

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

"ESTUDIO DEL EFECTO DE LA FORMACIÓN DE UN ENLACE DE COORDINACIÓN EN EL RECONOCIMIENTO MOLECULAR DE ENROFLOXACINA CON POLÍMEROS ESTAMPADOS"

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE: DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

Q.A. J JESÚS RECILLAS MOTA

TUTOR: Dr. JESÚS GRACIA MORA. FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dr. Jesús Valdés Martínez Instituto de Química, UNAM

Dra. María de los Ángeles Paz Sandoval. Programa de Maestría

y Doctorado en Ciencias Químicas

Dr. Eduardo Vivaldo Lima. Facultad de Química, UNAM

Dr. Emilio Bucio Carrillo. Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM

MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE 2014



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente Vocal Vocal Vocal Secretario Dr. Anatoly Yatsimirsky Dr. Joaquín Palacios Alquisira Dra. Sofía Guillermina Burillo Amezcua Dra. María de los Ángeles Paz Sandoval Dra. Patricia Guadarrama Acosta

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO

Laboratorio 100 de la División de Estudios de Posgrado, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, UNAM.

Instituto Universitario de Catálisis Homogénea de la Universidad de Zaragoza, España.

TUTOR:

Dr. Jesús Gracia Mora

SUSTENTANTE:

Q.A. J Jesús Recillas Mota

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Química de la UNAM.

Al Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca número 173224.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por la beca número 08BTD0007.

Se agradece el apoyo financiero a través de los siguientes proyectos: PAPIIT-IN112805 y PASPA UNAM.

Al Doctor Jesús Gracia Mora por la dirección, análisis y evaluación de este trabajo de tesis.

A la Doctora Josefa Bernad Bernad, y a los Doctores Rafael Moreno Esparza y Armando Marín Becerra, por su apoyo durante el desarrollo de esta tesis.

A la Doctora. María de los Ángeles Paz Sandoval y a los Doctores Jesús Valdés Martínez, Eduardo Vivaldo Lima y Emilio Bucio Carrillo; miembros de mi comité tutelar, por todas sus aportaciones efectuadas a este trabajo doctoral.

Al Doctor José Antonio Mayoral Murillo por la oportunidad de realizar la estancia de doctorado en su grupo de trabajo.

A los H. Miembros del Jurado evaluador de la presente tesis por sus comentarios, observaciones y grandes aportaciones.

A la Q. Marisela Gutiérrez Franco de la USAI-FQ-UNAM por la adquisición de los espectros de FTIR.

A la M en C Nallely López Balbiaux y al M en I Víctor Hugo Lemus de la USAI-FQ-UNAM por efectuar los análisis elementales.

A la Q. Georgina Duarte Lisci y a la QFB. Margarita Guzmán Villanueva de la USAI-FQ-UNAM por efectuar los análisis de masas.

Al Dr. Marcos Flores Álamo de la USAI-FQ-UNAM por efectuar el análisis de difracción de rayos X. del compuesto $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O)]NO_3 \cdot (H_2O)_2$.

Al Dr. Rubén Alfredo Toscano y al M en C Simón Hernandez Ortega del Instituto de Química de la UNAM por efectuar el análisis de difracción de rayos X del compuesto $[Zn_3(Azabox)_{51}NO_3]$.

A los M en C. Atilano Gutiérrez Carillo y M. Antonio Vera Ramírez de la UAM-Iztapalapa por efectuar los análisis de RMN.

A la Dra. Minerva Monroy Barreto de la USAI-FQ-UNAM por la ayuda en la discusión de los resultados de RMN.

A Dios

A mis Padres

A Minerva

A Maricarmen

A mis amigos y compañeros.

ARTÍCULOS

- Recillas-Mota, J.J., Flores-Álamo, M., Moreno-Esparza, R., Gracia-Mora, J. A cooper (II) complex of 1,10-phenanthroline and enrofloxacin. Acta Crystallographica Section E, 2007. 63(12): p. i192–i204, m2871–m3207, o4501–o4937.
- Recillas Mota, J. J.; Bernad Bernad, M. J.; Mayoral-Murillo, J. A., Gracia Mora J. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers with metallic zinc center for enrofloxacin recognition, REACTIVE & FUNCTIONAL POLYMERS, 2013,73, (8), 1078-1085.

PRESENTACIÓN EN CONGRESOS

Molecular recognition of enrofloxacin with imprinted polymer metal complexes. 36th International Conference on Coordination Chemistry", 18-23 de Julio 2004, Mérida Yucatán.

Effect of coordinate bond in molecular recognition of enrofloxacin with imprinted polymers. IUPAC 3rd International Symposium on Novel Materials and Synthesis and 17th International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers, 17-21 de Octubre 2007, Shangai, China.

Synthesis of molecular imprinted polymer design with Zn²⁺ metallic complex and enrofloxacin. MIP 2010, The 6th International Conference on Molecular Imprinting, 9 -12 de agosto 2010, Nueva Orleans, EUA.

ÍNDICE

LISTA DE F	FIGURASXV
LISTA DE 1	TABLASXVIII
1.	RESUMEN
2.	INTRODUCCIÓN
3.	OBJETIVOS
3.1.	OBJETIVO GENERAL
3.2.	OBJETIVOS PARTICULARES
4.	ANTECEDENTES
41 PC	DI ÍMEROS ESTAMPADOS 27
411	POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA COVALENTE 29
412	POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA NO COVALENTE 30
4.1.3	POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA SEMI COVALENTE 31
414	POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE CON CENTRO
METÁLIC	20 32
4.2. FA	ACTORES DE SÍNTESIS POLÍMEROS ESTAMPADOS
4.2.1.	POLIMERIZACIÓN VÍA RADICALES LIBRES
4.2.1.1.	EFECTOS DE SUSTITUYENTES
4.2.1.2.	PROPAGACIÓN
4.2.2.	COPOLIMERIZACIÓN
4.2.3.	FORMATOS DE POLIMERIZACIÓN
4.2.3.1	. POLIMERIZACIÓN EN LOTE
4.2.3.2	POLIMERIZACIÓN POR PRECIPITACIÓN
4.2.4.	MONÓMEROS FUNCIONALES
4.2.4.1	. MONÓMEROS FUNCIONALES A TRAVÉS DE INTERACCIÓNES
COVAL	LENTES
4.2.4.2	MONÓMEROS FUNCIONALES A TRAVÉS DE INTERACCIÓNES NO
COVAL	LENTES
4.2.5.	ENTRECRUZADORES
4.2.6.	DISOLVENTE PORÓGENO

4.2.7.	INICIADOR
4.2.8.	EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE SÍNTESIS DE POLÍMEROS
ESTA	MPADOS MOLECULARMENTE
4.2.9.	EFECTO DEL TIEMPO DE POLIMERIZACIÓN SOBRE LA SINTESIS DE
POLÍN	IEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE
4.3. Fl	LUOROQUINOLONAS
4.3.1.	ASPECTOS GENERALES
4.3.2.	FLUOROQUINOLONAS EN EL MEDIO AMBIENTE
4.3.3.	PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS
4.3.3.1.	CARÁCTER ÁCIDO-BASE
4.3.3.2.	QUÍMICA DE COORDINACIÓN DE LAS QUINOLONAS61
4.3.3.2.1	. COMPLEJOS METÁLICOS DE QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS 61
4.3.3.2.2	2. COMPLEJOS MIXTOS DE QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS 65
4.4. P	OLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE PARA
FLUORO	DQUINOLONAS
5.	PARTE EXPERIMENTAL
5.1.	MATERIALES
5.2.	EQUIPOS
5.3.	SÍNTESIS DE LOS LIGANTES
5.3.1. ESTIRENC	SINTESIS DEL LIGANTE ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON) (IDAE)
522	SÍNTESIS DE LOS LICANTES 2.2' IMINO RISI(4S) 4 ISORRODI 4.5
	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
FUNCION/	ALIZADO CON ESTIRENO (AZA-F)
5.3.2.1.	SÍNTESIS DE (S)-VALINOL
5.3.2.2.	SÍNTESIS DE 2-AMINO-(4S)-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL
5.3.2.3. (AZABOX)	SÍNTESIS DE 2,2´IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL
5.3.2.4. ISOPROPI	FUNCIONALIZACIÓN CON ESTIRENO DE 2,2′ IMINO-BIS[(4S)-4 IL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL]
5.3.2.4.1.	BROMACIÓN DEL REACTIVO 4-CLORO METIL ESTIRENO 81

