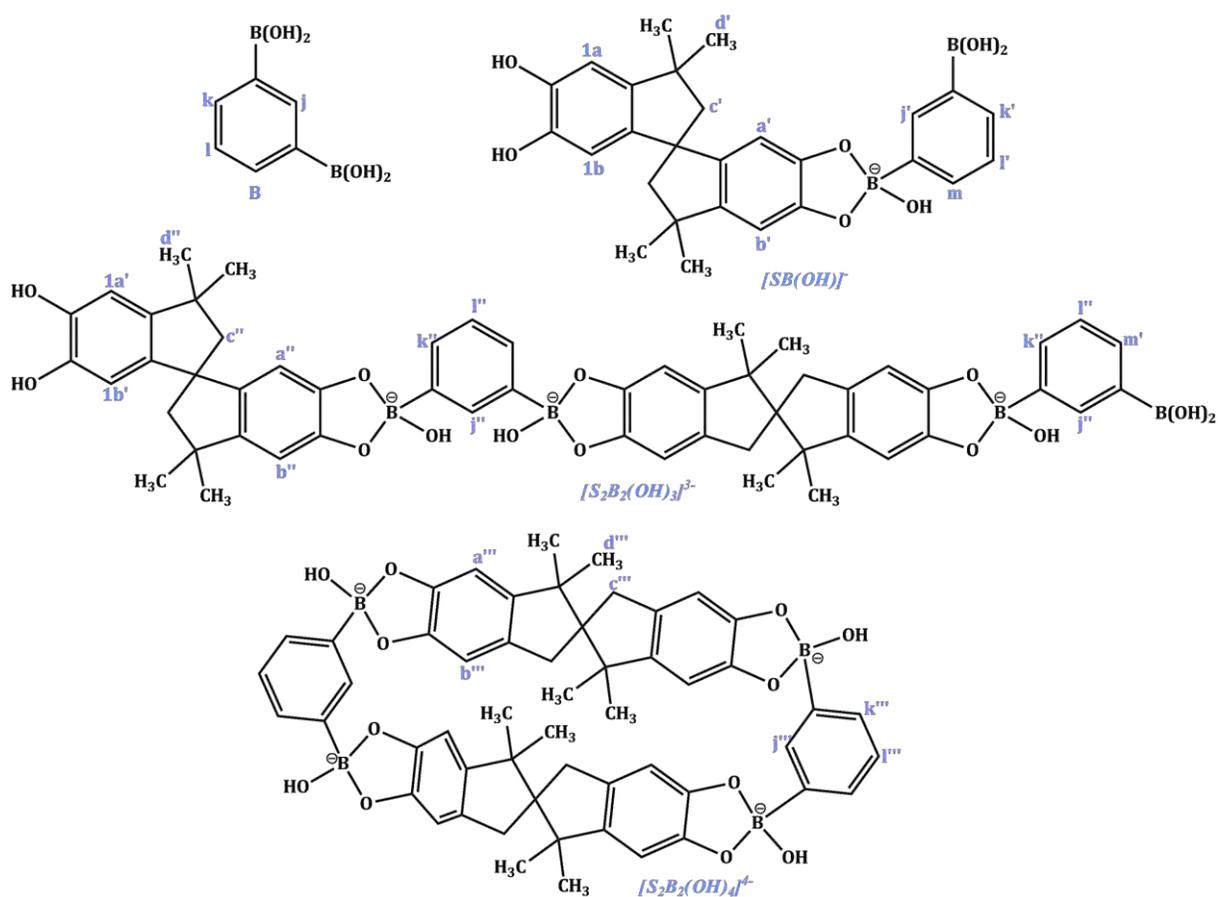


Figura 5.41: Estructura del ácido meta-fenilendiborónico (B) y de sus ésteres derivados con TST (S).

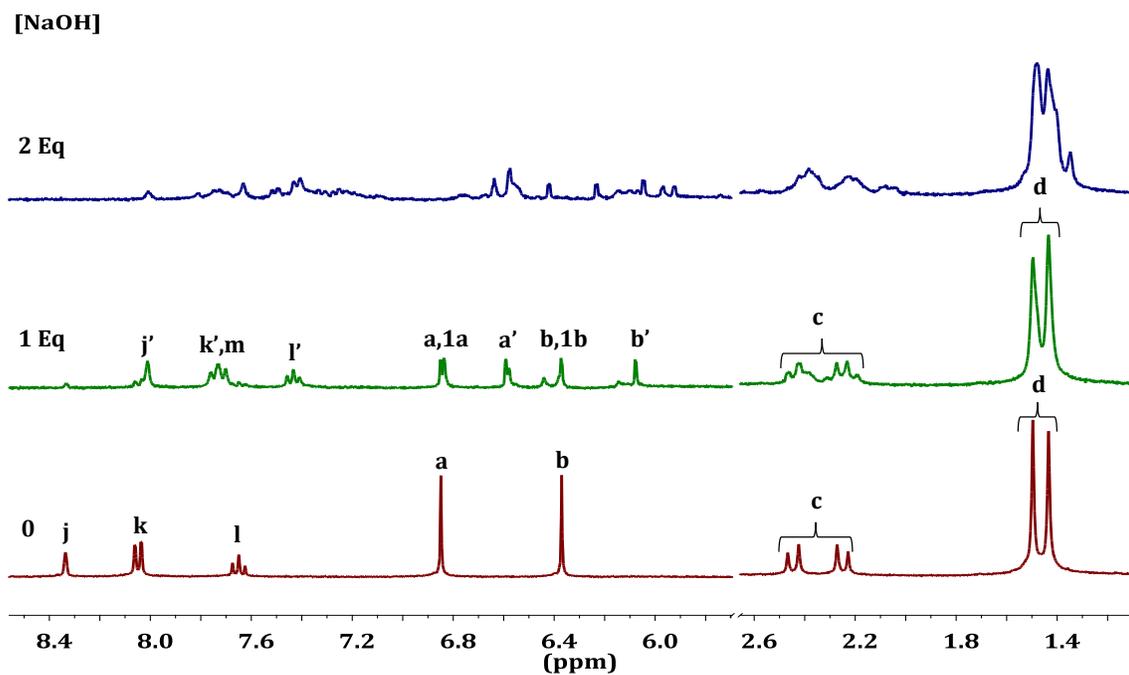


Figura 5.42: Titulación seguida por RMN ¹H de TST-ácido meta-fenilendiborónico en relación 1:1 (0.01 M) con NaOH en mezcla 1:1 D₂O/DMSO d₆.

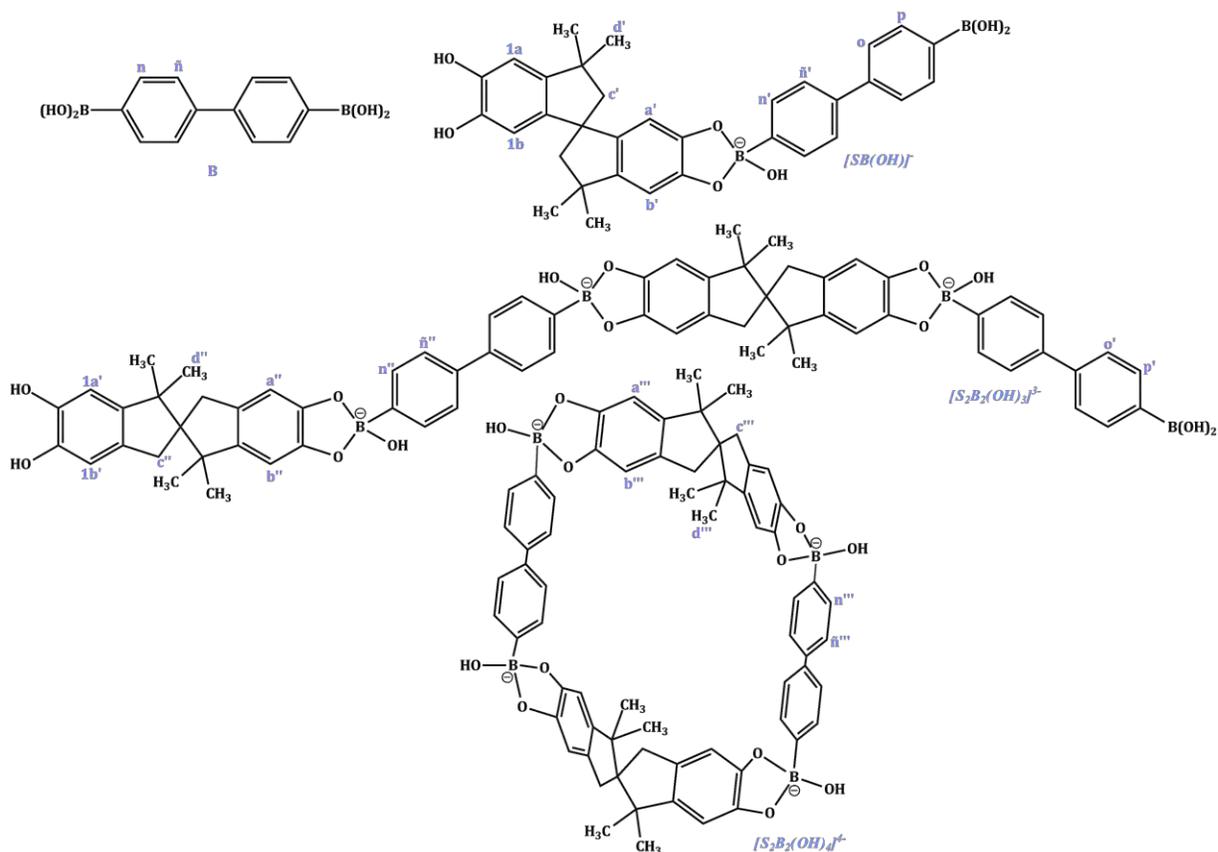


Figura 5.43: Estructura del ácido bifenil-4,4'-diborónico (B) y de sus ésteres derivados con TST (S).

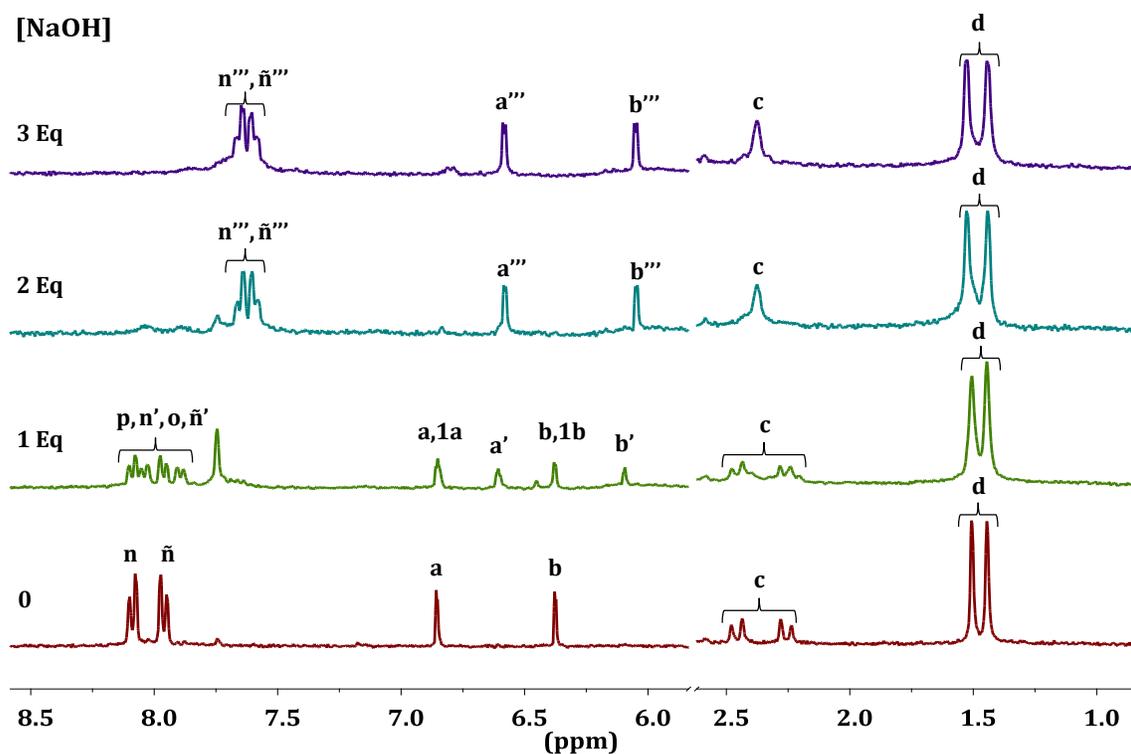


Figura 5.44: Titulación seguida por RMN 1H de TST-ácido bifenil 4,4'-diborónico en relación 1:1, (2mM) con NaOH en mezcla 1:1 $D_2O/DMSO d_6$.

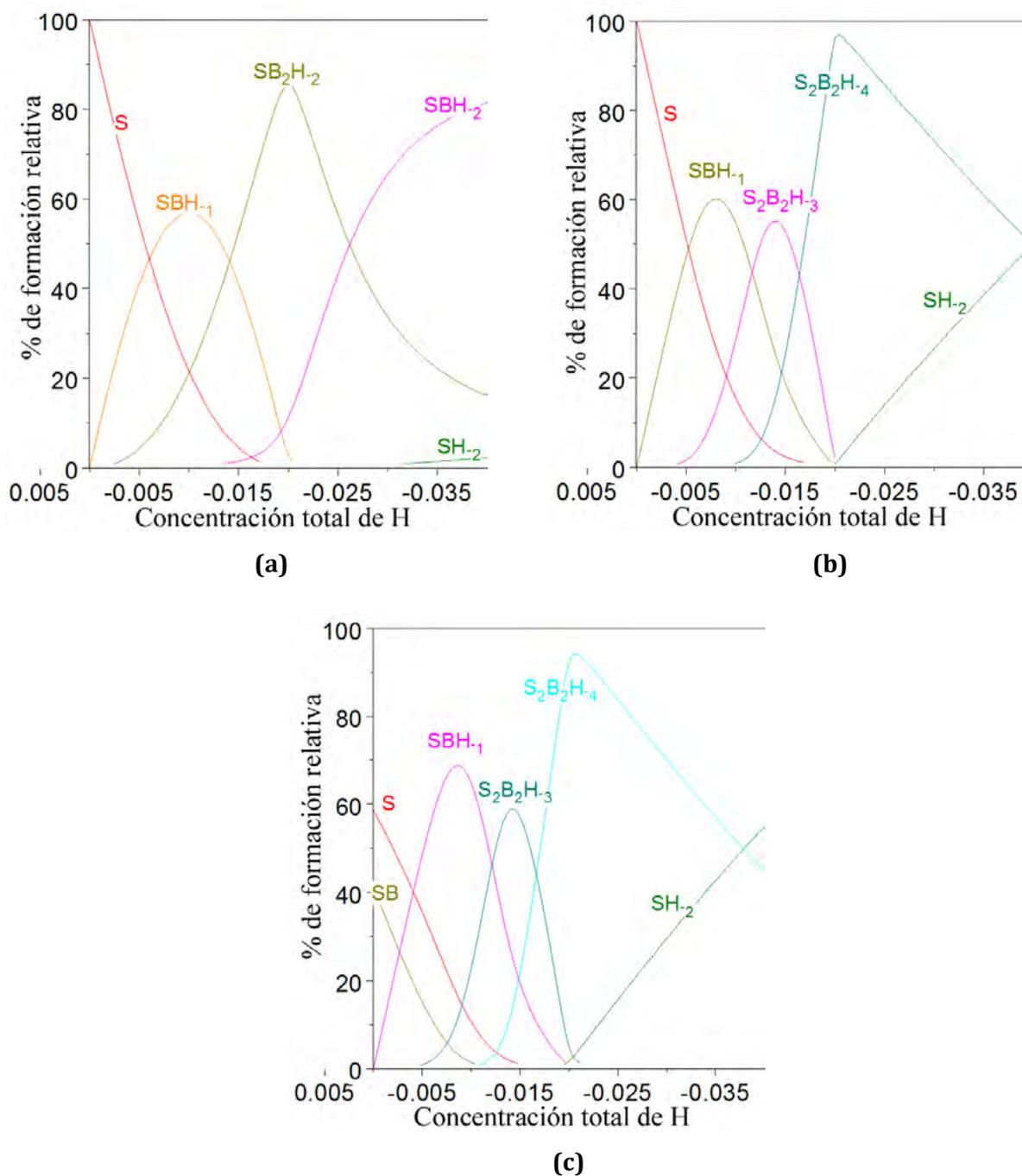


Figura 5.45: Diagramas de distribución de especies para la formación de ésteres borónicos derivados de TST con (a) ácido fenilborónico, (b) ácido *para*-fenilendiborónico, (c) ácido *meta*-fenilendiborónico.