5.3.2.4.2. ISOPROP	REACCIÓN DE FUNCIONALIZACIÓN DE LIGANTE 2,2′ IMINO-BIS[(4S)-4- PIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL]							
5.4.	SÍNTESIS DE COMPLEJO DE LIGANTES MIXTOS							
5.4.1.	SÍNTESIS DE Na[Cu(IDA)(Enr)]							
5.4.2.	SÍNTESIS DE Na[Zn(IDA)(Enr)]82							
5.4.3.	SÍNTESIS DE Na[Cu(IDAE)(Enr)]83							
5.4.4.	SÍNTESIS DE Na[Zn(IDAE)(Enr)]83							
5.4.5.	SÍNTESIS DE [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O84							
5.4.6.	SÍNTESIS DE [Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ ·(H ₂ O) ₄ 85							
5.4.7.	SÍNTESIS DE [Zn ₃ (Azabox) ₅]NO ₃ 85							
5.4.8.	SÍNTESIS DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ ·H ₂ O86							
5.5.	POLIMERIZACIÓN							
5.5.1. ENROFLO	SÍNTESIS DE POLÍMEROS USANDO COMPLEJO Na[(IDAE)(Enr)], DXACINA Y SIN HORMA							
5.5.2. f)]NO₃∙H₂0	SÍNTESIS DE POLÍMEROS USANDO EL COMPLEJO [Zn(Enr)(Aza- D, ENROFLOXACINA Y SIN HORMA							
5.6.	CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS							
5.6.1. SIN HORM	POLÍMEROS USANDO COMPLEJO Na[(IDAE)(Enr)], ENROFLOXACINA Y MA							
5.6.2. ENROFLO	POLIMEROS USANDO COMPLEJO [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O, DXACINA Y SIN HORMA90							
5.6.2.1.	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE UNIÓN DE LOS POLÍMEROS 91							
5.6.2.1.1.	ESTUDIOS CINÉTICOS							
5.6.2.1.2.	ESTUDIOS DE AFINIDAD							
5.6.2.1.3.	ESTUDIOS DE SELECTIVIDAD							
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN95							
6.1.	SINTESIS DE LIGANTES FUNCIONALIZADOS CON ESTIRENO							

6.1.1. SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL ÁCIDO IMINODIACÉTICO
FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO95
6.1.1.1. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H y ¹³ C ÁCIDO
IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO
6.1.1.2. ANALISIS ELEMENTAL ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO
CON ESTIRENO
6.1.1.3. ESPECTRO DE INFRARROJO DE ÁCIDO IMINODIACÉTICO
FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO
6.1.1.4. ESPECTROSCOPÍA DE MASAS ÁCIDO IMINODIACÉTICO
FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO100
6.1.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS LIGANTES AZABOX Y AZA-F
6.1.2.1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE (S)-VALINOL
6.1.2.1.1. RMN DE ¹ H DE (S)-VALINOL
6.1.2.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 2 AMINO-(4S)-4-ISOPROPIL -4,5-
DIHIDRO-OXAZOL 104
6.1.2.2.1. RMN DE ¹ H DE 2 AMINO-(4S)-4-ISOPROPIL -4,5- DIHIDRO-OXAZOL .
6.1.2.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 2.2'IMINO-BISI(4S)-4-ISOPROPIL-4.5-
DIHIDRO-OXAZOLI (AZABOX)
6.1.2.3.1. RIMN DE 'H Y 'C DE Z AMINO-(45)-4-ISOPROPIL -4,5- DIHIDRO-
6.1.2.3.2. ANALISIS ELEMENTAL LIGANTE AZABOX
6.1.2.3.3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS DEL LIGANTE AZABOX
6.1.2.4. FUNCIONALIZACIÓN CON ESTIRENO DEL LIGANTE AZABOX
6.1.2.4.1. RMN DE 'H Y 'C DE 4-CME Y SU COMPUESTO BROMADO
6.1.2.4.2. 2,2 IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL
FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO (AZA-F)
6.1.2.4.2.1.RMN DE 'H Y 'C LIGANTE AZA-F
6.1.2.4.2.2.ANALISIS ELEMENTAL LIGANTE AZA-F
6.1.2.4.2.4.ESPECTROSCOPIA DE MASAS LIGANTE AZA-F

6.2.1. COMPLEJOS SINTETIZADOS CON LIGANTE IDA 12	21
6.2.2. COMPLEJO Na[Cu(Enr)(IDAE)]12	22
6.2.2.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO Na[Cu(IDAE)(Enr)] 12	23
6.2.2.1.1. ANALISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓ	Ν
ATOMICA DE Na[Cu(IDAE)(Enr)] 12	23
6.2.2.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO DEL COMPLEJ	0
Na[Cu(IDAE)(Enr)]	23
6.2.3. COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O	25
6.2.3.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O 12	25
6.2.3.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓ	Ν
ATÓMICA DEL COMPLEJO [Cu (Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O12	26
6.2.3.1.2. ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO DEL COMPLEJO [C	Cu
(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O	26
6.2.3.1.3. ESPECTROSCOPÍA DE MASAS COMPLEJ	0
[Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O12	27
6.2.3.1.4. CRISTALOGRAFÍA DEL COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]NO ₃ (H ₂ O) ₂ .	
	28
6.2.4. COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ ·(H ₂ O) ₄	31
6.2.4.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ ·(H ₂ O) ₄ 13	31
6.2.4.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓ	Ν
ATÓMICA COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ (H ₂ O) ₄ 13	32
6.2.4.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO COMPLEJ	0
[Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ (H ₂ O) ₄	32
6.2.4.1.3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS MODO FAB ⁺ COMPLEJ	0
[Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ (H ₂ O) ₄	33
6.2.5. COMPLEJO [Zn ₃ (Azabox) ₅]NO ₃ 13	34
6.2.5.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Zn ₃ (Azabox) ₅]NO ₃ 13	35
6.2.5.1.1. CRISTALOGRAFÍA DEL COMPLEJO [Zn ₃ (Azabox) ₅]NO ₃ 13	35
6.2.6. COMPLEJO [Zn(Enr)(Aza-f)]NO ₃ ·H ₂ O	
,	37
6.2.6.1. CARACTERIZACION DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ H ₂ O	37 37
6.2.6.1. CARACTERIZACION DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ H ₂ O 13 6.2.6.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓ	37 37 N
6.2.6.1. CARACTERIZACION DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ H ₂ O	37 37 N 38
 6.2.6.1. CARACTERIZACION DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃ H₂O	37 37 N 38 a-

	6.2.6.1	.3.	ESPECTR	OSCOPIA	DE	MASAS	DE	COMPLEJC) [Zı	n(Aza-
1	f)(Enr)]	INO:	₃•H₂O						-	140
	6.2.6.1	.4.	RMN ¹³ C E	DE COMPLI	EJO [Zr	n(Aza-f)(Er	$nr)]NO_3$	H ₂ O		140
	6.3.	CON	MPLEJOS I	міхтоѕ ит	- TILIZAD) HORN	_ //AS		142
6.4.	POL	IME	RIZACIÓN							142
6.4	4.1.	SÍN	TESIS DE	POLÍMERO	S CON	COMPLE	JO Na[(Cu(Enr)(IDAE	.)]	142
6.4.1	.1.	CAF	RACTERIZ	ACIÓN DE I	LOS PC	LÍMEROS	-			145
6.4.1	.1.1.	POL	ÍMEROS L	IGANTE ID	AE					145
6.4.1	.1.1.1.	P	RUEBAS D	E RETOMA	۸					145
6.4	4.2.	SÍN	TESIS DE	POLÍMERO	S CON	EL COMF	PLEJO [Zn(Enr)(Aza-	f)NO₃	H ₂ O
										148
6.4.2	2.1.	CAF	RACTERIZ	ACIÓN DE I	POLÍME		C, MIPE	Y NIP		151
6.4.2	2.1.1.	ESF	ECTROSC	OPÍA DE II	NFRAR	ROJO				151
6.4	4.2.1.2.	. R	ESONANC	IA MAGNÉ	TICA N	UCLEAR	DE SÓL	LIDOS ¹³ C CI	P-MAS	S NMR
DE	E NIP, I	MIP	e y MIPc							152
6.4	4.2.1.3.	. Al	NÁLISIS EI	LEMENTAL	DE NI	P, MIPe y I	MIPc			153
6.4	4.2.1.4.	. C.	ATÁLISIS							154
6.4	4.2.1.5.	. M	ICROSCO	PÍA ELECT	RÓNIC	A DE BAR	RIDO			156
6.4	4.2.1.6.	. C	ALORIMET	RÍA DIFER	ENCIA	L DE BAR	RIDO			158
6.4	4.2.1.7.	. C	INÉTICAS	DE ADS	SORCIO	ÓN DE	ENRO	FLOXACINA	EN	MIPc
SI	NTETIZ	ZAD	OS A DIFE	RENTES T	EMPE	RATURAS				161
	6.4.2.1	.8.	CINÉTICA	S DE ADSO	ORCIÓI	N DE NIP,	MIPe Y	MIPc		162
	6.4.2.1	.9.	ESTUDIO	S DE AFINI	DAD					163
	6.4.2.1	.10.	ESTUDIOS	DE SELEC		۹D				170
7.	CC	ONC	LUSIONES	S						172
8.	BI	BLIC	OGRAFÍA							176
ANEXC	DI									1

LISTA DE ABREVIATURAS

4-BME	4-(bromometil)estireno
4-CME	4-(clorometil)estireno
AA	Alcohol alílico
AE	Análisis elemental
AIBN	2,2-azobis-isobutironitrilo
Azabox	Azabis(oxazolina)
Aza-f	Azabis(oxazolina) funcionalizada con estireno
P	Cantidad de molécula de interés unida por
В	unidad de peso de polímero
P	Cantidad máxima de molécula de interés unida
B _{max}	por unidad de peso de polímero.
CCK-5	Pentapéptido cholecystokinin
CIP	Ciprofloxacina
Cnx	Cinoxacina
DCM	Diclorometano
DETA	Dietilentriamina
EAA	Espectroscopía de absorción atómica
ее	Exceso enantiomérico
EGDMA	Etilenglicoldimetacrilato
Enox	Enoxanina
Enr	Enrofloxacina
ES	Estireno
Espar	Esparfloxacina
	Espectroscopía de resonancia paramagnética
ESK	electrónica
EtOH	Etanol
Fen	1,10 fenantrolina
Flume	Flumequina
FQ´s	Fluoroquinolonas
Gati	Gatifloxacina
НЕМА	2-hidroxi etil metacrilato
Hsm	Histamina
IDA	Ácido iminodiacético
IDAE	Ácido iminodiacético funcionalizado con estireno
ITA	Ácido itacónico
K _d	Constante de disociación, Análisis Scatchard
K	Afinidad media de unión, Modelo Langmuir-
κ _o	Freundlich
	Cromatrografía de líquidos con detector de
LC-FD	fluorecencia
	Cromatrografía de líquidos con detector de
	masas.
	Cromatrografía de líquidos con detector de
	ultravioleta
Levo	Levofloxacina

MAA	Ácido metacrílico
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
MIP´s	Polímeros estampados molecularmente
MIPc	Polímero estampado con complejo metálico de zinc
MIPe	Polímero estampado con enrofloxacina no covalente
NIP	Polímero no estampado
Nor	Norfloxacina
Nt	Número de sitios, ajuste modelo Langmuir- Freundlich
NTA	Ácido nitrilotriacético
Oflo	Ofloxacina
Q´s	Quinolonas
Q _{max}	Cantidad máxima de enrofloxacina unida a los polímeros al equilibrio.
RMN	Resonancia magnética nuclear
RSD	Desviación estándar relativa
SEM	Microscopía electrónica de barrido
Terp	Terpiridina
TRIM	Tri-metil-propano-tri-metacrilato
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de polímeros estampados, MIP´s	28
Figura 2. MIP capaz de reconocer el C-terminal del pentapéptido cholecystokini	33
Figura 3. Selectividad del MIP's usando (IDAE)-Cu ²⁺ hacia varios derivados de b	ois-
imidazoles	35
Figura 4. Esquema del mecanismo de polimerización de monómeros vinílicos	37
Figura 5. Esquema del rompimiento heterolítico u homolítico de un enlace	38
Figura 6. Estabilización por resonancia de las especies propagantes del sistema	(a)
poli-acrilonitrilo, (b) poli-estireno y (c) cloruro de polivinilo	39
Figura 7. Esquema de adiciones sucesivas de monómero en una polimerizaciones sucesivas	ión
radicálica	40
Figura 8. Mecanismos de terminación de una polimerización radicalaria	41
Figura 9. Formación de la estructura porosa al sintetizar un MIP	49
Figura 10 Estructura del ácido nalidíxico	56
Figura 11 Estructura general de las 4-quinolonas	56
Figura 12 Esquema de protonación de moléculas de FQ s	60
Figura 13 Principales modos de coordinación de las Q´s y FQ´s	62
Figura 14Estructura molecular del complejo [Cu(Fen)(Cnx)(H ₂ O)]NO ₃ ·H ₂ O	66
Figura 15 Monómero funcional y entrecruzador usado en polímeros preparad	los
con disolventes polares	71
Figura 16Estructura del ácido itacónico	73
Figura 17 Esquema del proceso de impresión de la molécula Co(II)-Enr. (A) E	inr,
Co ²⁺ y 4 vinilpiridina forman en complejo de prepolimerización. (B) el complejo	se
fija usando un agente entrecruzante (EDGMA). (C) Imovilización del complejo en	ı el
material obtenido. (D) Sitios de reconocimiento que son selectivos para la moléc	ula
horma	74
Figura 18Curva patrón de Enr λ = 323 nm	90
Figura 19Curva patrón de Enr λ = 280 nm	92
Figura 20 Síntesis del ácido iminodiacético funcionalizado con estireno (IDAE)	95
Figura 21 Espectros de ¹ H y ¹³ C ligante IDAE	96
Figura 22 Espectros de FTIR de 4-CME (espectro superior), IDA (espectro medio)) y
del producto obtenido (espectro inferior)	99
Figura 23 Patrones de fragmentación de los reactivos IDA (línea punteada) y	4-
CME (línea continua) 1	00
Figura 24 Comparación de la señal m/z = 161 entre el espectro de masas	E /†
teórico (a) y el espectro de experimental (b)1	01
Figura 25 Síntesis del ligante azabis(oxazolina) funcionalizada con estireno (Aza	a-f)
	01
Figura 26 Síntesis de (S)-valinol 1	02
Figura 27 Espectro de RMN de ¹ H del valinol1	03
Figura 28 Síntesis de aminooxazol 1	04
Figura 29 Síntesis de 2 amino-(4S)-4-isopropil-4,5 dihidro-oxazol 1	05

Figura 30 Síntesis de 2,2´ imino-bis[(4S)-4-isopropil-4,5-dihidro-oxazol. Azabox. 107
Figura 31Espectros de ¹ H (a) y ¹³ C (b) ligante Azabox
Figura 32 Espectro teórico del ligante Azabox (a) y espectro de masas FAB ⁺ de
ligante (b) 111
Figura 33 Esquema de reacción de la bromación del 4-CME
Figura 34Espectros de 4-CME y compuesto bromado ¹ H (a) y ¹³ C (b) 114
Figura 35 Funcionalización con estireno de 2,2 ímino-bis[(4S)-4-isopropil-4,5-
dihidro-oxazol]115
<i>Figura 36 Espectros de Aza-f</i> ¹ <i>H</i> (<i>a</i>) <i>y</i> ¹³ <i>C</i> (<i>b</i>)116
Figura 37 Espectros de FTIR del ligante Azabox (espectro superior), y del producto
obtenido de la funcionalización con estireno (espectro inferior) 119
Figura 38 Espectro teórico del ligante Aza-f (a) Espectro experimental de masas
FAB ⁺ de Aza-f (b)
Figura 39 Esquema de síntesis de complejos mixtos. Ligantes IDA: Enr: M ²⁺ .
Relación estequiométrica 1:1:1
Figura 40 Esquema de síntesis de complejos con IDAE:Enr:M ²⁺ , relación
estequiométrica 1:1:1
Figura 41 Espectros de FTIR de los ligantes Enr, IDAE y complejo
Na[Cu(IDAE)(Enr)]
Figura 42 Esquema de síntesis del complejo [Cu (Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O 125
Figura 43 Espectros de IR de los ligantes Enr, Fen y complejo
$[Cu(Fen)Enr(H_2O)]PF_6 H_2O \dots 127$
Figura 44 Espectro teórico del ion molecular [Cu(Fen)(Enr)] ⁺ (a) Espectro
experimental de masas FAB ⁺ del ion molecular [Cu(Fen)(Enr)] ⁺ (b)
Figura 45 Estructura del complejo [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)] NO ₃ (H ₂ O) ₂
Figura 46 Empaquetamiento complejo del [Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)] NO ₃ (H ₂ O) ₂
Figura 47 Síntesis de complejo con ligante terpiridina
Figura 48 Espectros de IR de los ligantes Enr. Terp v compleio [Cu(Terp)(Enr)]PF
(H ₂ O)₄
Figura 49 Espectro teórico del ion molecular [Cu(Terp)(Enr)] ⁺ (a) Espectro
experimental de masas FAB ⁺ del ion molecular [Cu(Terp)(Enr)] ⁺ (b)
Figura 50 Ruta de síntesis del compleio [Zn(Azabox)(Enr)]NO ₃ ·H ₂ O
Figura 51 Compleio Azabox v zinc
Figura 52 Empaguetamiento Compleio azabox v zinc
Figura 53 Ruta de síntesis del compleio [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₂ ·H ₂ O
Figura 54 Espectro de IR de compleio $[Zn(Aza-f)(Enr)]NO_2 H_2O$
Figura 55 Espectro teórico del ion molecular [Zn(Aza-f)(Enr)] ⁺ (a) Espectro
experimental de masas FAB ⁺ del ion molecular [Zn(Aza-f)(Enr)] ⁺ (b)
Figura 56-Estructuras de Enr v Aza-f con asignaciones para 13 C NMR.
Desplazamientos de 13 NMR del complejo de $[Zn(Aza-f)(Enr)NO_{2}H_{2}O_{3}]$
Figura 57 Esquema general de sintesis MIP's ligante IDAF 143
Figura 58 Esquema general de síntesis, tratamiento y de MIP's usando MAA y FS y
compleio Na[Cu(IDAE)(Enr)]
Figura 59 Esquema general de síntesis de MIP's v NIP.