Los diagramas de distribución de especies (Figura 5.45) para la formación de los ésteres de TST con ácido fenilborónico y ácido *para*-fenilendiborónico concuerdan con lo observado por resonancia magnética nuclear de ^1H . Por ejemplo en el caso de la titulación de la mezcla TST-ácido fenilborónico, de acuerdo con el diagrama de

distribución de especies, con el primer equivalente de NaOH se tiene la formación del complejo $[\text{SB}(\text{OH})]^-$ y además se encuentra TST libre y alrededor del 20% del complejo $[\text{SB}_2(\text{OH})_2]^{2-}$, lo que en espectro de RMN se observa como varios grupos de señales aromáticas (ver Figura 5.38). Con dos equivalentes de NaOH es visible un conjunto de señales aromáticas predominante que corresponde al complejo $[\text{SB}_2(\text{OH})_2]^{2-}$, en perfecto acuerdo con el diagrama de distribución de especies.

El estudio por RMN ^1H de la formación del éster con ácido *para*-fenilborónico, indica claramente la formación de una especie simétrica con 2 equivalentes de NaOH. En el seguimiento de titulación (Figura 5.40) al agregar un equivalente de NaOH, se observan además de la señal aromática en 7.97 ppm (letra *h*, Figura 5.39 y 5.40), correspondiente a los protones equivalentes en el anillo del ácido libre, dos dobletes en 7.78-7.76 y 7.66-7.64 ppm (letras *i* y *h'*) que indican la formación de un complejo 1:1 ($[\text{SB}(\text{OH})]^-$), en el cual los protones de dicho anillo no son equivalentes; al añadir otro equivalente de NaOH, se observa una sola señal aromática en 7.40 ppm (*h''*, Figura 5.39 y 5.40) para los protones del anillo del ácido que ahora forma parte del complejo simétrico 2:2 ($[\text{S}_2\text{B}_2(\text{OH})_4]^{4-}$).

La titulación por RMN ^1H en el caso de ácido *meta*-fenilendiborónico no corresponde a distribución de especies, ya que no se observa el complejo neutro SB, que de acuerdo al diagrama debe contribuir en un 40% sin adición de NaOH, por lo tanto la formación del complejo neutro SB puede ser solo un artefacto en el ajuste de datos, que contribuye muy poco en condiciones de potenciometría. Además los espectros de RMN (Figura 5.42) con adiciones de NaOH indican una mezcla de productos más complicada de lo que parece por potenciometría, en este caso es posible que existan varios isómeros de complejos en lugar de la formación de especies individuales, lo que complica la asignación de señales.

En el caso del estudio por RMN ^1H de la formación del éster con ácido bifenil 4,4'-diborónico, se observa también la formación de una especie simétrica con 2 equivalentes de NaOH. Al agregar un equivalente de NaOH (Figura 5.44), se observa un juego de señales que indican la formación de un complejo 1:1 ($[\text{SB}(\text{OH})]^-$, Figura 5.43); al añadir otro equivalente de NaOH, se observan señales para los protones del complejo simétrico 2:2 ($[\text{S}_2\text{B}_2(\text{OH})_4]^{4-}$, Figura 5.43).

6. CONCLUSIONES

Se realizó un estudio cuantitativo del efecto de los sustituyentes y de la acidez del medio sobre la estabilidad de ésteres derivados de ácidos arilborónicos y dioles, obteniendo correlaciones de tipo Hammett y Brönsted, para lo cual se determinaron las constantes de equilibrio β_{11-1} referentes a la formación de ésteres borónicos en agua mediante titulaciones potenciométricas a 25°C.

Debido a que la asociación óptima entre un ácido borónico y un diol depende de la relación entre los valores de pK_a de ambos componentes, así como del pH de la disolución, se obtuvieron perfiles de las constantes de estabilidad observadas, K_{obs} , en función del pH empleando técnicas de espectrofotometría UV-Vis y fluorimetría. Se observó una notable desviación con respecto a los perfiles calculados por datos potenciométricos, tal desviación se debe a la interdependencia significativa que existe entre los parámetros de ajuste; sin embargo, cabe mencionar que el valor de las constantes de equilibrio β_{11-1} obtenidas a partir de resultados espectrofotométricos con valores de pK_a determinados independientemente, concuerdan con los obtenidos por potenciometría.

También se determinaron las constantes de estabilidad observadas (K_{obs}) mediante titulaciones monitoreadas por RMN- ^{11}B ; tales constantes resultaron ser aproximadamente un orden de magnitud más pequeñas que las determinadas por UV-Vis en las mismas condiciones, lo cual se atribuye a posibles interacciones entre el núcleo de ^{11}B y los anillos aromáticos, de los ácidos arilborónicos y/o de los catecoles, que conduce al ensanchamiento de las señales y por lo tanto a la falta de proporcionalidad entre el área de las señales y la concentración de las especies respectivas.

A través de las correlaciones de Hammett y Brönsted obtenidas, se ha propuesto una ecuación general que permite el cálculo de las constantes de estabilidad a partir de los valores de pK_a del ácido borónico y del diol, con una incertidumbre de 0.3 en unidad logarítmica. La validez de la ecuación se examinó en un conjunto de 45 reacciones entre diferentes tipos de ácidos borónicos y dioles con valores de pK_a^B , pK_a^D y β_{11-1} o K_{obs} informados en literatura. Se observó que la ecuación obtenida es aplicable tanto para

ácidos arilborónicos sustituidos, como para benzoxaborol, ácido metilborónico, difenilborónico y bórico, con valores de las constantes de estabilidad cercanos a los esperados.

Como dicha ecuación nos permite calcular las constantes de estabilidad de ésteres solo en términos de las propiedades ácido-base de ambos componentes (determinadas por el efecto electrónico de sustituyentes), es posible observar otro tipo de factores en la estabilidad de los ésteres, como la formación de enlaces adicionales, efectos estéricos o de carga, por comparación de los resultados calculados con los obtenidos experimentalmente.

Con respecto a estudios preliminares de la interacción de ácidos dibóricos con catecoles y bis-catecoles se observó la formación de ésteres con ambos grupos borónicos, indicando la viabilidad de generar estructuras supramoleculares por autoensamble en medio acuoso, lo cual es atractivo para la posible aplicación de estas estructuras como anfitriones en el reconocimiento molecular de especies iónicas y/o compuestos biológicos. La formación de macrociclos tetra-aniónicos a partir del biscatecol 3,3,3',3'-tetrametil-1,1'-spirobindano-5,5',6,6'-tetraol y los ácidos *para*-fenilendiborónico o bifenil 4,4'-diborónico en mezcla Agua/DMSO (1:1, v/v) fue corroborado mediante titulaciones potenciométricas y RMN-¹H.

7. ANEXOS

7.1. VALORES DE pK_{a2} DE DIOLES^(a)

Diol	pK_{a2}
ARS	10.9
4-Nitrocatecol	10.83
Tiron	12.5
Pirocatecol	13.3

(a) Valores obtenidos de referencia [63b].

7.2. TITULACIONES POTENCIOMÉTRICAS

Se muestran las curvas de titulaciones potenciométricas de cada uno de los diferentes ácidos borónicos sin y en presencia de Tiron.

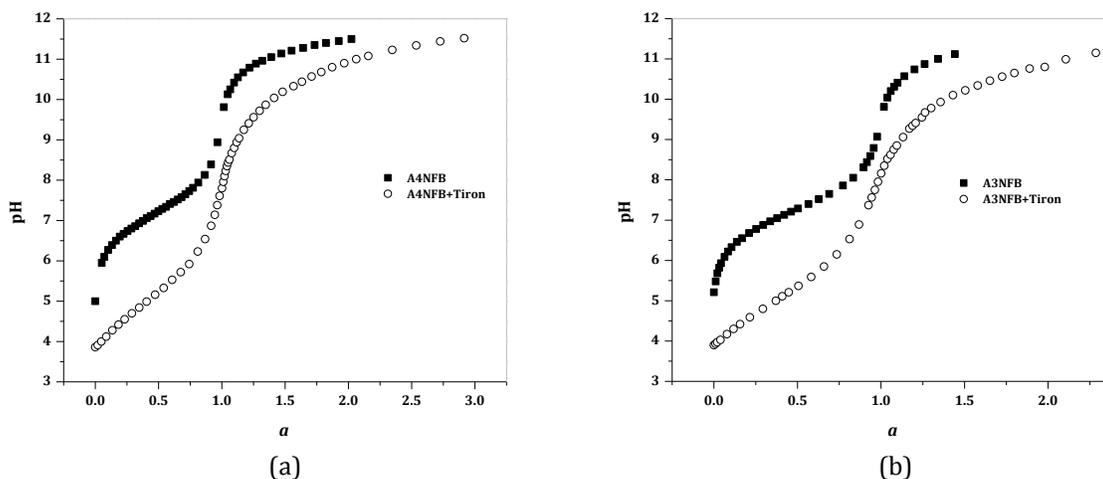


Figura 7.1: Curvas de titulación potenciométrica de (a) ácido 4-nitrofenilborónico (A4NFB) y (b) ácido 4-nitrofenilborónico (A3NFB) 2mM (cuadrados negros), y de mezclas 1:1 del ácido borónico con tiron (círculos blancos) con NaOH, a 25°C, fuerza iónica 0.05 M por adición de NaCl, "a" es el número de equivalentes de NaOH.

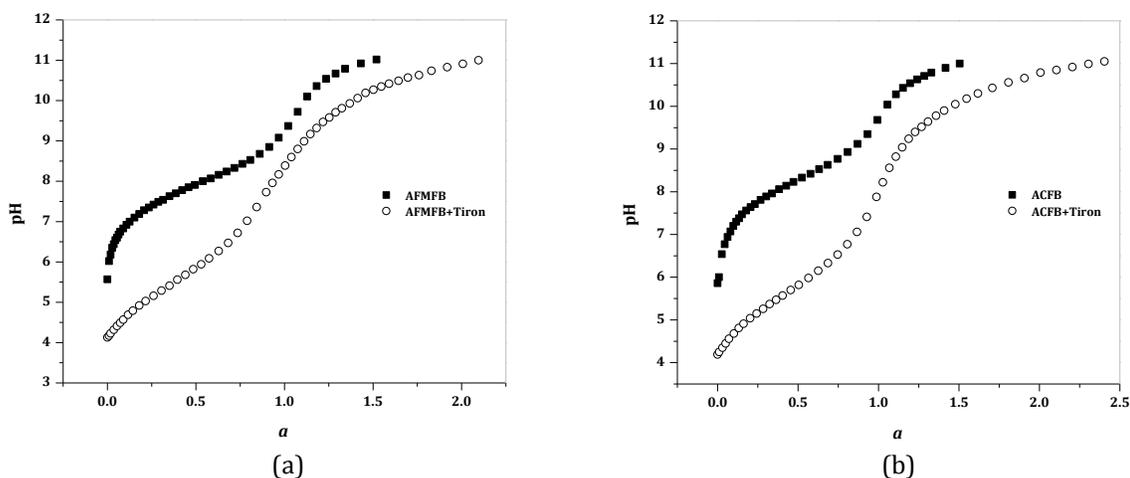


Figura 7.2: Curvas de titulación potenciométrica de (a) ácido 3-trifluorometilfenilborónico (AFMFB) y (b) ácido 4-clorofenilborónico (ACFB) 2mM (cuadrados negros), y de mezclas 1:1 del ácido borónico con tiron (círculos blancos) con NaOH, a 25°C, fuerza iónica 0.05 M por adición de NaCl, "a" es el número de equivalentes de NaOH.

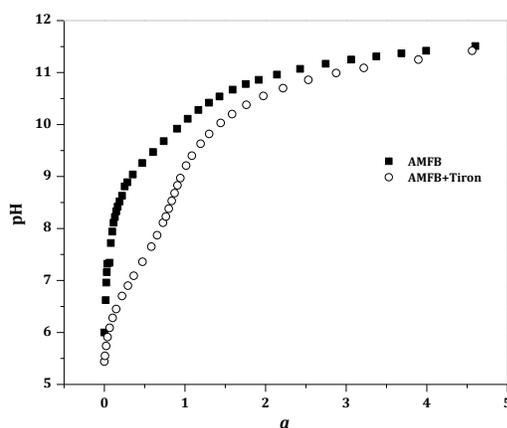


Figura 7.3: Curvas de titulación potenciométrica de ácido 4-metoxifenilborónico (AMFB) 2mM (cuadrados negros), y de mezcla 1:1 del ácido borónico con tiron (círculos blancos) con NaOH, a 25°C, fuerza iónica 0.05 M por adición de NaCl, "a" es el número de equivalentes de NaOH.

Tabla 7.2: Constantes de equilibrio K_{tet} para la formación de ésteres provenientes de diversos ácidos arilborónicos y dioles en agua a 25°C.

Ácido borónico			Dioles				
			ARS	4-Nitrocatecol	Tiron	Catecol	Glucosa
sustituyente	$\sigma^{(a)}$	pK_a^B	$\log K_{tet}^{(b)}$				
3-CO ₂ Me-5-NO ₂	1.08	6.74	5.67				
4-NO ₂	0.78	7.23	5.86		5.04		
3-NO ₂	0.71	7.27	5.98	5.15	4.99	4.12	1.91
3-CF ₃	0.43	7.94		5.43	5.17	4.32	2.09
4-CONH ₂	0.36	8.18	6.31				
4-Cl	0.23	8.26		5.39	5.40	4.30	1.83
H	0	8.90	6.60	5.88	5.42	4.57	2.15
4-MeO	-0.27	9.24		5.83	5.49	4.40	1.94
$\rho (K_{tet})$			-0.89	-0.76	-0.49	-0.34	0.0

(a) Constantes de Hammett en ref. [47],(b)Valores calculados a partir de $\log \beta_{11-1}$ y pK_a^B con la Ecuación 5.1.

7.3. TITULACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS UV-VIS

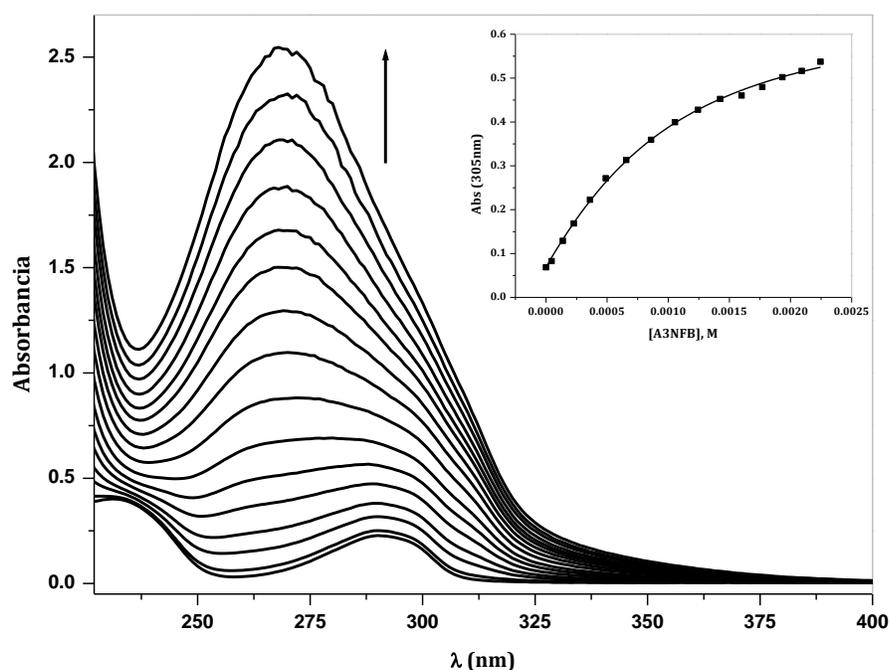


Figura 7.4: Titulación espectrofotométrica de Tiron 0.5 mM con ácido 3-nitrofenilborónico a pH 5.5 en D₂O, (buffer MES 0.05M); en el recuadro superior se muestra el perfil de titulación a 305 nm.

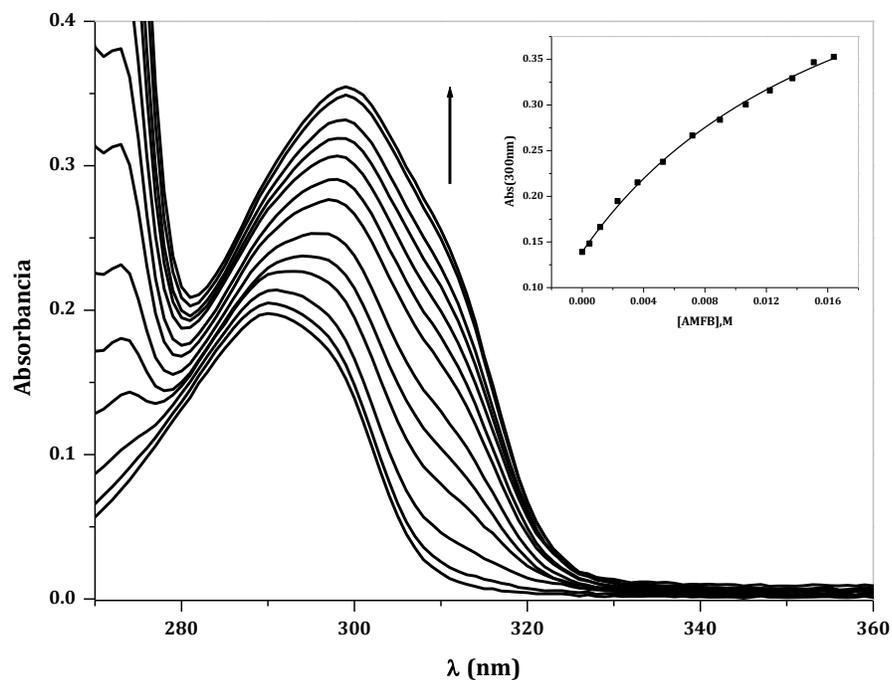


Figura 7.5: Titulación espectrofotométrica de Tiron 0.6 mM con ácido fenilborónico a pH 5.5 en D_2O , (buffer MES 0.05M); en el recuadro superior se muestra el perfil de titulación a 300 nm.

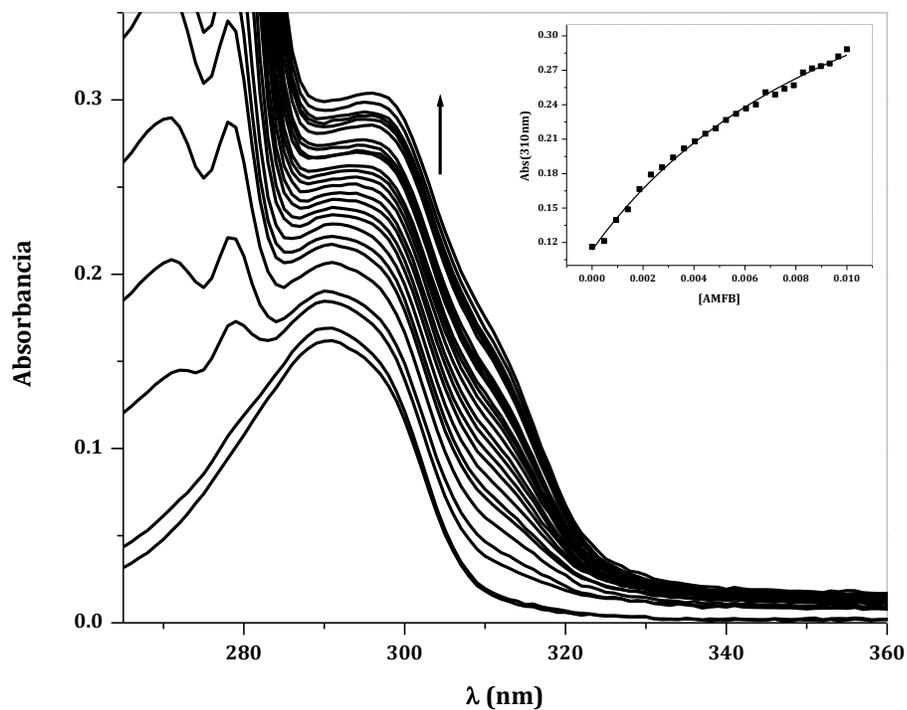


Figura 7.6: Titulación espectrofotométrica de Tiron 0.6 mM con ácido 4-metoxifenilborónico a pH 5.5 en D_2O , (buffer MES 0.05M); en el recuadro superior se muestra el perfil de titulación a 310 nm.

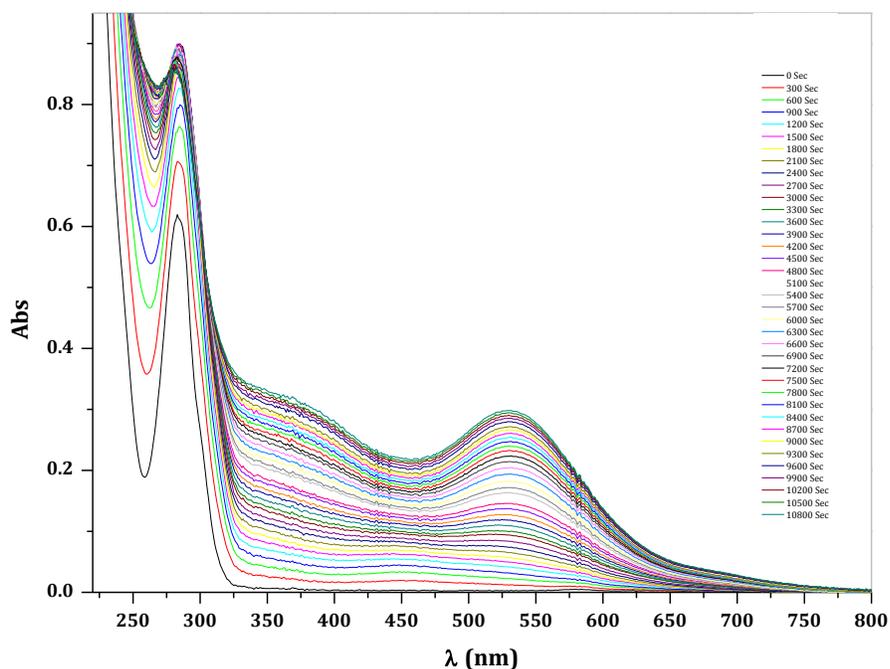


Figura 7.7: Espectro UV-Vis del ácido nordihidroguaiarético 0.1mM (pH 9.4) a diferentes tiempos, se observa la aparición de una banda a 532 nm, por oxidación del compuesto.

7.4. TITULACIONES SEGUIDAS POR RMN-¹¹B

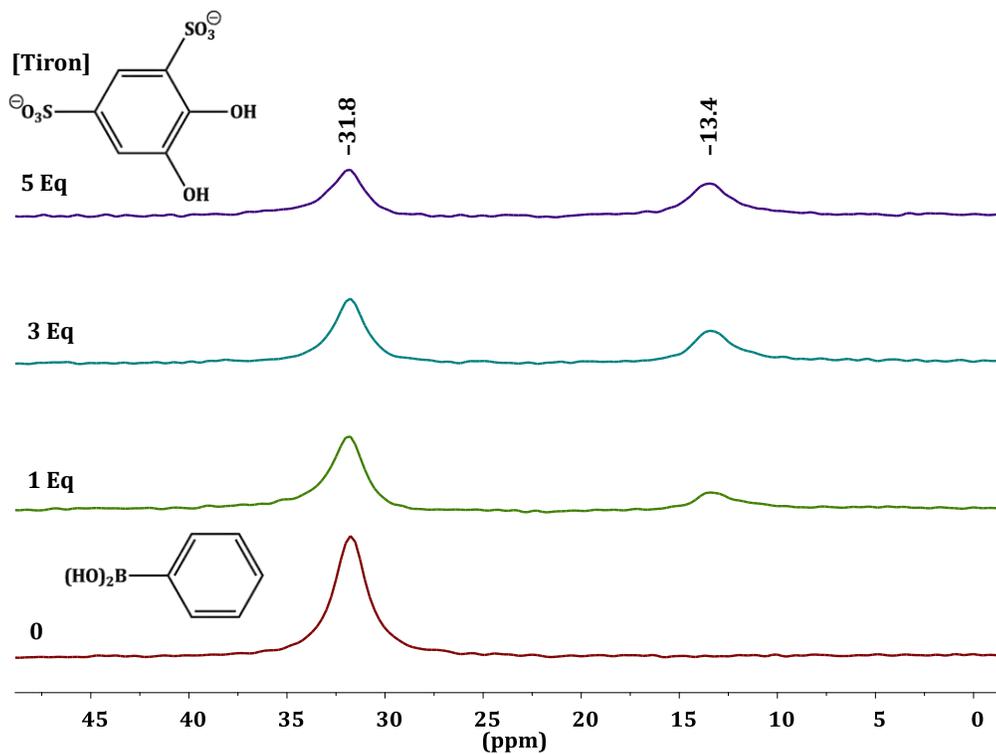


Figura 7.8: Titulación seguida por RMN ¹¹B del ácido fenilborónico 0.01M con Tiron a pH 5.5, (buffer MES 0.05M en D₂O).

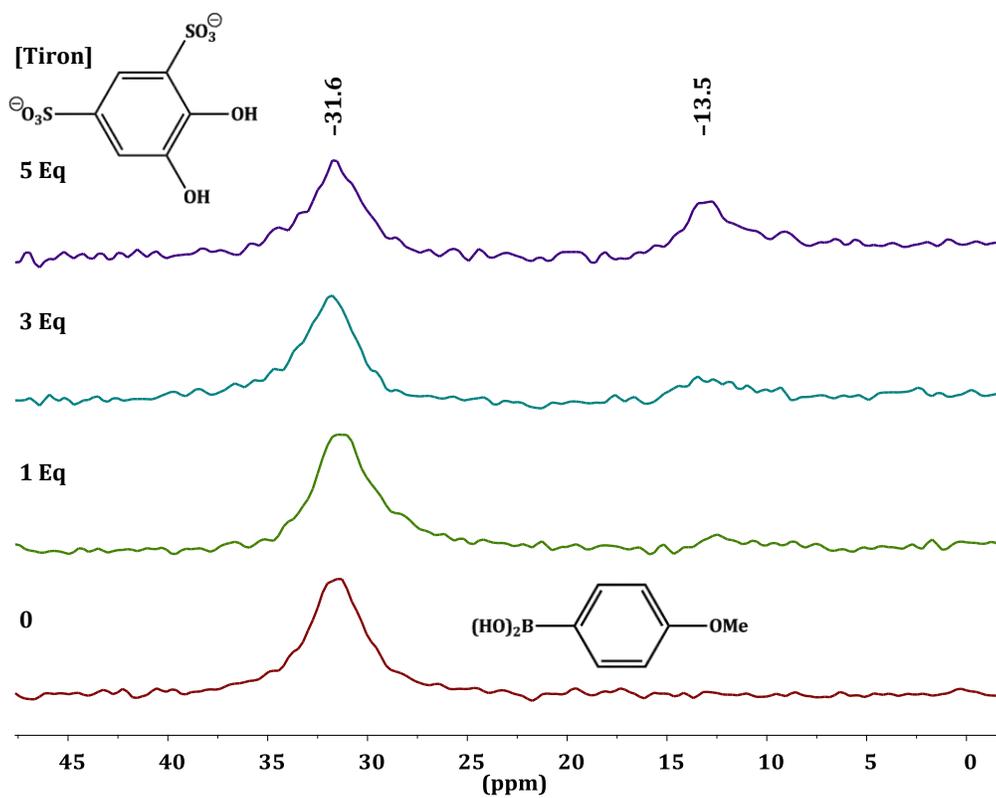


Figura 7.9: Titulación seguida por RMN ^{11}B del ácido 4-metoxifenilborónico 0.01M con Tiron a pH 5.5, (buffer MES 0.05M en D_2O).