Figura 60 Síntesis y regeneración de sitio de regeneración de MIPc	149
Figura 61 FTIR polímeros sintetizados a 10°C	151
Figura 6213C CP-MAS NMR polímeros sintetizados a 10°C	153
Figura 63 Reacción de ciclopropanación utilizando MIPc	155
Figura 64 Microscopía SEM de A) NIP; B) MIPe; C) MIPc. Escala de barras 500) nm
	156
Figura 65 DSC de polímeros NIP, MIPe y MIPc	159
Figura 66 Cinética de unión de MIPc para Enr	161
Figura 67 Cantidad de Enr unida en MIPc (10°C) vs tiempo	162
Figura 68 Cinéticas de adsorción de polímeros sintetizados 10°C	163
Figura 69 Isotermas de unión de los polímeros NIP, MIPe y MIPc	164
Figura 70Análisis Scatchard NIP (a), MIPe (b) y MIPc (c)	167
Figura 71 Selectividad de FQ's de MIPc	171

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Esquema de la cinética de reacción de copolimerización	42
Tabla 2 Métodos de polimerización para obtener MIP´s	43
Tabla 3 Monómeros funcionales impresión covalente	45
Tabla 4 Monómeros funcionales con interacciones no covalentes	46
Tabla 5 Entrecruzadores más utilizados en la sintesis de MIP´s	48
Tabla 6Valores de pKa de enrofloxacina	59
Tabla 7Algunos complejos de enrofloxacina	65
Tabla 8 Desplazamientos químicos obtenidos en experimentos de RMN de ¹ H y ¹³	'C
para los precursores IDA, 4-CME y el producto, ligante IDAE, en CD ₃ OD	97
Tabla 9 Análisis elemental ligante IDAE	98
Tabla 10 Desplazamientos químicos observados en los espectros de ¹ H para la	
valina y el valinol en CDCI ₃ 1	04
Tabla 11 Desplazamientos químicos observados en los espectros de ¹ H para el	
valinol y el aminooxazol en CDCl ₃ 1	06
Tabla 12 Desplazamientos químicos en experimentos de RMN ¹ H y ¹³ C para el	
compuesto aminooxazol y la Azabox1	09
Tabla 13 Análisis elemental ligante Azabox 1	10
Tabla 14 Desplazamientos químicos obtenidos en experimentos de RMN de ¹ H y	
¹³ C para los precursores 4-BME, azabox y el producto, Azabox funcionalizada 1	17
Tabla 15 Análisis elemental ligante Aza-f 1	18
Tabla 16 Resultados AE y EAA complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)]1	23
Tabla 17 Resultados de AE y EAA complejo [Cu (Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O1	26
Tabla 18 Resultados de AE y EAA, complejo [Cu(Terp)(Enr)]PF ₆ (H ₂ O) ₄ 1	32
Tabla 19 Resultados de AE y EAA, complejo [Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ ·H ₂ O1	38
Tabla 20 Desplazamientos ¹³ C para el complejo de Zn1	41
Tabla 21Pruebas de retoma con polímeros estampados. Monómeros MAA y	
estireno1	46
Tabla 22 Resultados AE de polímeros sintetizados a 10°C lavados1	53
Tabla 23 Resultados tamaño de partícula de polímeros1	57
Tabla 24 Resultados de DSC. AA, EDGMA y Enr1	60
Tabla 25 Parámetros Scatchard calculados 1	67

1. RESUMEN

El presente trabajo describe el desarrollo de polímeros estampados con la capacidad de reconocimiento molecular hacia la enrofloxacina en disolventes polares. Para ello se preparó un polímero basados en sitios de reconocimiento con la capacidad de formar enlaces de coordinación.

Los polímeros estudiados fueron preparados con etilenglicoldimetacrilato como entrecruzador y uno de los monómeros funcionales siguientes: ácido metacrílico, alcohol alílico o estireno. Se hicieron ensayos de tipo de polimerización en lote y por precipitación y con esto se determinó el tipo de materiales que mostraron mejores propiedades de reconocimiento molecular. También se hicieron algunos ensayos del efecto de la temperatura de polimerización y del disolvente sobre el reconocimiento de los polímeros hacia la enrofloxacina.

Para la síntesis de los polímeros con metales se usaron complejos con la característica de poseer al menos dos ligantes diferentes, uno funcionalizado con estireno para que sea el punto de anclaje al polímero y otro la enrofloxacina.

Los ligantes funcionalizados con estireno se sintetizaron y caracterizaron. Los ligantes son el ácido iminodiacético y la azabis(oxazolina).

Los complejos se sintetizaron con los ligantes antes mencionados, la enrofloxacina y los iones metálicos Cu²⁺ y Zn²⁺.

La condición para utilizar un complejo de coordinación como horma es que éste se encuentre caracterizado completamente. Ya que una horma que tiene una estructura homogénea resulta en sitios de reconocimiento homogéneos en el polímero. Por lo tanto, el polímero obtenido presenta una mayor afinidad y selectividad hacia la molécula la enrofloxacina. El complejo que cumplió con estas condiciones fue el [Zn(Enr)(Aza-f)]NO₃·H₂O. El polímero sintetizado con este complejo se denominó MIPc.

Para demostrar la presencia del enlace de coordinación en el polímero proporciona mayor afinidad por la enrofloxacina que las interacciones no covalentes. Se comparó la afinidad con otros dos polímeros sintetizados de la siguiente manera: Uno, el polímero es sintetizado utilizando como horma a la enrofloxacina, denominado MIPe; y, otro, sin ningún tipo de horma llamado NIP.

Se encontró que los polímeros no covalentes muestran menores características de afinidad enrofloxacina-polímero respecto al polímero MIPc. Adicionalmente, MIPc muestra alta afinidad y es selectivo hacia la enrofloxacina.

Lo anterior se concluyó a través de las constantes termodinámicas de adsorción obtenidas de usar isotermas de enlace y el análisis Scatchard para estimar varios parámetros de unión, entre ellos; la constante de disociación, K_d. El análisis Scatchard de NIP, MIPe y MIPc mostró lo siguiente: NIP, un solo tipo de sitios que se puede relacionar con los sitios de interacciones no específicas del polímero *per se*; MIPe y MIPc, mostraron dos rectas que representan dos grupos de sitios de unión, uno de baja afinidad y otro de alta afinidad. Los valores estimados de K_d para NIP (único sitio), (alta afinidad de MIPe y MIPc) fueron K_d = 0.4768, 0.020, 0.0067 mmolL⁻¹ respectivamente.

Por otro lado, la selectividad de MIPc por enrofloxacina es alto comparado con otras fluoroquinolonas (ofloxacina y flumequina). Los ensayos de unión, fueron evaluados con varios modelos de isotermas, ajustado el modelo Langmuir-Freundlich. Los valores calculados de la constante de unión fueron los siguientes: enrofloxacina, K_0 = 21.38 mM⁻¹; Ofloxacina, K_0 = 2.2 x 10⁻⁸ mM⁻¹; Flumequina, K_0 = 1.6 x 10⁻⁵ mM⁻¹.

ABSTRACT

The present work describes the development of molecularly imprinted polymers with the capacity for molecular recognition of enrofloxacin in polar solvents. To this end, a polymer was prepared with recognition sites that have the capacity to form a coordination bond.

The polymers studied were synthesized from ethylenglicol dimethacrylate as a crosslinker and one of the following monomers: metacrylic acid, allylic alcohol or styrene. Additionally, we carried out trials on the type of polymerization (bulk (batch) and precipitation) which then determined the materials with the best molecular recognition properties. As well, some tests were performed on the effect that the polymerization temperature and the solvent have on the recognition of enrofloxacin by the polymers.

For the synthesis of molecular imprinted polymers with metals, complexes were used which possessed at least two different ligands, one with a functionalization with styrene for the binding point of the polymer and the other being enrofloxacin.

The ligands functionalized with styrene were synthetized and characterized. The ligands were iminodiacetic acid and azabis(oxazoline).

The complexes were synthetized with the ligands mentioned above, enrofloxacin and metallic ions Cu^{2+} and Zn^{2+} .

A coordination complex should be completely characterized if it is to be used as a template, because this will present homogeneous recognition sites in the polymer. The more homogeneous the recognition sites are in the polymer, the greater selectivity for enrofloxacin it will have. The template complex which met this criteria was $[Zn(Enr)(Aza-f)]NO_3 H_2O$. The polymer synthesized from this template is denominated MIPc.

To demonstrate that the presence of coordination bonds in the polymer provides more affinity for enrofloxacin than do non-covalent interactions, we compared its affinity with that of two non-covalent polymers synthesized in the following ways: MIPe, synthesized from a template of enrofloxacin, and NIP, with no template used in its preparation.

It was found that non covalent polymers show lower affinity for enrofloxacin than seen with the polymer MIPc. MIPc was found to have very high affinity and selectivity for enrofloxacin.