Substituent Effects and pH Profiles for Stability Constants of Arylboronic Acid Diol Esters

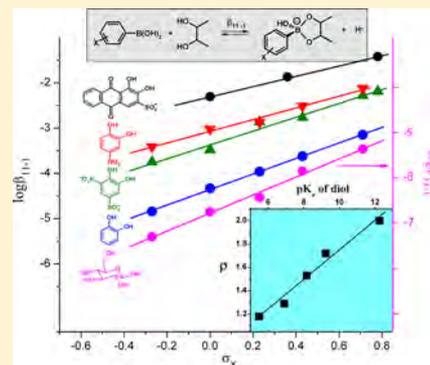
Mayte A. Martínez-Aguirre,[†] Raul Villamil-Ramos,[‡] Jorge A. Guerrero-Alvarez,[‡] and Anatoly K. Yatsimirsky^{*,†}

[†]Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., Mexico

[‡]Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico

Supporting Information

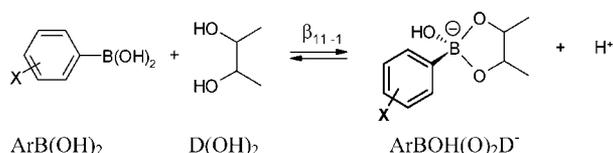
ABSTRACT: Stability constants of boronic acid diol esters in aqueous solution have been determined potentiometrically for a series of *meta*-, *para*-substituted phenylboronic acids and diols of variable acidity. The constants β_{11-1} for reactions between neutral forms of reactants producing the anionic ester plus proton follow the Hammett equation with ρ depending on pK_a of diol and varying from 2.0 for glucose to 1.29 for 4-nitrocatechol. Observed stability constants (K_{obs}) measured by UV–vis and fluorometric titrations at variable pH for esters of 4,5-dihydroxy-1,3-benzenedisulfonate (Tiron) generally agree with those expected on the basis of β_{11-1} values, but the direct fitting of K_{obs} vs pH profiles gives shifted pK_a values both for boronic acids and diol as a result of significant interdependence of fitting parameters. The substituent effects on absorption and fluorescence spectra of Tiron arylboronate esters are characterized. The K_{obs} for Tiron determined by ¹¹B NMR titrations are approximately 1 order of magnitude smaller than those determined by UV–vis titrations under identical conditions. A general equation, which makes possible an estimate of β_{11-1} for any pair of boronic acid and diol from their pK_a values, is proposed on the basis of established Brønsted-type correlation of Hammett parameters for β_{11-1} with acidity of diols. The equation allows one to calculate stability constants expected only on basis of acid–base properties of the components, thus permitting more strict evaluation of contributions of additional factors such as steric or charge effects to the ester stability.



INTRODUCTION

Extensive use of boronic acid–diol complexation in recognition of saccharides and related molecules¹ stimulated studies aimed to deeper understanding of the nature of processes involved in boronate diol ester formation.^{2–7} Most often, saccharide sensors are based on arylboronic acids and the principal reaction in aqueous solutions involves formation of a tetrahedral anionic ester as shown in Scheme 1.

Scheme 1



Surprisingly, a simple aspect of the substituent effect on the stability of arylboronic acid diol esters has not been analyzed yet quantitatively in spite of its importance for choosing an optimum boronic acid derivative. In recently reported studies with substituted arylboronic acids,^{2a,3b,8} the quantitative analysis is limited to determination of the Hammett ρ constant for substituent effects on pK_a values, which confirm previously established correlations with ρ ranging from -2.0 to -2.1 .⁹ For

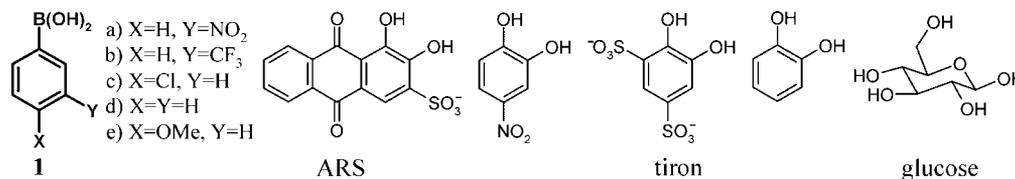
this reason, our primary goal in this work was to determine ρ constants for diol ester formation with diols of variable acidity in order to obtain a comprehensive picture of electronic effects in this reaction. Structures of arylboronic acids and diols considered in this study are shown in Chart 1. The equilibrium constants were determined by potentiometric titrations, which give the most accurate values because measurements are performed in the absence of buffers and the fitting requires a minimum of adjustable parameters.

A more complex, but practically important, aspect is the interpretation of substituent effects on the observed equilibrium constants (K_{obs}) measured experimentally by, e.g., different types of spectroscopic titrations under given reaction conditions. These constants are pH-dependent because all components of the reaction, boronic acid, diol, and ester undergo acid dissociation processes. A serious concern was expressed regarding consistency of experimentally obtained and theoretically predicted pH profiles of observed equilibrium constants,^{2a} and this prompted us to analyze this aspect in more details. We chose for this study as a model reaction the ester formation of substituted boronic acids with Tiron, a fluorescent diol freely soluble in water, which allows one determination of

Received: March 24, 2013

Published: April 30, 2013

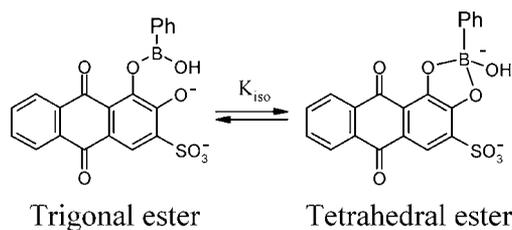
Chart 1



equilibrium constants both by spectrophotometry and fluorimetry, two most popular techniques for study of boronic acid–diol equilibria and for development of optical saccharide sensors. The K_{obs} values were determined by both techniques and additionally by ^{11}B NMR with three boronic acids **1a**, **1d**, and **1e** in a wide interval of pH and were compared with those following from potentiometry.

These results allowed us to address another point of concern:^{2a} the consistency of equilibrium constants determined by different experimental techniques. In principal, some variation in K_{obs} determined by different methods may be expected due to inevitable different systematic errors and often different experimental conditions employed for various techniques, but a strong discrepancy in K_{obs} found by different methods may indicate an erroneous reaction mechanism. It is worth noting in this respect that recently a strong discrepancy between equilibrium constants for ester formation of phenylboronic acid with alizarin red S (ARS) determined by fluorescence and ^{11}B NMR titrations was reported, and this led the authors to conclusion that the tetrahedral form of the ester in fact is a minor component coexisting in equilibrium with the major trigonal form, as shown in Scheme 2.⁶

Scheme 2



The results presented below demonstrate that pH profiles of K_{obs} determined by UV–vis and fluorometric titrations do show noticeable deviations from those predicted from potentiometric data, but nevertheless the equilibrium constants β_{11-1} for the reaction in Scheme 1 calculated from spectroscopic results with independently determined $\text{p}K_{\text{a}}$ values of diol and boronic acid agree very well with those determined potentiometrically. On the other hand, the values found from ^{11}B NMR titrations show significant deviations from those determined by other methods. Finally, a general equation, which allows one to estimate the β_{11-1} values from $\text{p}K_{\text{a}}$ of diol and boronic acid, is proposed on the basis of correlation data.

RESULTS AND DISCUSSION

Considering ester formation in a wide range of pH one needs to take into account deprotonation of boronic acid and diol as well as formation of two types of esters: neutral trigonal and anionic tetrahedral forms.¹⁰ In dilute aqueous solutions employed in this study, formation of the trigonal ester with several exceptions³ contributes insignificantly to the overall process and will be neglected in the subsequent analysis.¹¹ We will consider therefore three simultaneous processes: dissociation of arylboronic acid with the acid dissociation constant K_{a}^{B} (1), the first step of dissociation of diol with the acid dissociation constant K_{a}^{D} (2), and reaction of the ester formation (3) in accordance with Scheme 1 with the equilibrium constant β_{11-1} .

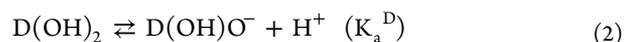
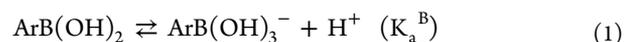


Table 1. Equilibrium Constants for Diol Ester formation (Scheme 1) with *Meta*- or *Para*-Substituted Phenylboronic Acids in Water at 25 °C^a

boronic acid			diol				
substituent	σ	$\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}$	ARS ^{b)}	4-nitrocatechol	Tiron	catechol	glucose
			$\log \beta_{11-1}$				
3-CO ₂ Me-5-NO ₂	1.08	6.74	−1.074				
4-NO ₂	0.78	7.23	−1.37		−2.19		
3-NO ₂	0.71	7.27	−1.29	−2.12	−2.28	−3.15	−5.36
3-CF ₃	0.43	7.94		−2.51	−2.77	−3.62	−5.85
4-CONH ₂	0.36	8.18	−1.87				
4-Cl	0.23	8.26		−2.87	−2.86	−3.96	−6.43
H	0	8.90	−2.3	−3.02	−3.48	−4.33	−6.75
4-MeO	−0.27	9.24		−3.41	−3.75	−4.84	−7.30
$\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$			5.5	6.9	8.16	9.32	12.25
ρ		−2.0(1)	1.2(1)	1.29(9)	1.5(1)	1.72(3)	2.0(1)
ρ (K_{et})			−0.89(4)	−0.7(2)	−0.49(8)	−0.3(1)	0.0(2)

^aErrors in $\log \beta_{11-1}$ are equal or less than ± 0.03 . ^{b)}From data reported in ref 12.

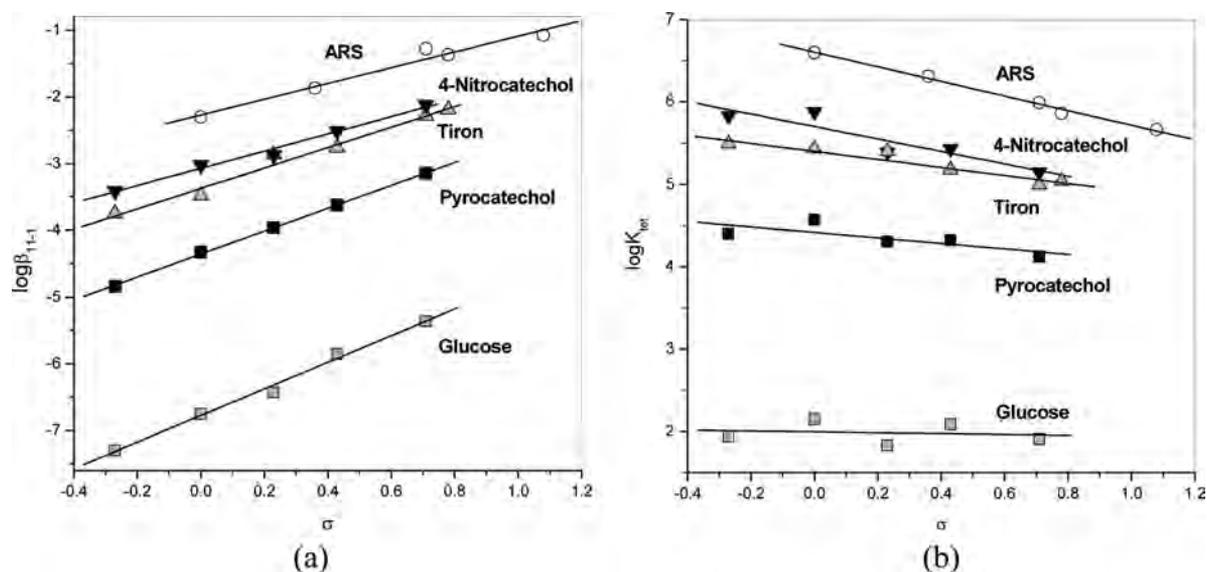
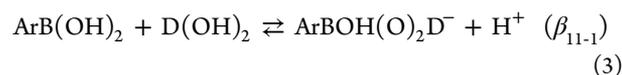


Figure 1. Hammett plots for $\log \beta_{11-1}$ (a) and $\log K_{\text{tet}}$ (b) with different diols.



Another often employed equation for diol ester formation refers to the interaction of deprotonated boronic acid with neutral diol, reaction 4, with the equilibrium constant usually labeled as K_{tet} related to β_{11-1} by eq 5.



$$K_{\text{tet}} = \beta_{11-1}/K_a^{\text{B}} \text{ or } \log K_{\text{tet}} = \log \beta_{11-1} + \text{p}K_a^{\text{B}} \quad (5)$$

The experimentally important parameter, which reflects the degree of ester formation under given conditions, is the so-called observed formation constant (K_{obs}) defined by eq 6 in terms of total concentrations of all components (the subscript “T” stands for total concentration that is the sum of concentrations of neutral and deprotonated forms of boronic acid and diol; since the tetrahedral ester is the sole reaction product its total concentration coincides with its equilibrium concentration).

$$K_{\text{obs}} = \frac{[\text{ArB(O)}_2\text{D(OH)}^-]}{[(\text{ArB(OH)}_2)_T][\text{D(OH)}_2]_T} \quad (6)$$

Combining eq 6 with mass balance equations and expressions for respective dissociation constants one obtains eq 7, which predicts a bell-shaped profile of K_{obs} vs pH with the optimum pH and maximum K_{obs} corresponding to this pH given by eqs 8 and 9, respectively.

$$K_{\text{obs}} = \frac{\beta_{11-1}[\text{H}^+]}{(K_a^{\text{D}} + [\text{H}^+])(K_a^{\text{B}} + [\text{H}^+])} \quad (7)$$

$$\text{pH}_{\text{opt}} = (\text{p}K_a^{\text{D}} + \text{p}K_a^{\text{B}})/2 \quad (8)$$

$$K_{\text{obs}}^{\text{max}} = (\beta_{11-1}/K_a^{\text{D}})/(1 + (K_a^{\text{B}}/K_a^{\text{D}})^{0.5})^2 \quad (9)$$

In the first step, the equilibrium constants for the whole set of arylboronic acids and diols were determined by potentiometric titrations. The results are collected in Table 1. Also included in Table 1 are β_{11-1} values for ARS calculated by using eq 7 from

K_{obs} at pH 7.5 reported in ref 12 for *meta*- and *para*-substituted phenylboronic acids.

In agreement with previously reported results,^{2a,8,9} the values of $\text{p}K_a^{\text{B}}$ follow the Hammett eq 10 with $\rho = -2.0 \pm 0.1$ ($\text{p}K_a^{\text{H}}$ is $\text{p}K_a^{\text{B}}$ for unsubstituted phenylboronic acid **1d**). The Hammett plots for $\log \beta_{11-1}$, eq 11, for all diols are shown in Figure 1a, and the ρ values are collected in Table 1.

$$\text{p}K_a^{\text{B}} = \rho\sigma + \text{p}K_a^{\text{H}} \quad (10)$$

$$\log \beta_{11-1} = \rho\sigma + \log \beta_{11-1}^{\text{H}} \quad (11)$$

Evidently, ρ values become progressively smaller for more acidic diols. This is an expected trend because the absolute value of ρ reflects the degree of negative charge development on the boronate group in the ester and more acidic diols donate smaller negative charge. The ρ for glucose coincides by absolute value in limits of experimental errors with ρ for $\text{p}K_a^{\text{B}}$ but have the opposite sign. In accordance with eq 5, this means that K_{tet} for glucose should be independent of the substituent. Indeed, the respective correlation shown in Figure 1b gives $\rho = -0.05 \pm 0.2$ for K_{tet} and glucose. With more acidic diols larger by absolute values negative ρ listed in Table 1 are observed (Figure 1b).

The equilibrium constants listed in Table 1 allow one to predict the pH profiles for K_{obs} with different combinations of boronic acids and diols by using eq 7. Figure 2 illustrates such profiles for two extreme cases: the most acidic diol ARS and the least acidic diol glucose. Several points are worth noting in this analysis.

A sharp pH-optimum is observed only when $\text{p}K_a$ values of boronic acid and diol are sufficiently close to each other, as is the case for **1a** and ARS ($\Delta\text{p}K_a = 1.8$). With a larger difference in $\text{p}K_a$ one observes a flat region around theoretically predicted pH_{opt} where K_{obs} remains practically constant. For weakly acidic diols with $\text{p}K_a$ above 12 like glucose one observes a “saturation” rather than a “bell-shaped” plot. It follows from eq 7 that when $K_a^{\text{D}} \ll [\text{H}^+]$, a condition which is fulfilled for glucose at $\text{pH} < 11$, the expression for K_{obs} takes the form of eq 12, which predicts an increase in K_{obs} on increase in pH (decrease in $[\text{H}^+]$) until the limiting value $\beta_{11-1}/K_a^{\text{B}} = K_{\text{tet}}$. Actually, the optimum pH predicted from eq 8 is lower than 11 for all

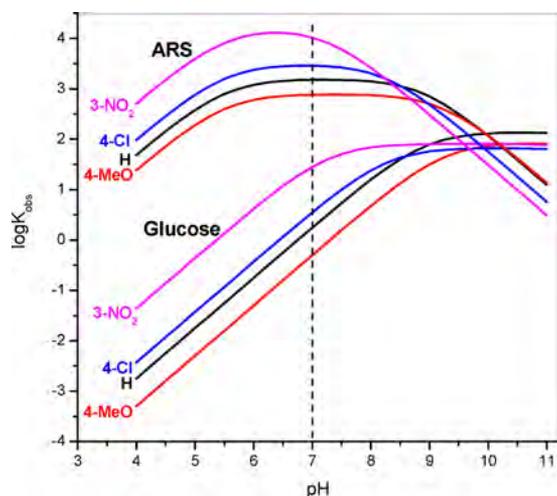
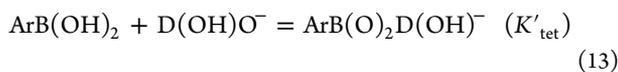


Figure 2. Simulated pH profiles calculated with eq 7 and parameters given in Table 1 for observed diol ester formation constants with different substituted phenylboronic acids and two diols: ARS and glucose.

boronic acids, e.g., $\text{pH}_{\text{opt}} = 9.8$ for **1a**, but since the optimum range is flat it looks like saturation.

$$K_{\text{obs}} = \beta_{11-1} / (K_{\text{a}}^{\text{B}} + [\text{H}^+]) \quad (12)$$

The maximum values of K_{obs} for ARS increase by more than 1 order of magnitude on going from less acidic **1e** to most acidic **1a**, but for glucose they remain practically constant for all boronic acids. This result can be predicted on the basis of eq 9. In the case of ARS, the ratio $K_{\text{a}}^{\text{B}}/K_{\text{a}}^{\text{D}} \ll 1$ and $K_{\text{obs}}^{\text{max}} = \beta_{11-1}/K_{\text{a}}^{\text{D}}$ which for a given diol varies as β_{11-1} for different boronic acids. It can be shown that $\beta_{11-1}/K_{\text{a}}^{\text{D}} = K'_{\text{tet}}$ where K'_{tet} is the equilibrium constant for the reaction 13 between neutral boronic acid and diol monoanion. Indeed, these forms of reactants are predominant at pH around pH_{opt} for ARS. In the case of glucose, $K_{\text{a}}^{\text{B}}/K_{\text{a}}^{\text{D}} \gg 1$ and $K_{\text{obs}}^{\text{max}} = \beta_{11-1}/K_{\text{a}}^{\text{B}} = K_{\text{tet}}$, which is independent of the substituent (see above). The same result follows also from eq 12 at $[\text{H}^+] \ll K_{\text{a}}^{\text{B}}$, which corresponds to the pH region when K_{obs} reaches its maximum value.



Under neutral solutions at $\text{pH} \sim 7$ K_{obs} increases on going from **1e** to **1a** to approximately the same extent for both diols (see data along the vertical dashed line in Figure 2) although for different reasons. For ARS this is the variation in $K_{\text{obs}}^{\text{max}} \approx K'_{\text{tet}}$ but for glucose this is the effect of shifting to the left of the pH profiles for larger values of K_{a}^{B} with constant $K_{\text{obs}}^{\text{max}} = K_{\text{tet}}$.

We shall consider next the results of spectrophotometric and fluorometric titrations of Tiron by substituted phenylboronic acids. For these experiments, besides unsubstituted phenylboronic acid **1d**, two other acids **1a** and **1d** with substituents possessing extreme electron-acceptor (3-nitro) and electron-donor (4-methoxy) properties were selected to cover a maximum interval of the strength of boronic acids. Figures 1S and 2S (Supporting Information) show the absorption and emission spectra of Tiron at variable pH. In the absorption spectra deprotonation of Tiron is manifested in disappearance of the maximum at 291 nm and appearance of two more intense maxima at 260 and 307 nm with three isosbestic points

at 244, 280, and 293 nm. In the emission spectra of Tiron recorded with excitation at the isosbestic point at 293 nm deprotonation induces the shift of the emission maximum at 339 nm to approximately 3 times less intense maximum at 369 nm. Figure 3 shows the pH profiles of absorption at 308 nm

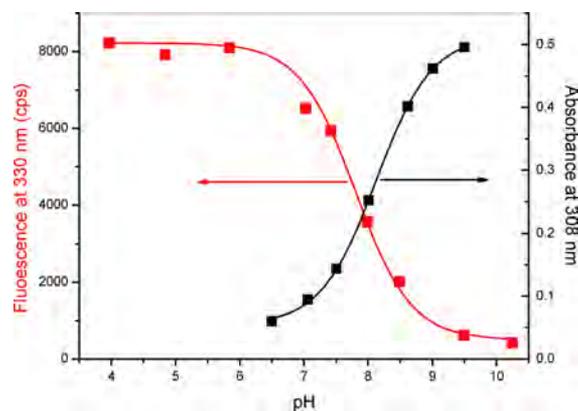


Figure 3. Fluorometric (red squares) and spectrophotometric (black squares) pH-titration plots for Tiron.

and emission at 330 nm from which one can calculate the $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ values 8.12 ± 0.04 and 7.82 ± 0.02 respectively. The “spectrophotometric” $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ coincides with that determined potentiometrically (Table 1), but the “fluorometric” $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ is 0.3 units lower. A reduced $\text{p}K_{\text{a}}$ found fluorometrically may reflect higher acidity of the excited state of a fluorophore as compared with its ground state.¹³ A similar and even more pronounced effect exists also for ARS. It has $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} = 5.5$ determined spectrophotometrically,¹⁴ but fluorescence titration data^{2b,15} point to $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} = 4$.

Figure 4a shows the course of spectrophotometric titration of Tiron by phenylboronic acid at pH 7.3 at wavelengths above 280 nm where there is no interference with absorption of phenylboronic acid. The complexation-induced shift in the spectrum resembles that induced by deprotonation as one may expect for formation of an anionic ester, Scheme 1. Absorption spectra of esters obtained with differently substituted boronic acids are shown in Figure 3S (Supporting Information). They all have similar absorption maxima at 302 nm and also similar molar absorptivities about $6000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

The course of fluorometric titration of Tiron at the same pH 7.3 by phenylboronic acid is shown in Figure 4b. The emission maximum shifts to longer wavelengths as in the case of deprotonation, but the fluorescence intensity increases rather than decreases. Figure 5 shows emission spectra of esters obtained with substituted boronic acids together with spectra of neutral and deprotonated forms of Tiron. In contrast to absorption spectra, the emission spectra are very sensitive to the substituent with electron accepting substituents inducing the quenching effect. Such behavior is often observed for organic fluorophores.¹³

Insets in parts a and b of Figure 4 show the titration profiles for spectrophotometric and fluorometric data at a single wavelength which fit very well to a theoretical equation for 1:1 binding isotherm. The K_{obs} calculated from such fittings at various pH are summarized in Table S1 (Supporting Information), and the results of spectrophotometric titrations are shown graphically in Figure 6. The spectrophotometric and fluorometric results agreed well between each other, but the

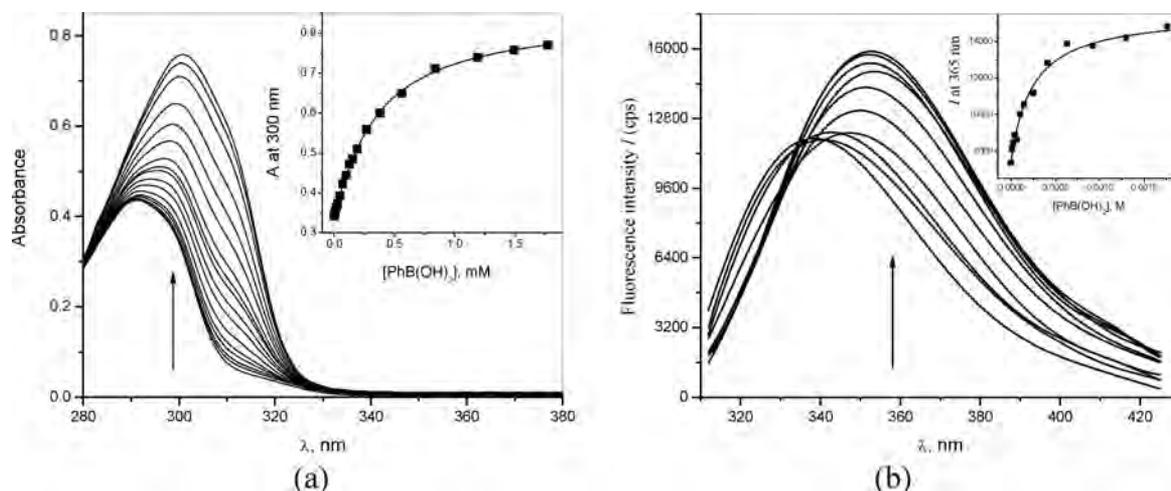


Figure 4. Spectrophotometric (a) and fluorometric (b) titrations of Tiron with **1d** at pH 7.3 (0.05 M MOPS buffer, 0.1 mM (a) and 0.03 mM (b) Tiron, excitation at 290 nm).

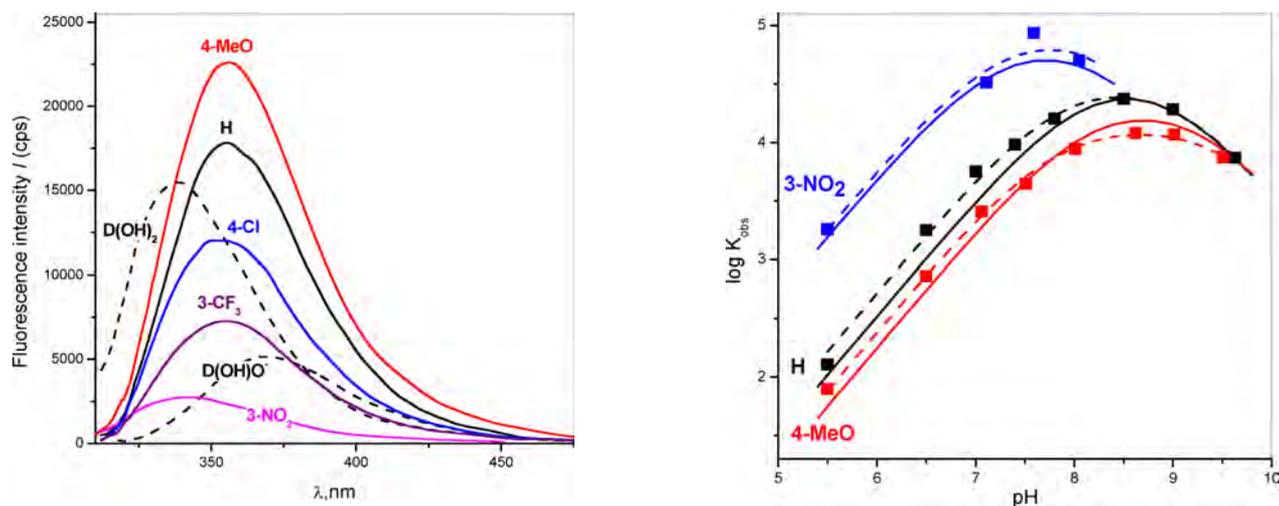


Figure 5. Emission spectra of neutral ($D(OH)_2$) and monoanionic ($D(OH)O^-$) forms of Tiron (dashed lines) and Tiron esters of substituted phenylboronic acids (excitation at 290 nm).

former were more reproducible and were used in further analysis. The solid lines are profiles calculated with eq 7 and equilibrium constants determined by potentiometric titrations. Evidently, the spectrophotometric results pass very closely but do not follow exactly the profiles predicted from potentiometric data.

If one applies eq 7 to spectroscopic results to calculate β_{11-1} from K_{obs} at each pH value with pK_a^D and pK_a^B determined potentiometrically and then takes the average for each boronic acid one obtains $\log \beta_{11-1} = -2.21(4)$, $-3.40(4)$, and $-3.80(5)$ for **1a**, **1d**, and **1e**, respectively. These values in limits of errors coincide with those determined potentiometrically (see Table 1). On the other hand, one may fit the pH profiles of K_{obs} directly to the eq 7 and obtain all parameters from the spectroscopic data only. The fitting is shown as dashed lines in Figure 5 and gives the following set of parameters: $\log \beta_{11-1} = -2.2(1)$, $-3.28(4)$, and $-3.61(2)$; $pK_a^D = 8.2(3)$; $7.9(1)$ and $7.79(5)$; $pK_a^B = 7.3(3)$, $9.0(2)$, and $9.5(1)$ for **1a**, **1d**, and **1e**, respectively. For **1a**, spectroscopic results are very close to potentiometric, but for two other acids one observes that the fitting requires lower pK_a values for Tiron and higher pK_a

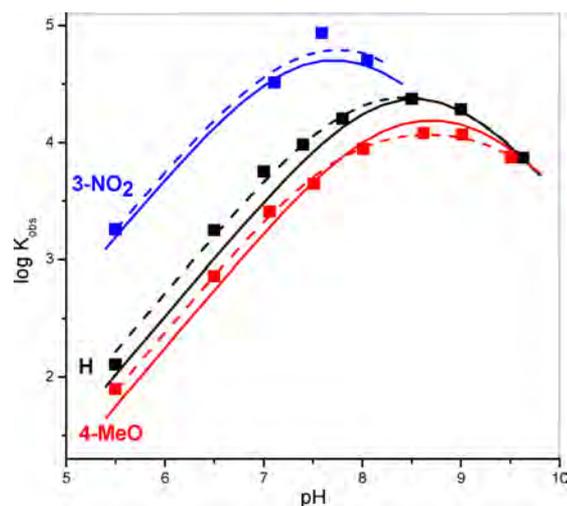


Figure 6. pH profiles of spectrophotometrically measured observed equilibrium constants for ester formation of Tiron with **1a**, **1d**, and **1e**. Solid lines are theoretically calculated profiles with parameters determined by potentiometric titrations given in Table 1; dashed lines are the best fit curves to eq 7.

values for boronic acids than those found potentiometrically. The difference cannot be attributed to some sort of a buffer effect because pK_a of Tiron determined spectrophotometrically in the same buffer which was used in titrations with boronic acids coincided with that determined potentiometrically (see above) and because K_{obs} were independent of buffer concentration in the range 5–50 mM. A possible reason for discrepancy is a significant interdependence of parameters of eq 7 so that iterations during the fitting procedure find a minimum with smaller β_{11-1} values “compensated” by shifted pK_a . Such interdependence should be smaller for interactions between boronic acids and diols with larger differences in their pK_a values because in these cases the optimum region is wider and pK_a values are determined essentially independently from each other. Obviously, the best way to obtain β_{11-1} values from spectroscopic titrations is to apply eq 7 with fixed pK_a values determined independently.