All of the above was concluded by determining the thermodynamic constants of adsorption employing binding isotherms and using the Scatchard analysis for estimating several union parameters, such as; K_d , dissociation constant. The Scatchard analysis of NIP, MIPe y MIPc found the following: regarding Non imprinted polymers, only have one type of sites and these are related to nonspecific interactions. For MIP and MIPc; two lines represent two groups of sites of unions, one of low affinity and one of high. The estimated values of K_d for NIP, MIPe and MIPc were Kd= 0.4768, 0.020 and 0.0067 mmolL⁻¹ respectively, keeping in mind that the MIPe and MIPc are in the high affinity zone.

On the other hand, the selectivity of MIPc for enrofloxacin is high compared with other fluoroquinolones (ofloxacin and flumequin). The tests of union were evaluated with several models of isotherms, fitted to the Langmuir-Freundlich model. The values calculated for the union constant were the following: enrofloxacin; $K_o = 21.38 \text{ mM}^{-1}$; ofloxacin, $K_o = 2.2 \times 10^{-8} \text{ mM}^{-1}$, flumequin, $K_o = 1.6 \times 10^{-5} \text{ mM}^{-1}$.

2. INTRODUCCIÓN

El uso de medicamentos en el ámbito veterinario para prevención, adicional al de tratamiento, es una práctica cada vez más extensa. Tan solo en Estados Unidos se consumen alrededor de 12 millones de kg de medicamentos al año en prevención y no en tratamiento y buena parte de ellos son antibióticos para combatir o evitar enfermedades de origen bacteriano. Las quinolonas (Q's) forman parte importante de este grupo y dentro de éste destaca la enrofloxacina (Enr), perteneciente al grupo de fluoroquinolonas (FQ's)(1).

El uso tan extenso de este grupo de antibióticos ha generado recientemente el problema de encontrar residuos de éstos en animales que servirán para consumo humano, o bien en el medio ambiente(2, 3), debido a que la mayoría de fluoroquinolonas no son completamente metabolizadas en el cuerpo y usualmente son excretadas en su forma farmacéutica activa en más de un 50%(4, 5), lo cual genera un problema de salud ya que está asociado a la aparición de resistencia de las cepas bacterianas a los antibióticos(6) o incluso la muerte. En este mismo sentido, también es importante estudiar los residuos de fluoroquinolonas en el medio ambiente.

Las fluoroquinolonas y sus metabolitos han sido identificadas como contaminantes persistentes y peligrosos en aguas(7), suelos y sedimentos(8, 9). Esto pone de relevancia la necesidad de detectar y remover residuos de fármacos en la producción de alimentos de origen animal y muestras medio ambientales. Para esto se han desarrollado gran cantidad de métodos que son en su mayoría dependientes de procesos complicados y equipos caros. Los métodos más usados para determinar FQ's en muestras biológicas están basados en cromatografía de líquidos; principalmente ultravioleta (LC-UV)(10), fluorescencia (LC-FD)(11, 12) o espectroscopia de masas (LC-MS)(13, 14) y materiales para su remoción selectiva apenas han sido estudiados.

Se han buscado alternativas para determinar y cuantificar de forma sencilla y selectiva a las fluoroquinolonas. Entre estas alternativas se encuentran los polímeros estampados, los cuales, ofrecen una unión selectiva hacia la molécula con la cual

fueron preparados. Sin embargo, la mayoría de los polímeros estampados no son selectivos en sistemas acuosos, por lo que es muy importante explorar nuevas formas para obtener estos materiales funcionales en disolventes polares.

En el proceso de síntesis de MIP's la etapa de pre-organización (previa a la polimerización). Los reactivos presentes en el medio de reacción (monómero funcional, la molécula horma y entrecruzador) generalmente a través de interacciones nocovalentes interactúan generando la base para formar los sitios de reconocimiento. Estas interacciones pueden ser interferidas por un disolvente polar, ya que este interacciona de forma similar a la horma dando como resultado la formación de sitios con una capacidad de reconocimiento baja.

Para evitar la competencia de un disolvente polar con los monómeros funcionales sobre la molécula horma, se puede aumentar la magnitud de la interacción entre un monómero funcional y la molécula horma, esto se puede conseguir al aumentar las interacciones no covalentes. Generalmente se consigue al sintetizar a los MIP's en disolventes no polares, pero con el resultado de que los polímero obtenidos van ha tener una baja selectividad y unión hacia la molécula horma al ser utilizados en disolventes polares. Otra opción de aumentar esta selectividad hacia la horma es a través de un enlace que pueda proporcionar una interacción fuerte que pueda incrementar la fuerza de enlace y por lo tanto la selectividad del polímero hacia la molécula de interés. Este tipo de enlace es el enlace de coordinación.

Considerando lo anterior, el presente proyecto de investigación se enfocó en el desarrollo de polímeros estampados que se unan fuertemente a la enrofloxacina, lo cual, proporcine selecitividad por ésta, a través del efecto de centros de coordinación en el proceso de reconocimiento molecular.

Para obtener este tipo de polímero se efectúan en varias etapas.

En una primera etapa se sintetiza un complejo de coordinación de ligantes mixtos; uno de ellos la enrofloxacina; y, otro, un ligante que se encuentre funcionalizado con la posibilidad de polimerizar y unirse covalentemente a la matriz polímerica. Una vez sintetizado debe ser caracterizado completamente para ser usado como molécula

horma. Esta caracterización obedece a que un compuesto horma que se conozca adecuadamente podrá generar sitios mejor definidos y por lo tanto generar un sitio que proporcionen una fuerza y selectividad hacia la molecula de interés. Los ligantes utilizados para ser usados como anclaje en la matriz polímerica son un derivado del ácido iminodiacético funcionalizado con estireno y la azabis(oxazolina) de isopropilo funcionalizada con estireno debido a que se ha informado en la literatura la utilización de estos en la síntesis de materiales polímericos.

Por otro lado, los metales escoguidos para la síntesis de estos complejos son el Cu²⁺ y el Zn²⁺ debido a que se han informado en la literatura la utilización de estos iones metálicos en la síntesis de MIP's con centro metálico mostrando un buen reconocimiento molecular para sistemas biológicos. Además, estos metales se han utilizado en la síntesis de MIP's lo que suguiere la compatibilidad con las reacciones de polimerización, sin embargo, el Zn²⁺ presenta la ventaja de ser un metal con los orbitales d apareados y no intervenir en la reacción de polimerización que generalmente se lleva acabo vía radicales libres.

La segunda etapa de este proyecto consiste en determinar las condiciones de síntesis de los polímeros estampados. Los polímeros estampados que son sintetizados son los siguientes: 1) sintetizado con el complejo de ligantes mixtos sintetizado y caracterizado en la primera etapa; 2) sintetizado con enrofloxacina para comparar el efecto del centro metálico en las propiedades de unión y selectividad; y, 3) un polímero no estampado, ya que no tiene ningún tipo de horma.

Finalmente la tercera etapa del proyecto de tesis consiste en caracterizar los polímeros estampados y no estampados; así como evaluar sus propiedades de unión y selectividad hacia la enrofloxacina.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar un polímeros estampado con centro metálico con la capacidad de enlazar fuerte y específicamente a la enrofloxacina.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

Sintetizar y caracterizar los ligantes funcionalizados con estireno.

Determinar las condiciones de síntesis, sintetizar y caracterizar diferentes compuestos de coordinación con ligantes mixtos, un ligante susceptible de polimerizar y enrofloxacina.

Sintetizar y caracterizar polímeros estampados a partir de una molécula horma (compuesto de coordinación), monómeros (ácido metacrílico, estireno y alcohol alílico), agente entrecruzador (etilenglicoldimetacrilato) y un iniciador (AIBN).

Determinar la afinidad de los polímeros hacia la enrofloxacina mediante el uso de isotermas de enlace y algunas técnicas espectroscópicas.

Comparar el efecto del enlace de coordinación en el reconocimiento de enrofloxacina, mediante la síntesis y caracterización de un polímero estampado no covalentes (MIPe) y con un polímero de la misma composición química pero sin ningún tipo de molécula horma (NIP).

Determinar la selectividad del polímero estampado sintetizado con el complejo de ligantes mixtos hacia la enrofloxacina.

4. ANTECEDENTES

4.1. POLÍMEROS ESTAMPADOS

El reconocimiento molecular está ampliamente difundido en la naturaleza, siendo una de las claves fundamentales en el funcionamiento de los sistemas biológicos. Éste consiste en procesos a través de los cuales, una molécula anfitrión se une en forma específica a otra molécula, huésped. Esto ocurre debido a diversos factores, principalmente, por el tipo y cantidad de interacciones entre el huésped y anfitrión; así, como a la geometría complementaria entre las dos moléculas(*15*).

Desarrollar sistemas novedosos que nos permitan una interacción fuerte y específica hacia una molécula en particular basados en reconocimiento molecular, puede ser una alternativa para detectar, remover y concentrar sustancias de interés. Entre los materiales recientemente utilizados para la extracción selectiva se encuentran los polímeros estampados (MIP's).(*16-20*)

La impresión, impronta molecular o estampado es conocida como la técnica de creación de materiales con sitios de unión "hechos a la medida" con memoria de la forma, tamaño y grupos funcionales de la molécula horma. El concepto del estampado molecular fue inicialmente propuesto por Polyakov en 1931.(*21*)

El proceso de síntesis de (MIP's) (*16, 22*), es relativamente sencillo, un esquema general de síntesis se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Síntesis de polímeros estampados, MIP's.

Los sitios de reconocimiento complementarios en tamaño, forma e interacciones se forman cuando una molécula es empleada como horma o plantilla en la síntesis del polímero.

Como primer paso es necesaria la pre-organización; es considerado el paso más importante para obtener materiales que muestren una alta capacidad de reconocimiento molecular. Las interacciones que dan origen al complejo pre-organizado entre la plantilla y los monómeros funcionales en la síntesis de los MIP's pueden incluir interacciones no enlazantes como dipolo-dipolo, puentes de hidrógeno, etc. así como enlaces covalentes y enlace de coordinación. Los monómeros funcionales forman una estructura en disolución con la horma que formará un copolímero con un entrecruzador dando origen al MIP.

Con base en los tipos de interacciones que puede haber entre el monómero funcional y la molécula horma es uno de los criterios de clasificación más empleado actualmente para los MIP's, ya que esta afecta considerablemente las propiedades finales del material. La clasificación es la siguiente: MIP's covalentes, MIP's no covalentes, MIP's semi covalentes y MIP's metálicos.

4.1.1. POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA COVALENTE

La propuesta de impresión covalente fue desarrollada por Wulff y colaboradores en los años 70's(*23*). Los MIP's covalentes pueden utilizar enlaces reversibles covalentes; por lo tanto, la afinidad del estos polímeros por la molécula horma puede llevarse a cabo ya sea restableciendo el enlace covalente o a través de formar nuevas interacciones no covalentes entre la molécula horma y los grupos funcionales que se encuentran en los sitios de unión.

La naturaleza covalente presente en el complejo de pre-polimerización entre el monómero y la horma, genera un control sobre el proceso de impresión, lo que apunta a que los sitios de unión generados podrán ser estructuralmente homogéneos(*24*). Sin embargo, pueden existir desventajas, las cuales pueden ser las siguientes: Un número limitado de monómeros existentes capaces de formar un enlace covalente reversible. Se requieren pasos sintéticos adicionales y la síntesis previa del compuesto horma. Los procesos de remoción de la horma y limpieza del polímero suelen ser complicados.

4.1.2. POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA NO COVALENTE

Los primeros estudios de relevancia acerca de los polímeros de impronta molecular no covalente fueron hechos por Arshady y Mosbach (25). Los MIP's no covalentes son aquellos en los que la interacción entre la molécula horma y el monómero tiene lugar a través de la formación de enlaces intermoleculares no enlazantes, es decir, sin enlaces químicos formales. Esto es tanto en la síntesis de los MIP's como en el proceso de reconocimiento posterior de la horma(26).

Debido a la amplia disponibilidad comercial de monómeros capaces de dar lugar a una interacción no covalente, la fácil y versátil síntesis de este tipo de MIP's, dio como resultado que este proceso de impresión se convierta rápidamente en el método más extendido para la preparación de MIP's.

Sin embargo, este proceso muestra desventajas, las cuales se deben a la baja estabilidad del complejo de pre-polimerización; el cual muestra variación en estequiometrias y estructuras presentes en éste, por lo tanto, reduce la fidelidad del proceso de impresión. Además, las condiciones estándar de síntesis utilizan un exceso de monómero funcional para favorecer la formación del complejo de éste con la molécula horma. Como consecuencia, la mayor parte del monómero funcional no se incorpora en los sitios de unión, resultan en un alto porcentaje de sitios de reconocimiento con afinidad y selectividad baja.

Este método es usado con disolventes de baja polaridad; sin embargo, esto origina un bajo reconocimiento de la plantilla en medios donde las interacciones con el disolvente son fuertes como los ambientes acuosos. Los disolventes polares, especialmente el agua, pueden destruir el efecto de reconocimiento del polímero. Esta situación limita mucho la posible aplicación de los MIP's en muestras biológicas, alimenticias, ambientales, etc.(22).

4.1.3. POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE VÍA SEMI COVALENTE

Los MIP's semi-covalentes fueron inicialmente descritos por Sellergren y Andersson(27). Estos MIP's se pueden considerar como un caso particular de MIP's covalentes (28). Es decir, la interacción inicial formada entre la molécula horma y el monómero funcional es a través de un enlace covalente; pero, la interacción presente en el reconocimiento posterior de los analitos es de naturaleza no covalente.

Al presentar una primera etapa común durante la síntesis, los MIP's semi-covalentes presentan varias ventajas análogas a los MIP's covalentes como: alta selectividad y una mayor homogeneidad en la distribución de los sitios de unión en el polímero. Sin embargo, el principal inconveniente de este tipo de polímeros deriva de las diferencias estéricas entre los enlaces covalente y no covalente, ya que se necesita una mayor distancia para formar el enlace no covalente de uno covalente.

Esta limitación que presentan en algunos casos los polímeros estampados semi covalentes fue resuelta por Whitcombe(29), el cual, sintetizó un MIP utilizando un grupo carbonilo como espaciador entre el monómero funcional, ácido metacrílico, y el colesterol que fue usado como plantilla. Dicho grupo espaciador se eliminó posteriormente en forma de CO_2 durante la hidrólisis del enlace formado entre la molécula horma y el monómero. La comparación de este polímero con uno sintetizado siguiendo una polimerización no covalente demostró su mayor eficiencia al emplearse como fase estacionaria en sistemas cromatrográficos(30).

Con base en lo anterior, se concluye que las interacciones no enlazantes como los de puente de hidrógeno son más versátiles en fuerza de enlace con respecto a los enlaces covalentes, pero menos aptos y efectivos en la etapa de pre-polimerización entre el monómero y la plantilla en un ambiente acuoso, ya que la estabilidad de un complejo pre-organizado es menor con respecto a la que involucran enlaces químicos formales. A pesar de esto, la gran mayoría de los trabajos publicados hasta la fecha al respecto de MIP's involucran interacciones no enlazantes y se clasifican como no covalentes.

4.1.4. POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE CON CENTRO METÁLICO

Por otro lado, el enlace de coordinación presenta varias ventajas en el reconocimiento molecular con MIP's, como las siguientes: Si el enlace es suficientemente fuerte los polímeros pueden mostrar buena afinidad y selectividad en disolventes polares como el agua así como en otros disolventes. Los complejos metálicos pueden ser termodinámicamente estables y cinéticamente lábiles al mismo tiempo, lo que permite reacciones de intercambio en el centro, logrando tener una alta estabilidad (*31-33*). Adicionalmente, se ha informado que las interacciones de iones metálicos con el sustrato en los MIP's puede originar una mayor capacidad de adsorción del polímero hacia la molécula horma(*34*), se ha especulado de que esto se debe al aumento de sitios de interacción "fuertes" es decir, que la interacción MIP-sustrato es de mayor energía.

El número de trabajos informados sobre la sintesis de MIP's con centro metálico es variado, ya que se han informado MIP's para el reconocimiento de carbohidratos, péptidos, proteínas, iones metálicos, antibióticos, etc. (*31-33, 35-41*) Sin embargo, el conocimiento profundo de este tipo de MIP's aún no está totalmente esclarecido. Por ejemplo, un desafío de este tipo de materiales es el de usar éstos en muestras medioambientales. Por lo que conocer los factores que maximicen el efecto del enlace de coordinación en los MIP's aún se encuentra en estudio.

De los estudios sobre MIP's con centro metálico, destacan los realizados por Chen, *et al.* (42), que estudian el reconocimiento específico de carbohidratos. Estos autores prepararon polímeros sensibles a la glucosa, hechos a base de poli-acrilamida y templados con β -metil-glucopiranosa. Este polímero puede unirse a la glucosa en concentraciones bajas y un medio biológico complejo. Por esta razón se ha tratado de aplicar en dispositivos para personas con padecimiento de diabetes.

Otro trabajo que destaca acerca de la síntesis de MIP's con centro metálico para reconocimiento selectivo es el de Papaioannou y colaboradores (*38*) donde informan la

síntesis de un MIP capaz de reconocer el C-terminal del pentapéptido cholecystokinin, CCK-5, en presencia de un ion metálico (Figura 2).



Figura 2. MIP capaz de reconocer el C-terminal del pentapéptido cholecystokini.

En este trabajo se prepara dos clases de polímeros, los cuales, fueron producidos bajo las mismas condiciones y relación molar de molécula plantilla y monómeros (acrilamida y N, N'-metilen bis acrilamida), en presencia o ausencia del complejo de ácido nitrilotriacético–Ni²⁺ (Ni-NTA). Al grupo de polímeros, que fue sintetizado con Ni²⁺ se les retira el ion y se sustituye por los siguientes iones divalentes: Mg²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ y Cu²⁺. Con todos los polímeros, se evalúa la capacidad de adsorción a través de

experimentos de reenlace con CCK-5. Posteriormente los resultados obtenidos son ajustados con los modelos de isotermas de Langmuir y Scatchard. Determinando los valores de constante de disociación (K_d) y máxima cantidad de sitios de unión (B_{max}) se encontró que los polímeros presentan el siguiente orden: Fe-NTA, Ni-NTA y Cu-NTA. Los bajos valores de K_d , calculados, se interpretan como una unión fuerte con el huésped. Por otro lado, los sitios de unión, B_{max} , calculados, son muy similares en los iones mencionados, indicando que el sitio de reconocimiento de coordinación es el responsable de la mayor parte de la fuerza de unión y no el número de sitios. Cabe mencionar que el disolvente utilizado en este estudio es el MeOH.