For ^{11}B NMR titrations of **1a**, **1d**, and **1e** by Tiron we chose pH 5.5 where K_{obs} are sufficiently small to be measured reliably

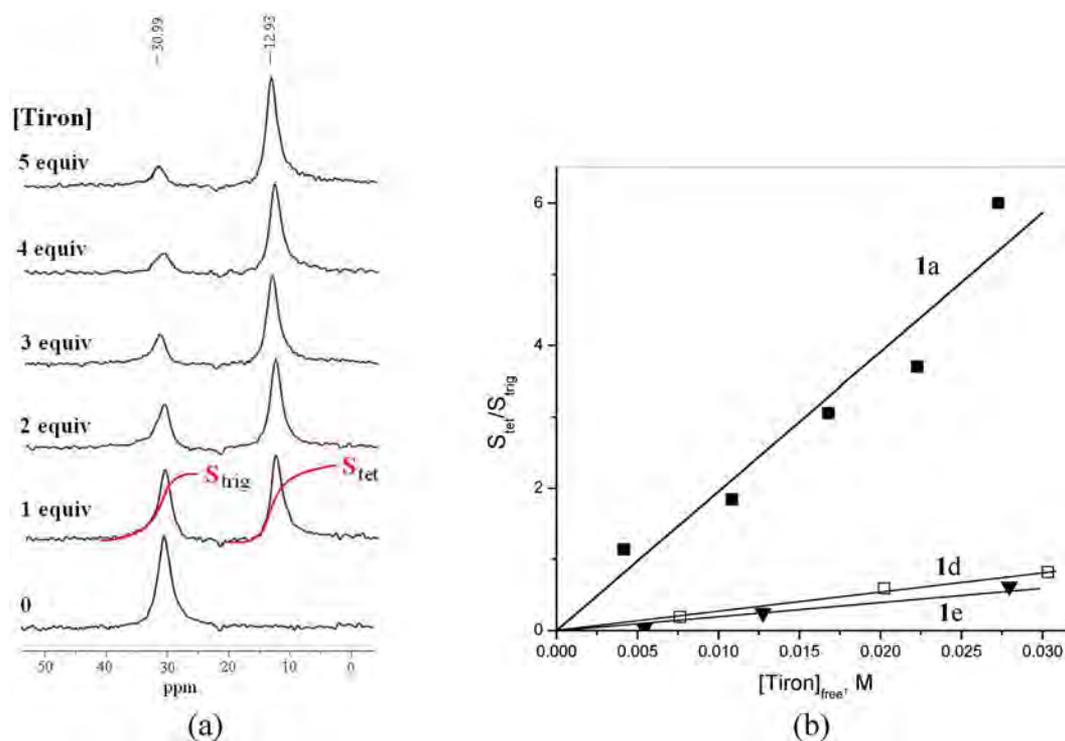


Figure 7. (a) ^{11}B NMR titration of 0.01 M **1a** by Tiron at pH 5.5. (b) Plots of $S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}}$ vs free Tiron concentration for **1a**, **1d**, and **1e**.

by this technique requiring high concentrations of components. A typical course of titration is illustrated in Figure 7 for **1a**. In the absence of Tiron a single signal at 31.0 ppm corresponding to neutral trigonal form of the acid is observed. Additions of Tiron induce appearance and subsequent growth of a new signal at 12.9 ppm corresponding to the tetrahedral boronate ester with simultaneous relative decrease in intensity of the peak at 31.0 ppm. For **1d** and **1e** the respective signals were observed at 31.8 and 31.6 ppm for free acids and 13.4 and 13.5 ppm for the esters. The ratio of the integrated areas of the signals ($S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}}$) equals the ratio of concentrations of the ester and free boronic acid which allows one to calculate the concentrations of all components at equilibrium from the mass balance equation and finally to calculate the K_{obs} in accordance with eq 14.

$$S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}} = [\text{ester}]/[\text{free boronic acid}] = K_{\text{obs}}[\text{free diol}] \quad (14)$$

The plot of $S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}}$ vs free Tiron concentration is shown in Figure 7b. It has a slope $K_{\text{obs}} = 190 \text{ M}^{-1}$, which is, however, 1 order of magnitude smaller than the value expected from potentiometric and spectrophotometric results for this pH (see Figure 6). Since NMR titrations were performed in D_2O and a solvent isotope effect could be involved the titrations of Tiron with all three acids were repeated spectrophotometrically in D_2O at the same experimental pH and buffer composition including total buffer concentration as in case of NMR titrations. The results are shown in Table 2 (K_{obs} for **1d** and **1e** were determined from the same NMR titration procedure as described above for **1a**, see Figure 7b). The spectrophotometrically determined constants are just ca. 10% smaller than those determined in H_2O , but in all cases the ^{11}B NMR titration gives much lower K_{obs} values with the largest difference observed for **1a**. Another difference in conditions is a higher range of concentrations of boronic acid and Tiron (10–50

Table 2. Observed Ester Formation Constants in D_2O at pH 5.5 Measured by Spectrophotometric and ^{11}B NMR Titrations

boronic acid	$K_{\text{obs}}, \text{M}^{-1}$	
	UV-vis	^{11}B NMR
1a	1600 ± 100	190 ± 20
1d	110 ± 8	27 ± 5
1e	70 ± 7	21 ± 6

mM) in ^{11}B NMR titrations than that in spectrophotometric titrations (0.1–5 mM), which may alter the activity coefficients and lead to a some degree of formation of higher aggregates,^{3a} but these effects hardly can be such significant taking into account equal total 0.05 M buffer concentration in both experiments.

A low K_{obs} value calculated from NMR data is a result of too small integration area of the signal belonging to the tetrahedral ester. For a similar reaction of phenylboronic acid **1d** with ARS it was suggested that this is due to the fact that the tetrahedral ester is a minor form of the product, which is in equilibrium with the trigonal major form nonresolved in ^{11}B spectrum with the free boronic acid (Scheme 2).⁶ The results in Figure 7 do not fit to this model, however. If the reaction product exists as a mixture of several isomers of the same stoichiometry, the K_{obs} measured by spectrophotometric titration is the sum of formation constants for all isomers, and it refers to conversion of starting material to the sum of concentrations of all isomers.¹⁶ With $K_{\text{obs}} = 1600 \text{ M}^{-1}$ for **1a** already addition of the first equivalent of Tiron (0.01 M) must convert the boronic acid into the mixture of esters nearly quantitatively, and the ratio $S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}}$ should be close to K_{iso} and remain constant on further increase in Tiron concentration, but it rises proportionally to added Tiron. In any case, since $S_{\text{tet}}/S_{\text{trig}}$ reaches 6 (Figure 7b) the fraction of the tetrahedral isomer must be

above 85% and the trigonal isomer must be a minor component, which cannot affect significantly the titration results. It seems difficult to propose any chemically sound reaction scheme which can explain anomalously low K_{obs} determined by ^{11}B NMR titration in this case. Integration of ^{11}B NMR signals was often employed for determination of stability constants for boronic acid diol ester and in several occasions the results were confirmed by determination of equilibrium constant by other experimental techniques.^{17–19} In all cases, the interaction was studied with carbohydrates or aliphatic diols and often involved boric or methylboronic rather than arylboronic acids, which give more narrow signals. Possible problem with an arylboronic acid and an aromatic diol may consist in quadrupolar interactions of ^{11}B nucleus and aromatic rings leading to strong signal broadening and a lack of proportionality between the signal areas and concentrations of respective species.

For further analysis of substituent effects in diol ester formation we looked for possible Brønsted-type correlation of the parameters of Hammett eq 11 with $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$. As one can see from Figure 8 both ρ and $\log\beta_{11-1}^{\text{H}}$ are linear functions of $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ in accordance with eqs 15 and 16.

$$\rho = 0.5 \pm 0.1 + (0.13 \pm 0.01)\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} \quad (15)$$

$$\log\beta_{11-1}^{\text{H}} = 1.7 \pm 0.6 - (0.67 \pm 0.07)\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} \quad (16)$$

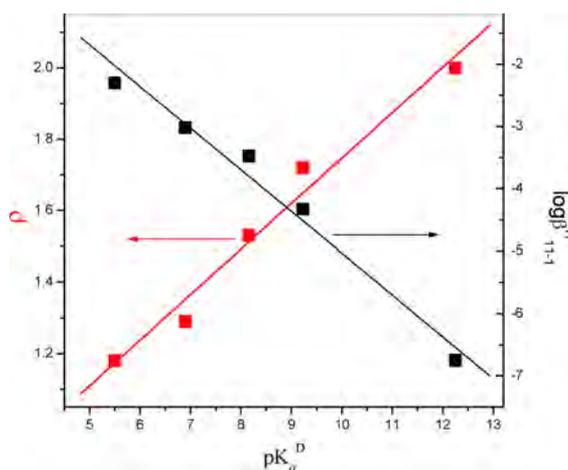


Figure 8. Correlation of parameters of the Hammett equation for ester formation constants with $\text{p}K_{\text{a}}$ of diol.

Obviously, the presence of glucose on the same correlation line with aromatic diols is fortuitous because it interacts with boronic acids in its minor furanose form²⁰ while the reported $\text{p}K_{\text{a}}$ refers to its major pyranose form. However, this fortunate situation allows one to elaborate a general equation, which predicts β_{11-1} for any pair of diol including glucose and boronic acid just from their $\text{p}K_{\text{a}}$ values. Combining eqs 10, 11 with 15, 16 and rounding parameters in accordance with their standard errors one obtains eq 17.

$$\log\beta_{11-1} = 3.9 - 0.25\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}} - 0.1\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} - 0.065\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}} \quad (17)$$

The inset in Figure 9 shows the correlation between logarithms of experimental ($\beta_{11-1}^{\text{exp}}$) and calculated ($\beta_{11-1}^{\text{calc}}$) stability constants for all boronic acids and diols listed in Table 1, which follows eq 18 with correlation coefficient 0.98554 and

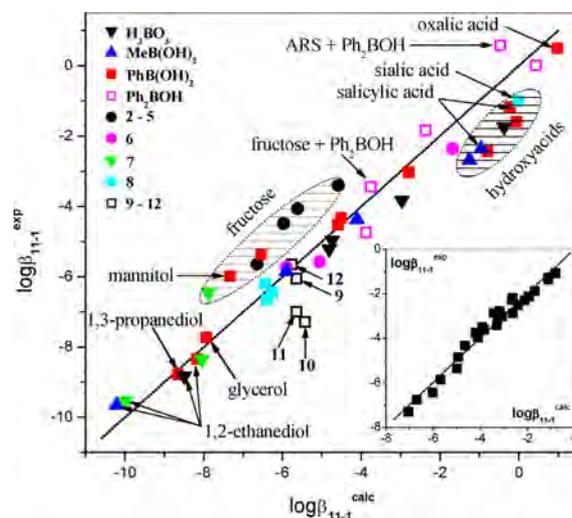


Figure 9. Correlation between logarithms of experimentally determined and calculated with eq 17 equilibrium constants of ester formation of different boronic acids and diols (Table 3 and Chart 2). Points for mannitol and glycerol are statistically corrected by -0.7 and -0.3 , respectively. Solid line corresponds to $\log\beta_{11-1}^{\text{exp}} = \log\beta_{11-1}^{\text{calc}}$. Inset shows the correlation of all data from Table 1.

standard deviation 0.3 roughly corresponding to the precision of eq 17 expected from standard errors in its parameters.

$$\log\beta_{11-1}^{\text{exp}} = (1.00 \pm 0.03)\log\beta_{11-1}^{\text{calc}} + (-0.05 \pm 0.1) \quad (18)$$

In order to see the limits of validity of eq 17 and its possible applications to analysis of experimental data we have compared calculated and experimental equilibrium constants for an additional set of 45 reactions between different types of boronic acids and diols (Table 3 and Chart 2) for which $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{B}}$ and $\text{p}K_{\text{a}}^{\text{D}}$ values are available together with β_{11-1} or K_{obs} at a given pH so that β_{11-1} can be calculated with eq 7.

The results are shown graphically in Figure 9, where the solid line corresponds to $\beta_{11-1}^{\text{exp}} = \beta_{11-1}^{\text{calc}}$. Evidently, the validity of eq 17 is not limited to substituted phenylboronic acids: data for benzoboroxole (6), methylboronic, diphenylboronic, and boric acids are also close to predicted values. The equation predicts satisfactorily stability constants in a very wide range of β_{11-1} from ca. 10^{-10} to 1 and for diols ranging in their acidity by ca. 14 orders of magnitude from 1,3-propanediol to oxalic acid.

Data for fructose esters with different boronic acids clearly show nearly constant systematic upward deviation by more than 1 order of magnitude (points encircled with an ellipse above the solid line in Figure 9), which can be attributed to a constant additional binding contribution from the third hydroxyl group of the sugar molecule. Notably, the point for fructose and Ph_2BOH to be incapable of binding the third hydroxyl group on the line corresponding to stability constants predicted for diols. Data for hydroxy acids (points encircled with an ellipse below the solid line in Figure 9) also show nearly constant, but downward, deviation probably due to steric effects.^{3b} Polyols like glycerol or mannitol form much more stable complexes than simple aliphatic diols (Table 2, lines 18–21). The eq 17 within the limits of its precision correctly predicts β_{11-1} for 1,2-ethanediol and 1,3-propanediol with smaller stability constant for the latter due to its larger $\text{p}K_{\text{a}}$. Experimental β_{11-1} for a polyol requires statistical correction before it can be compared with the calculated value valid for a

Table 3. Calculated with eq 17 and Experimentally Determined Equilibrium Constants for Ester Formation between Selected Boronic Acids and Diols^a

	boronic acid	diol	pK _a ^B	pK _a ^D	log β ₁₁₋₁		ref
					calcd	expt	
1	H ₃ BO ₃	1,2-ethanediol	8.98	14.8	-8.44	-8.83	18a
2	H ₃ BO ₃	4-methylcatechol	8.98	9.39	-4.77	-5.20	21
3	H ₃ BO ₃	catechol	8.98	9.27	-4.68	-4.96	
4	H ₃ BO ₃	4-nitrocatechol	8.98	6.69	-2.92	-3.82	
5	H ₃ BO ₃	tartaric acid	8.98	2.89	-0.32	-1.74	
6	MeB(OH) ₂	salicylic acid	10.4	2.83	-0.90	-2.35	18c
7	MeB(OH) ₂	mandelic acid	10.4	3.22	-1.20	-2.68	
8	MeB(OH) ₂	4-nitrocatechol	10.4	6.69	-4.05	-4.37	
9	MeB(OH) ₂	catechol	10.4	9.27	-5.85	-5.80	
10	MeB(OH) ₂	1,2-ethanediol	10.4	14.8	-10.15	-9.66	
11	PhB(OH) ₂	4-methylcatechol	8.72	9.39	-4.54	-4.52	21
12	PhB(OH) ₂	catechol	8.72	9.27	-4.46	-4.33	
13	PhB(OH) ₂	4-nitrocatechol	8.72	6.69	-2.74	-3.02	
14	PhB(OH) ₂	lactic acid	8.72	3.7	-0.75	-2.43	
15	PhB(OH) ₂	malonic acid	8.72	2.59	-0.007	-1.58	
16	PhB(OH) ₂	oxalic acid	8.72	1.04	1.03	0.51	
17	PhB(OH) ₂	salicylic acid	8.72	2.83	-0.17	-1.17	34
18	PhB(OH) ₂	mannitol	8.72	13.5	-7.28	-5.28	21
19	PhB(OH) ₂	1,2-ethanediol	8.72	14.8	-8.13	-8.34	18a
20	PhB(OH) ₂	1,3-propanediol	8.72	15.5	-8.61	-8.78	22
21	PhB(OH) ₂	glycerol	8.72	14.4	-7.88	-7.43	
22	PhB(OH) ₂	fructose	8.9	12.03	-6.49	-5.36	23
23	Ph ₂ BOH	ARS	6.2	5.5	-0.42	0.58	24
24	Ph ₂ BOH	catechol	6.2	9.27	-2.31	-1.83	
25	Ph ₂ BOH	lactic acid	6.2	3.7	0.49	0.015	
26	Ph ₂ BOH	fructose	6.2	12.03	-3.70	-3.44	
27	Ph ₂ BOH	glucose	6.2	12.28	-3.83	-4.74	
28	2	fructose	8.35	12.03	-5.92	-4.48	
29	3	fructose	8.0	12.03	-5.56	-4.06	
30	4	fructose	9.0	12.03	-6.59	-5.64	
31	5	fructose	7.0	12.03	-4.53	-3.40	
32	6	glucose	7.34 ^b	12.28	-5.00	-5.58	25
33	6	methyl α-D-glucopyranoside	7.34 ^b	13.71	-5.85	-5.73	
34	6	ARS ^c	7.7	6.0	-1.63	-2.36	26
35	7	glucose ^d	10.2	12.25	-7.83	-8.35	27
36	7	fructose ^d	10.2	12.03	-8.00	-6.45	
37	7	1,2-ethanediol ^d	10.2	14.8	-9.92	-9.54	
38	8	sialic acid	8.6	2.6	0.037	-1.00	19
39	8	glucose	8.6	12.28	-6.34	-6.67	
40	8	mannose	8.6	12.08	-6.21	-6.44	
41	8	galactose	8.6	12.35	-6.39	-6.20	
42	9	glucose	7.9	12.28	-5.59	-6.05	28
43	10	glucose	7.7	12.25	-5.36	-7.29	
44	11	glucose	7.9	12.25	-5.59	-6.99	
45	12	glucose	8.0	12.25	-5.71	-5.65	29

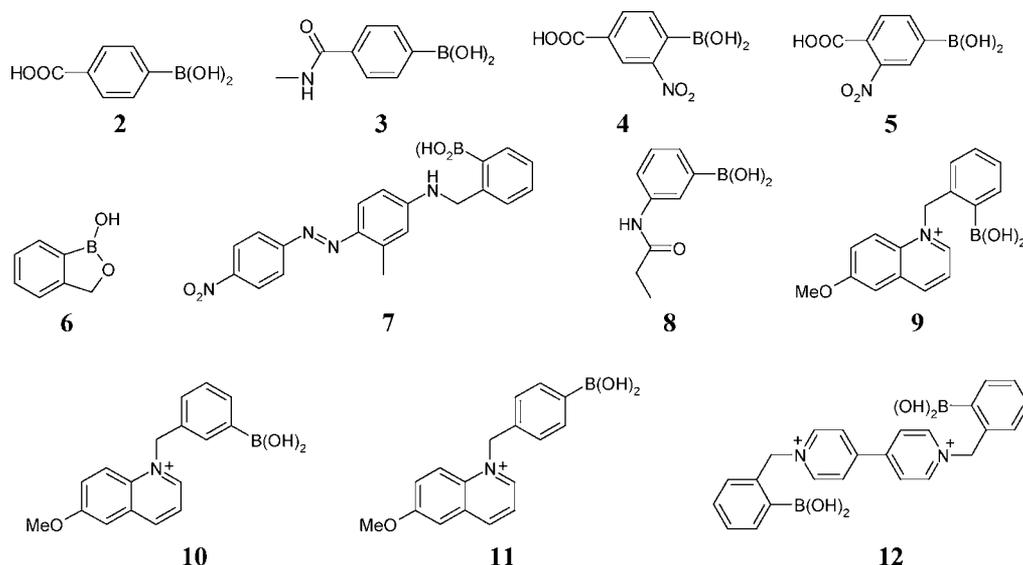
^apK_a^B are taken from cited references; pK_a^D are taken either from cited references or from refs 30–33. β₁₁₋₁ given in entries 1–18 are reported values, and in other cases they are calculated from K_{obs} reported at a given pH by using eq 7 or from K_{ret} with eq 5. ^bFrom ref 8. ^c4% v/v DMSO. ^dMeOH–H₂O (1:2, w/w).

diol of the respective acidity. Such corrected values are shown in Figure 9 from which one observes good agreement for glycerol. The corrected point for mannitol appears together with points for fructose, which reflects the possibility of formation of the third ester bond with this long chain polyol in a manner analogous to fructose.

It was proposed that boronic acids possessing positively charged substituents in the *ortho*-position to boronate group such as 9 and 12 form exceptionally stable diol esters due to

electrostatic interaction with the boronate group.^{28,29} As it is evident from Figure 9, stability constants for these compounds are just in line with expected from their acidity, but isomeric compounds 10 and 11 for some unclear reasons have lower affinities than expected and this makes an impression of an extra-stability of *ortho*-isomers. The above examples illustrate the utility of eq 17 for analysis of possible factors contributing to stability of boronic acid esters above what is expected simply from acid–base properties of boronic acid and diol.

Chart 2



It follows from eq 17 that higher acidity (lower pK_a) of both boronic acid and diol is favorable for ester stability expressed in terms of β_{11-1} in accordance with previous qualitative observations.³⁴ This trend seems logical because in the reaction 3 ester formation is accompanied by deprotonation favored by higher acidity of both components. Obviously, considering ester stability in terms of K_{tet} or K'_{tet} one will find different trends. These constants under certain conditions represent the observed stability constants (see above discussion of the Figure 2), but generally K_{obs} is a complex pH-dependent parameter, which in principle can be predicted combining eqs 7 and 17. A simpler and still useful picture can be obtained for maximum values of K_{obs} , which can be reached experimentally at the optimum pH for a given pair of boronic acid and diol. An estimate of $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ can be done with eq 19 obtained combining eqs 9 and 17.

$$\log K_{\text{obs}}^{\text{max}} = 3.9 - 0.25pK_a^{\text{B}} + 0.9pK_a^{\text{D}} - 0.065pK_a^{\text{B}}pK_a^{\text{D}} - 2\log(1 + (K_a^{\text{B}}/K_a^{\text{D}})^{0.5}) \quad (19)$$

The results predicted by eq 19 are shown graphically in Figure 10, which covers the range of pK_a from 5 to 11 for boronic acids and from 2 to 15 for diols. It follows from this analysis that the largest possible K_{obs} is about 10^5 M^{-1} , and it can be reached by combination of boronic acid and diol each with pK_a about 5 at pH 5 in accordance with eq 8. Among experimentally studied systems the closest one to this is the reaction between $\text{Ph}_2\text{B}(\text{OH})$ and ARS (Table 3, line 23) for which $\log K_{\text{obs}} = 5.2$ at pH 7.0 was reported.²⁴ This is even higher than predicted $\log K_{\text{obs}} = 4.9$ from eq 19, which would be observed at pH 5.85. The respective point on the plot in Figure 9 indeed shows a significant positive deviation for β_{11-1} probably resulting from hydrophobic or stacking interactions of one of phenyl rings of the diphenylboronic acid with ARS.

As it follows from Figure 10 for each boronic acid there is an optimum diol with pK_a^{D} close to, but not exactly matching, pK_a^{B} of the given acid. For example, the largest possible $\log K_{\text{obs}}^{\text{max}} = 4.0$ for phenylboronic acid ($pK_a^{\text{B}} = 8.9$) would be observed with a diol possessing $pK_a^{\text{D}} = 8.3$ at pH 8.6 (cf. $\log K_{\text{obs}} = 4.38$ for **1d** and Tiron at pH 8.5, Figure 6 and Table 1S,

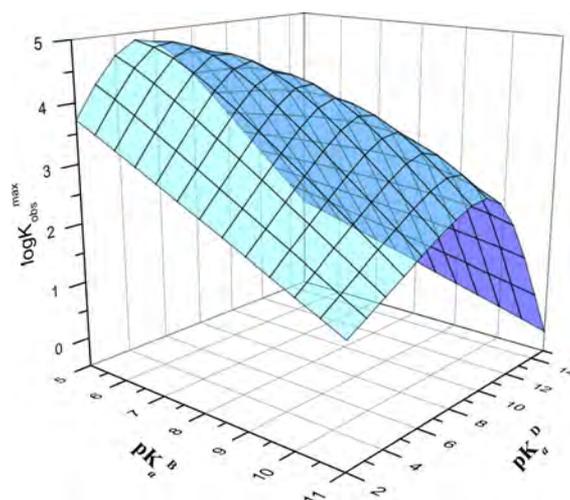


Figure 10. Logarithms of $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ values corresponding to the optimum pH for different pairs of boronic acids and diols in accordance with eq 19.

Supporting Information). On the other hand, for a given diol $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ increases monotonically on decrease in pK_a^{B} for diols with pK_a^{D} below 8 and is rather insensitive to pK_a^{B} for less acidic diols. One should take into account of course that with stronger boronic acids $K_{\text{obs}}^{\text{max}}$ is reached at lower pH.

CONCLUSIONS

Hammett- and Brønsted-type correlation relationships obtained in this work for stability constants of boronic acid diol esters allowed us to propose an equation which made it possible to calculate the stability constants from pK_a values of boronic acids and diols with an uncertainty of ± 0.3 logarithmic units in a range of stability constants covering 11 orders of magnitude. Calculated in this way, stability constants take into account only acid–base properties of both components mostly determined by electronic effects, and their comparison with experimentally measured values allows one to see more clearly possible contributions from other factors, such as additional bond formation, charge, or steric effects.

Observed pH-dependent stability constants measured by UV–vis and fluorometric titrations agree well with those predicted on basis of potentiometric titrations but preferably should be analyzed by using independently determined pK_a as fixed parameters. The spectral changes induced in a chromogenic diol by complexation with arylboronic acids resemble those induced by deprotonation. Changes in UV–vis spectra are rather insensitive to the substituent in the arylboronic acid, but the fluorescence can either increase or decrease on complexation depending on the type of the substituent. ^{11}B NMR titrations may give undervalued observed stability constants for interactions between arylboronic acids and catechols, which not always can be interpreted in terms of Scheme 2 developed for interactions of arylboronic acids with ARS.^{6,26}

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Methods. Commercially available substituted phenylboronic acids, catechols, glucose, components of buffer solutions (CHES, MOPS, MES), and D_2O (99.9% D) were used as supplied. All titration experiments were performed at $25 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ and ionic strength 0.05 M created either by buffer or NaCl.

Potentiometry. Potentiometric titrations were performed in a 25-mL thermostated cell kept under nitrogen at $25 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ with 0.05 M NaCl as background electrolyte. Depending on solubility, 2–5 mM solutions of boronic acids in the presence of 2–10 mM catechols or 0.1 M glucose were employed. The pK_a values of all components were determined independently by potentiometric titrations in the same conditions and were used as fixed parameters in the fitting of results for the boronics acid–diol mixtures. Experimental details and procedure for the electrode calibration were the same as in ref 35. The program Hyperquad 2003³⁶ was used to calculate all equilibrium constants.

Spectrophotometric and Fluorometric Titrations. To a 0.1 mM solution of Tiron (0.03 mM for fluorometric titrations) in an appropriate 0.05 M buffer (MES, MOPS, or CHES in order of increasing pH from 5.5 to 9.5) portions of concentrated solution of boronic acid in the same buffer were added, and the mixture was incubated for 3 min after each addition before recording the spectrum. In an independent experiment, it was established that the system equilibrates completely during this incubation period. The observed equilibrium constant of the ester formation (K_{obs}) was calculated from the absorbance or fluorescence intensity (A) vs concentration of boronic acid (B) profiles at several wavelengths by nonlinear least-squares fitting to the eq 20, and the results were averaged. In eq 20, subscript T stands for total concentration, A_0 is the initial absorbance or fluorescence intensity of Tiron (D) measured in the absence of B, and $\Delta\varepsilon$ is the difference in molar absorptivities or respective proportionality coefficients for fluorescence between the ester and free D.

$$A = A_0 + 0.5\Delta\varepsilon([\text{D}]_{\text{T}} + [\text{B}]_{\text{T}} + 1/K_{\text{obs}} - (([\text{D}]_{\text{T}} + [\text{B}]_{\text{T}} + 1/K_{\text{obs}})^2 - 4[\text{D}]_{\text{T}}[\text{B}]_{\text{T}})^{0.5}) \quad (20)$$

^{11}B NMR titrations. ^{11}B NMR spectra were recorded in D_2O at 128.3 MHz with $\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{BF}_3$ in CDCl_3 as the external standard using a $4.9 \mu\text{s}$ 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. To 0.01 M solution of a boronic acid in 0.05 M MES buffer in D_2O at pH 5.5 (uncorrected pH reading) portions of concentrated Tiron solution prepared in the same buffer and adjusted to the same pH were added, and the spectra were recorded as described above.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

[UV–vis absorption and fluorescence spectra of Tiron at variable pH; UV–vis absorption spectra of Tiron esters of substituted phenylboronic acids; spectroscopically determined observed stability constants of Tiron esters of substituted phenylboronic acids at variable pH] This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: anatoli@unam.mx

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support by CONACyT (project 101699) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- (1) (a) James, T. D.; Phillips, M. D.; Shinkai, S. *Boronic Acids in Saccharide Recognition*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2006. (b) Yang, X.; Cheng, Y.; Jin, S.; Wang, B. In *Artificial Receptors for Chemical Sensors*; Mirsky, V. M., Yatsimirsky, A. K., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2011; p 169. (c) Mader, H. S.; Wolfbeis, O. S. *Microchim. Acta* **2008**, *162*, 1. (d) Yan, J.; Fan, H.; Wang, B. *Med. Res. Rev.* **2005**, *25*, 490. (e) Nishiyabu, R.; Kubo, Y.; James, T. D.; Fossey, J. S. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1106. (f) Hansen, J. S.; Christensen, J. B.; Petersen, J. F.; Hoeg-Jensen, T.; Norrild, J. C. *Sens. Actuators B* **2012**, *161*, 45. (g) Wang, W.; Gao, X.; Wang, B. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 1285.
- (2) (a) Yan, J.; Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11205. (b) Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291.
- (3) (a) Bosch, L. I.; Fyles, T. M.; James, T. D. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11175. (b) Bromba, C.; Carrie, P.; Chui, J. K.W.; Fyles, T. M. *Supramol. Chem.* **2009**, *21*, 81.
- (4) (a) Ni, W.; Kaur, G.; Springsteen, G.; Wang, B.; Franzen, S. *Bioorg. Chem.* **2004**, *32*, 571. (b) Franzen, S.; Ni, W.; Wang, B. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 12942.
- (5) (a) Collins, B. E.; Sorey, S.; Hargrove, A. E.; Shabbir, S. H.; Lynch, V. M.; Anslyn, E. V. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4055. (b) Zhu, L.; Shabbir, S. H.; Gray, M.; Lynch, V. M.; Sorey, S.; Anslyn, E. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1222.
- (6) Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2098.
- (7) (a) Ni, N.; Laughlin, S.; Wang, Y.; Feng, Y.; Zheng, Y.; Wang, B. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2957. (b) Collins, B. E.; Metola, P.; Anslyn, E. V. *Supramol. Chem.* **2013**, *25*, 79.
- (8) Tomsho, J. W.; Pal, A.; Hall, D. G.; Benkovic, S. J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 48.
- (9) Kajimoto, O.; Saeki, T.; Nagaoka, Y.; Fueno, T. *J. Phys. Chem.* **1977**, *81*, 1712 and references therein.
- (10) Hall, D. G. In *Boronic Acids: Preparation and Application in Organic Synthesis and Medicine*; Hall, D. G., Ed; Wiley-VCH: Weinheim, 2005; p 1 and references therein.
- (11) The formation of neutral trigonal ester was always included in the reaction scheme for fitting of potentiometric results, but the respective equilibrium constants were always rejected during iterations.
- (12) Mulla, H. R.; Agard, N. J.; Basu, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 25.
- (13) Valeur, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Application*; Wiley-VCH: Weinheim, 2001.
- (14) Ghasemi, J.; Lotfi, S.; Safaeian, M.; Niazi, A.; Ardakani, M. M.; Noroozi, M. *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 1530.
- (15) Kubo, Y.; Ishida, T.; Kobayashia, A.; James, T. D. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 2889.