Por otro lado, Dhal y Arnold (*35, 43*), demostraron las ventajas de utilizar las interacciones de coordinación entre el iminodiacétato funcionalizado con estireno, el cobre (IDAE)-Cu²⁺ y varios derivados de bis-imidazoles que fueron utilizados como molécula horma, donde los imidazoles se encuentran a los extremos de la molécula. También se hicieron estudios variando la longitud de la cadena de los bis-imidazoles Figura 3. Un proceso al que se somete el MIP es el retiro de la molécula horma a través de lavar el polímero, adicionalmente, con este proceso el centro metálico es también removido. Es por esto que antes de evaluar la unión del polímero con el sustrato hay que regenerar el centro metálico. El resultado obtenido del proceso de remoción del ion metálico y la molécula horma, así como, la regeneración del centro metálico y retoma de la molécula horma es casi cuantitativa, por lo que se sugiere que los polímeros cuentan una buena accesibilidad a los sitios de reconocimiento.

A través de espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (ESR) se deduce que los enlaces de coordinación formados entre el Cu²⁺-imidazoles se conservan después de la polimerización. Los experimentos de competencia de unión entre sustratos y los polímeros mostraron que éstos mostraban selectividad por la plantilla con la que fueron hormados, mientras que los polímeros que no tenían hormado no tenían esta selectividad. En la Figura 3 se esquematiza la interacción entre la horma y los sitios de unión; la selectividad del polímero hacia la horma depende principalmente de la combinación de dos factores: 1) la cooperación de dos sitios de coordinación de

los bis-imidazoles hacia los centros metálicos y 2) La interacción estérica con la cavidad que contiene los sitios de unión.



Figura 3. Selectividad del MIP´s usando (IDAE)-Cu²⁺ hacia varios derivados de bis-imidazoles.

Por otro lado, se ha informado la síntesis de MIP's utilizando iones metálicos como "pivotes" los cuales sirven como mediadores entre la molécula horma y el monómero funcional, esto genera MIP's con sitios de unión mejor formados. Lo que resulta en una mejor selectividad hacia la molécula horma respecto a un MIP sin utilizar un ion metálico. Estos trabajos utilizan la espectroscopia de absorción ultravioleta-visible (EUV) para confirmar la formación del complejo de pre-polimerización. Esta manera de síntesis del MIP presupone que se forma un complejo pre-organizado que contiene a todas las especies alrededor del metal y esto en muchos casos no es así, de ahí la gran divergencia de resultados y afinidades informados a este respecto. Como no se conoce la estructura del complejo en la mezcla de pre-polimerización y en el caso del ácido iminodiacético(*44-46*)es muy común encontrar mezclas complejas y polímeros de coordinación, esto da lugar a varios tipos de centro de unión con diferentes afinidades(*39, 47, 48*).

En los polímeros de impronta molecular la eficiencia en la capacidad de unión hacia la horma y la selectividad dependen de gran número de factores; la composición química es primordial, el tipo de interacciones, las condiciones de polimerización, el disolvente,
etc. La propia reacción de polimerización y grado de entrecruzamiento es un proceso complejo, ya que depende de factores interrelacionados. Entre los más importantes se cuentan los siguientes: formato de polimerización, tipo y concentración de monómero, entrecruzador, iniciador, temperatura de polimerización, tipo de iniciación, presión, volumen de mezcla de reacción de polimerización, tiempo de polimerización y disolventes utilizados (*49*), en las siguientes secciones se analizan algunos de estos factores.

4.2. FACTORES DE SÍNTESIS POLÍMEROS ESTAMPADOS

En este apartado se tratarán de forma general la síntesis de los MIP's y los factores que más influyen en la preparación, morfología y selectividad de éstos.

4.2.1. POLIMERIZACIÓN VÍA RADICALES LIBRES

El tipo de polimerización en la síntesis de MIP's es a través de la polimerización por radicales libres. En este tipo de polimerización el crecimiento de cadena por medio de radicales se usa un iniciador para producir la especie reactiva (R*) o centro reactivo.

I→R*

La polimerización ocurre por la propagación del centro reactivo mediante la adición de un gran número de moléculas de monómero en una reacción en cadena. La característica distintiva de la polimerización por crecimiento de cadena, es que el crecimiento del polímero sólo tiene lugar por la reacción de un monómero con el centro reactivo. El ejemplo más común de este tipo de polimerización es el de monómeros de vinilo; el proceso puede describirse como se muestra en la Figura 4.



Figura 4. Esquema del mecanismo de polimerización de monómeros vinílicos.

Cada molécula de monómero que se agrega al centro reactivo regenera el mismo. El crecimiento del polímero ocurre por las sucesivas adiciones de cientos o miles de moléculas de monómeros. El crecimiento del polímero cesa cuando el centro reactivo es destruido por una reacción apropiada dependiendo del tipo de centro reactivo y las condiciones de reacción particulares.

El mecanismo de polimerización por crecimiento de cadena produce moléculas de alto peso molecular en cualquier momento de la reacción. No existen moléculas de tamaño intermedio en la mezcla de reacción, sólo monómero, polímero de alto peso molecular e iniciador. El cambio que ocurre en función de la conversión (es decir, el tiempo de reacción) es el incremento del número de moléculas de polímero.

4.2.1.1. EFECTOS DE SUSTITUYENTES

El doble enlace carbono-carbono experimenta polimerización por iniciadores radicalarios. El enlace π de un monómero vinílico puede responder apropiadamente a iniciadores por rompimiento homolítico (dos radicales) o heterolítico (un anión y un catión) del enlace. Figura 5



Figura 5. Esquema del rompimiento heterolítico u homolítico de un enlace.

Los iniciadores radicalarios pueden llevar a cabo la polimerización casi con cualquier doble enlace carbono-carbono. Las especies radicalarias son neutras y no tienen requisitos estrictos para atacar al enlace π o para estabilizar el radical propagante. La estabilización por resonancia de los radicales propagantes ocurre con casi todos los sustituyentes, como se muestra en algunos ejemplos de la Figura 6.

De esta forma, casi todos los sustituyentes tienen la capacidad de estabilizar el radical propagante por deslocalización del radical sobre 2 ó más átomos.

Los radicales libres, se pueden generar empleando radiación de alta energía o por adición de un iniciador el cual, cuando se somete al calor, radiación electro-magnética o reacción química se lleva a cabo su disociación homolítica para formar radicales con más alta reactividad que los monómeros radicales. Sin embargo, la reactividad debe ser suficientemente baja para permitir que el iniciador radical reaccione con el monómero. Iniciadores azo- y peróxido con energías de enlace entre 105-170 kJ/mol, son particularmente útiles y comúnmente utilizados en los MIP.



Figura 6. Estabilización por resonancia de las especies propagantes del sistema (a) poli-acrilonitrilo, (b) poli-estireno y (c) cloruro de polivinilo.

4.2.1.2. PROPAGACIÓN

Un acarreador de cadena se forma de la reacción de un radical libre y una nueva unidad de monómero y la propagación ocurre rápidamente por adición de nuevos monómeros y produce cadenas primarias lineales.

$$RM_n^{\circ} + M \to RM_{n+1}^{\circ} \tag{1}$$

Con la velocidad de propagación dada por

$$v_P = k_P[M][M^\circ] \tag{2}$$

Donde $[M^{\circ}]$ representa la concentración del radical creciente. La reacción se puede seguir, determinando la desaparición del monómero.

4.2.1.3. SECUENCIA DE EVENTOS

1.

La polimerización por radicales es una reacción en cadena que consiste de una secuencia de 3 pasos: iniciación, propagación y terminación. El paso de iniciación involucra dos reacciones. La primera es la producción de radicales libres; el caso usual es la disociación homolítica del iniciador (I) para producir una par de radicales (R•).

$$I \xrightarrow{\kappa_d} 2R \cdot$$
 (3)

Donde K_d es la constante de velocidad para la disociación del catalizador. La segunda parte del proceso de iniciación involucra la adición de este radical a una molécula de monómero para producir la cadena radicálica iniciadora M₁•.

$$R \cdot + M \xrightarrow{\kappa_i} M_1 \cdot \tag{4}$$

Donde M representa una molécula de monómero y K_i es la constante de velocidad para el paso de iniciación.