- (16) Connors, K. A. *Binding Constants, The Measurement of Molecular Complex Stability*; John Wiley & Sons: New York, 1987; p 86.
- (17) Van Duin, M.; Peters, J. A.; Kieboom, A. P. G.; Van Bekkum, H. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2901.
- (18) (a) Pizer, R. D.; Ricatto, P. J.; Tihal, C. A. *Polyhedron* **1993**, *12*, 2137. (b) Pizer, R.; Ricatto, P. J. *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 2402. (c) Pizer, R.; Tihal, C. *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3243.
- (19) Otsuka, H.; Uchimura, E.; Koshino, H.; Okano, T.; Kataoka, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3493.
- (20) Norrild, J. C.; Eggert, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1479.
- (21) Pizer, R.; Babcock, L. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1677.
- (22) Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769.
- (23) Soundararajan, S.; Badawi, M.; Kohlrust, C. M.; Hagerman, J. H. *Anal. Biochem.* **1989**, *178*, 125.
- (24) Chudzinski, M. G.; Chi, Y.; Taylor, M. S. *Aust. J. Chem.* **2011**, *64*, 1466.
- (25) Bérubé, M.; Dowlut, M.; Hall, D. G. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6471.
- (26) Tomsho, J. W.; Benkovic, S. J. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 11200.
- (27) Ward, C. J.; Patel, P.; Ashtona, P. R.; James, T. D. *Chem. Commun.* **2000**, 229.
- (28) Badugu, R.; Lakowicz, J. R.; Geddes, C. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 113.
- (29) Gamsey, S.; Baxter, N. A.; Sharrett, Z.; Cordes, D. B.; Olmstead, M. M.; Wessling, R. A.; Singaram, B. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6321.
- (30) Serjaint, E. P.; Dempsey, B. *Ionization Constants of Organic Acids in Aqueous Solution*; Pergamon: Oxford, 1979.
- (31) Smith, R. M.; Martell, A. E. *Critical Stability Constants*; Plenum Press: New York, 1976; Vols. 2–4.
- (32) Ballinger, P.; Long, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 795.
- (33) Budavari, S., Ed., *The Merck Index*, 12th ed.; Merck & Co.: Whitehouse Station, NJ, 1996.
- (34) Babcock, L.; Pizer, R. *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 56.
- (35) Gomez-Tagle, P.; Yatsimirsky, A. K. *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 3786.
- (36) (a) Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Talanta* **1996**, *43*, 1739. (b) Alderlghi, L.; Gans, P.; Ienco, A.; Peters, D.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 311.

9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] (a) T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 8982–8987; (b) S. Arimori, L. I. Bosch, C. J. Ward, T. D. James, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 4553–4555; (c) T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai, *Boronic Acids in Saccharide Recognition*, Royal Society of Chemistry: Cambridge, **2006**.
- [2] (a) P. R. Westmark, S. J. Gardiner, B. D. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 11093–11100; (b) S. J. Gardiner, B. D. Smith, P. J. Duggan, M. J. Karpa, G. J. Griffin, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2857–2864; (c) S. P. Draffin, P. J. Duggan, S. A. M. Duggan, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 917–920.
- [3] (a) P. R. Westmark, L. S. Valencia, B. D. Smith, *J. Chromatogr. A*, **1994**, *664*, 123–128; (b) X. Liu, J. L. Hubbard, W. H. Scouten, *J. Organomet. Chem.*, **1995**, *493*, 91–94.
- [4] (a) K. Severin, *Dalton Trans.*, **2009**, 5254–5264; (b) B. Icli, N. Christinat, J. Tonnemann, C. Schuttler, R. Scopelliti, K. Severin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 3154–3155; (c) R. Nishiyabu, Y. Kubo, T. D. James, J. S. Fossey, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 1124–1150.
- [5] D. G. Hall, en *Boronic Acids: Preparation and Application in Organic Synthesis and Medicine*, D. G. Hall (Ed.), Wiley-VCH: Weinheim, **2005**, pp 1–99.
- [6] J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 769–774.
- [7] (a) G. E. K. Branch, D. L. Yabroff, B. J. Bettman, *Am. Chem. Soc.*, **1934**, *56*, 937–941; (b) S. Soundararajan, M. Badawi, et. al., *Anal. Biochem.*, **1989**, *178*, 125–134.
- [8] H. R. Mulla, N. J. Agard, A. Basu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 25–27.
- [9] J. A. Settepani, J. B. Stokes, A. B. Borkovek, *J. Med. Chem.*, 1970, *13*, 128–131.
- [10] M. J. S. Dewar, en *Progress in Boron Chemistry*, H. Steinberg, A. L. McCloskey (Eds), Pergamon, New York, **1964**, Volume 1, pp 235–263.
- [11] (a) H. R. Snyder, J. A. Kuck, J. R. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, *60*, 105–111; (b) J. R. Johnson, M. G. Van Campen, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, *60*, 121–124.
- [12] J. R. Johnson, M. G. Van Campen, Jr., O. Grummit, *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, *60*, 111–115.

-
- [13] A. Yuchi, J. Sakurai, A. Tatebe, H. Hattori, H. Wada, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, *387*, 189–195.
- [14] (a) M. F. Lappert, *Chem. Rev.*, **1956**, *56*, 959–1064; (b) M. I. Wolfrom, J. Solms, *J. Org. Chem.*, **1956**, *21*, 815–816.
- [15] H. G. Kuivila, A. H. Keough, E. J. Soboczanski, *J. Org. Chem.*, **1954**, *8*, 780–783.
- [16] J. M. Sugihara, C. M. Bowman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 2443–2446.
- [17] (a) G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 5291–5300. (b) J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter, B. Wang, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11205–11209.
- [18] R. Pizer, C. Tihal, *Inorg. Chem.*, **1992**, *31*, 3243–3247.
- [19] M. Sana, G. Leroy, C. Wilante, *Organometallics* **1991**, *10*, 264–270.
- [20] O. C. Ho, R. Soundararajan, et. al, *Organometallics* **1995**, *14*, 2855–2860.
- [21] (a) S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.*, **1977**, *55*, 3071–3075; (b) M. K. Cyranski, A. Jezierska, P. Klimentowska, J. Panek, A. Sporzynski, *J. Phys. Org. Chem.*, **2008**, *21* 472–482.
- [22] (a) R. Haruta, M. Ishiguro, N. Ikeda, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 7667–7669; (b) W. R. Roush, A. G. Walts, L. K. Hoong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 8186–8190.
- [23] R. A. Bowie, O. C. Musgrave, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1963**, 3945–3949.
- [24] (a) N. Farfán, H. Höpfl, V. Barba, et. al., *J. Organomet. Chem.*, **1999**, *581*, 70–81; (b) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *Chem. Commun.*, **2004**, 1158–1159; (c) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 2192–2200.
- [25] (a) N. Nishimura, K. Kobayashi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2008**, *47*, 6255–6258; (b) M. Hutin, G. Bernardinelli, Jonathan R. Nitschke, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 4585–4593; (c) N. Christinat, R. Scopelliti, K. Severin, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2008**, *47*, 1848–852; (d) N. Nishimura, K. Yoza, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 777–790.
- [26] A. P. Cote, A. I. Benin, N. W. Ockwig, et. al., *Science*, **2005**, *310*, 1166–1170.
- [27] (a) M. Mikami, S. Shinkai, *Chem. Lett.*, **1995**, 603–604; (b) B. M. Rambo, J. J. Lavigne, *Chem. Mater.*, **2007**, *19*, 3732–3739.

-
- [28] (a) A. Suzuki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 6723–6737; (b) E. Altenhofer, M. Harmata, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 3–5.
- [29] S. Soundararajan, M. Badawi, C. M. Kohlrust, J. H. Hagerman, *Anal. Biochem.*, **1989**, *178*, 125.
- [30] L. I. Bosch, T. M. Fyles, and T. D. James, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11175–11190.
- [31] G. Springsteen, B. Wang, *Chem. Commun*, **2001**, 1608–1609.
- [32] D. Palit, H. Pal, T. Mukherjee, J. Mittal, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1990**, *86*, 3861–3869.
- [33] W. G. Henderson, M. J. How, G. R. Kennedy, E. F. Mooney, *Carbohydr. Res.*, **1973**, *28*, 1–12.
- [34] C. D. Johnson, *The Hammett Equation*, Cambridge University Press, Australia, **1973**, pp 1–11.
- [35] O. Kajimoto, T. Saekl, Y. Nagaoka, T. Fueno, *J. Phys. Chem.*, **1977**, *81*, 1712–1716.
- [36] J. W. Tomsho, A. Pal, D. G. Hall, S. Benkovic, *J. ACS Med. Chem. Lett.*, **2012**, *3*, 48–52.
- [37] (a) X. Wu, Z. Li, X. Chen, J. S. Fossey, et. al. *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 8032–8048; (b) J. S. Fossey, T. D. James, *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, **2012**, *3*, 1345–1379; (c) X. Yang, Y. Cheng, et. al. in *Artificial Receptors for Chemical Sensors*, V. Mirsky, A. Yatsimirsky (Eds.), Wiley-VCH: Weinheim, **2011**, pp 169–189; (d) T. D. James, M. D. Phillips, S. Shinkai, *Boronic Acids in Saccharide Recognition*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006. (e) H. S. Mader, O. S. Wolfbeis, *Microchim Acta*, **2008**, *162*, 1–34; (f) J. S. Hansen, J. B. Christensen, J. F. Petersen, T. Hoeg-Jensen, J. C. Norrild, *Sensors and Actuators B*, **2012**, *161*, 45–79; (g) X. Wu, Z. Li, X.-X. Chen, J. S. Fossey, T. D. James, Y.-B. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 8032–8048.
- [38] M. Bielecki, H. Eggert, J. C. Norrild, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1999**, 449–455.
- [39] H. Eggert, J. Frederiksen, C. Morin, J. C. Norrild, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 3843–3852.
- [40] M. Takeuchi, M. Yamamoto, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1997**, 1731–1732.

-
- [41] K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 3727–3730.
- [42] M. K. Smith, N. E. Powers-Riggs, B. H. Northrop, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 6167–6169.
- [43] H. Takahagi, N. Iwasawa, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 13680 – 13688.
- [44] S. Ito, K. Ono, N. Iwasawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 13962–13965.
- [45] (a) P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta*, **1996**, *43*, 1739–1753; (b) L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.*, **1999**, *184*, 311–318.
- [46] A. K. Covington, M. Paabo, R. A. Robinson, R. G. Bates, *Anal. Chem.*, **1968**, *40*, 700–7006.
- [47] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165-195.
- [48] J. Ghasemi, S. Lotfi, M. Safaeian, A. Niazi, M. Ardakani, M. Noroozi, *J. Chem. Eng. Data*, **2006**, *51*, 1530-1535.
- [49] Y. Kubo, T. Ishida, A. Kobayashia, T. D. James, *J. Mater. Chem.*, **2005**, *15*, 2889–2895.
- [50] J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 2098–2106.
- [51] (a) M. Van Duin, J. A. Peters, A. P. Kieboom, H. Van Bekkum, *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 2901–2911; (b) H. Otsuka, E. Uchimura, H. Koshino, T. Okano, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3493-3502.
- [52] J. C. Norrild, H. Eggert, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 1479–1484.
- [53] R. D. Pizer, P. J. Ricatto, C. A. Tihal, *Polyhedron*, **1993**, *12*, 2137-2142.
- [54] R. Pizer, L. Babcock, *Inorg. Chem.*, **1977**, *16*, 1677-1681.
- [55] L. Babcock, R. Pizer, *Inorg. Chem.*, **1980**, *19*, 56-61.
- [56] M. G. Chudzinski, Y. Chi, M. S. Taylor, *Aust. J. Chem.* **2011**, *64*, 1466–1469.
- [57] M. Bérubé, M. Dowlut, D. G. Hall, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6471–6479.
- [58] J. W. Tomsho, S. J. Benkovic, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 11200–11209.
- [59] C. J. Ward, P. Patel, P. R. Ashtona, T. D. James, *Chem. Commun.*, 2000, 229–230.

-
- [60] H. Otsuka, E. Uchimura, H. Koshino, T. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3493.
- [61] R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Bioorg. Med. Chem.* **13** (2005) 113–119
- [62] S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, D. B. Cordes, M. M. Olmstead, R. A. Wessling, B. Singaram, *Tetrahedron*, **62** (2006) 6321–6331.
- [63] (a) E. P. Serjaint, B. Dempsey, *Ionization Constants of Organic Acids in Aqueous Solution*, Pergamon, Oxford, **1979**; (b) Smith, R. M.; Martell, A. E. *Critical Stability Constants*; Plenum Press: New York, **1976**; Vols. 2-4; (c) Ballinger, P.; Long, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 795; (d) Budavari, S., Ed., *The Merck Index, Twelfth Edition*, Merck&Co., Whitehouse Station, New York, **1996**.
- [64] (a) S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, et. al. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 6321–6331; (b) R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 113–119.
- [65] M. G. Chudzinski, Y. Chi, M. S. Taylor, *Aust. J. Chem.*, **2011**, *64*, 1466–1469.
- [66] M. Hasegawa, M. Terauchi, Y. Kikuchi, A. Nakao, J. Okubo, T. Yoshinaga, H. Hiratsuka, M. Kobayashi, T. Hoshi, *Monatsh. Chem.*, **2003**, *134*, 811–821.
- [67] (a) B. F. Abrahams, D. J. Price, R. Robson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 806–810; (b) B. F. Abrahams, B. A. Boughton, H. Choy, O. Clarke, M. J. Grannas, D. J. Price, R. Robson, *Inorg. Chem.*, **2008**, *47*, 9797–9803.