La propagación consiste en el crecimiento de M₁• por la adición de un gran número (cientos o miles) de moléculas monoméricas de acuerdo a la Figura 4. Cada adición crea un nuevo radical que posee la misma identidad que el previamente descrito, excepto que éste es más grande por una unidad monomérica. Las adiciones sucesivas pueden representarse como se presenta en la Figura 7.

$$\begin{array}{c} M_{1}\cdot +M \stackrel{K_{p}}{\rightarrow} M_{2} \cdot \\ M_{2}\cdot +M \stackrel{K_{p}}{\rightarrow} M_{3} \cdot \\ M_{1}\cdot +M \stackrel{K_{p}}{\rightarrow} M_{2} \cdot \\ etc. \\ En \ t\acute{e}rminos \ generales \\ M_{n}\cdot +M \stackrel{K_{p}}{\rightarrow} M_{n+1} \cdot \end{array}$$

Figura 7. Esquema de adiciones sucesivas de monómero en una polimerización radicálica.

Donde K_p es la constante de velocidad de la propagación. El crecimiento de la cadena tiene lugar muy rápidamente. El valor de K_p para algunos monómeros está en el intervalo de 102-104 L mol⁻¹ s⁻¹. Este valor de constante es muy grande, mucho más grande que las constantes encontradas para la polimerización por etapas.

En algún punto, las cadenas de polímero detendrán el crecimiento. La terminación ocurre por la aniquilación de los centros reactivos debido a una reacción bimolecular entre radicales. Dos radicales reaccionan por combinación (acoplamiento) (Figura 8a) o raramente por desproporción, en la cual un radical hidrógeno que es β a un centro radical se transfiere a otro centro radical (Figura 8b). Esto resulta en la formación de dos moléculas de polímero, una saturada y una insaturada.



Figura 8. Mecanismos de terminación de una polimerización radicalaria.

4.2.2. COPOLIMERIZACIÓN

La gran mayoría de los MIP descritos a la fecha son copolímeros, *i.e.* polímeros formados por la incorporación de dos o más monómeros en el polímero. Los copolímeros obtenidos van a depender de la reactividad relativa de los monómeros Para polímeros vinílicos lineales estos son: (a) Copolímeros estadísticos, formados cuando los monómeros entran a la cadena de una manera estadística. (b) Copolímeros alternados, cuando las unidades monoméricas se alternan en las posiciones de la cadena. (c) Copolímeros en bloque, donde las unidades monoméricas se encuentran

separadas en largas secciones de la cadena polimérica principal; cada una de estas secciones se llama bloque.

Con la finalidad de predecir la formación de las estructuras poliméricas, la reactividad relativa de los monómeros debe ser estimada. En la Tabla 1 se esquematiza la cinética de reacción correspondiente.

-M ₁	+ -M ₁	k ₁₁	-M ₁₁
-M ₁	+ -M ₂	<u> </u>	-M ₁₂
-M2	+ -M ₂	k ₂₂	-M ₂₂
-M2	+ -M ₁	$\underline{k_{21}}$	-M ₂₁

Tabla 1.- Esquema de la cinética de reacción de copolimerización.

Donde k_{11} , k_{22} , k_{12} , k_{21} son las constantes de velocidad para las correspondientes reacciones de propagación entre un mismo monómero y cruzada. Las relaciones de reactividad, $r_1 = k_{11}/k_{22}$ y $r_2 = k_{22}/k_{21}$, dan información acerca de la tendencia de los monómeros para formar bloques o estructuras alternantes cuando se copolimerizan con otro monómero. Estas cantidades proporcionan la composición del polímero, si $r_1=r_2=1$, la copolimerización es considerada ideal y los monómeros serán incorporados al azar dentro del polímero. Cuando tanto r_1 y r_2 son grandes, una tendencia hacia la formación del polímero en bloque es la esperada, mientras que cuando los valores son pequeños, una tendencia alternante será la observada.

4.2.3. FORMATOS DE POLIMERIZACIÓN

En la síntesis de MIP's se han utilizado diversos métodos de polimerización. Se ha informado la influencia del método de polimerización empleado sobre la morfología del polímero obtenido; y, por lo tanto, la influencia sobre el reconocimiento de la molécula horma. Cacho, C. y colaboradores (*50*) emplearon dos formas de polimerización, en lote y por precipitación para la síntesis de MIP's utilizando como molécula horma la

propazina. Con este trabajo demostraron variación de las propiedades de reconocimiento (afinidad, capacidad, homogeneidad y selectividad) de los materiales obtenidos en función del método de polimerización utilizado. Varias han sido las metodologías de polimerización para la obtención de MIP's entre las que se cuentan las siguientes: lote, suspensión, emulsión, precipitación, entre otros. En la Tabla 2 se presentan alguno de los métodos de polimerización reportados en la bibliografía.

Método de polimerización	Morfología	Referencia
Lote	Agregados aleatorios de partículas irregulares (Proceso de molido y tamizado)	(19, 22)
Suspensión en agua	Partículas esféricas polidispersas	(22)
Suspensión en perfluorocarbono	Partículas esféricas polidispersas	(22)
Precipitación	Partículas esféricas polidispersas	(19, 22, 50)
Emulsión	Partículas mono dispersas	(19, 22)

Tabla 2.- Métodos de polimerización para obtener MIP's.

4.2.3.1. POLIMERIZACIÓN EN LOTE

El método más extendido en la síntesis de MIP´s es la polimerización en lote, debido a que es simple y rápido, adicionalmente, no requiere de instrumentación sofisticada.

Este método de polimerización consiste en la polimerización radicálica de una disolución concentrada de monómeros. Después de la polimerización, se obtiene un monolito de polímero insoluble que se tritura y tamiza hasta obtener partículas micrométricas amorfas. Sin embargo, esta metodología es poco eficiente debido a que es un proceso largo y puede reducir el rendimiento del polímero, alrededor de un 30 a 40% del material obtenido se puede usar. Por otro lado, el proceso de molienda da como resultado partículas irregulares en forma y tamaño y sobre todo, muchos de los sitios que cuando se formaron en el polímero como sitios de alta afinidad, después de los procesos de molienda se transforman en sitios de baja afinidad.

4.2.3.2. POLIMERIZACIÓN POR PRECIPITACIÓN

Recientemente, se ha informado de otro método de polimerización para la obtención de MIP's(22), el de precipitación, el cual consiste en emplear una mezcla de reactivos mucho más diluida al trabajar en exceso de disolvente, (< 5% p/v monómeros/disolvente (porógeno, definido en 4.2.6) como consecuencia, las cadenas poliméricas en formación no son capaces de ocupar el volumen total del disolvente, produciéndose una dispersión de partículas esféricas de polímero independientes en el seno de la disolución.

El número de trabajos que informan de la síntesis de MIP´ a través de la polimerización por precipitación es amplio y se han reportado para diversas moléculas hormas entre ellas a las FQ(51-55). En este método de polimerización se informa la reducción de los problemas que se han observado con el método de polimerización de lote mencionados en el apartado anterior(56, 57).

4.2.4. MONÓMEROS FUNCIONALES

La selección del monómero más adecuado se debe efectuar en función de las características y grupos funcionales de la molécula horma, con el que se pretende formar un complejo de pre-polimerización estable con interacciones fuertes, que den como resultado el aumento de la afinidad y selectividad de los sitios de unión en el MIP. Se han informado diversas metodologías para optimizar el diseño de MIP's.(58)

El monómero funcional más ampliamente utilizado para la síntesis de MIP's es el ácido metacrílico (MAA) debido a su capacidad de actuar como un donador y receptor de enlaces puentes de hidrógeno, así como, buena capacidad de interacciones iónicas(22).

En general los monómeros funcionales se pueden clasificar en función del tipo de interacción. Ya sea covalente o no covalente.

4.2.4.1. MONÓMEROS FUNCIONALES A TRAVÉS DE INTERACCIÓNES COVALENTES

En la Tabla 3 se esquematizan algunos monómeros funcionales utilizados en la impresión covalente en general son ésteres y amidas de ácido acrílico o metacrílico (59).

Monómero	Enlace covalente	Horma
H ₂ C OH	Ésteres de boronato	Dioles y carbohidratos
HO H ₂ C	Ésteres de ácido carboxílicos	Alcoholes
OH OH OH CH ₂	Acetales	Cetonas y aldehídos
H ₂ C OH	Iminas	Aminas

Tabla 3.- Monómeros funcionales impresión covalente.

4.2.4.2. MONÓMEROS FUNCIONALES A TRAVÉS DE INTERACCIÓNES NO COVALENTES

En la Tabla 4 se esquematizan algunos de los monómeros funcionales más frecuentemente utilizados en síntesis de MIP's no covalentes. Los monómeros funcionales utilizados en la impresión no covalente en general son monómeros de vinilo o acrilato, sus velocidades de polimerización son adecuadas para obtener copolímeros alternantes con la mayor parte de los entrecruzadores comunes (*59*).

Monómero	Interacción no covalente	Horma
	Puente de hidrógeno e interacciones electrostáticas	Aminas básicas y amidas
H ₂ C	Puente de hidrógeno e interacciones electrostáticas	Ácidos carboxílicos, alcoholes y amidas primarias y secundarias
	Puente de hidrógeno	Amidas, ésteres, alcoholes y aminas
H ₃ C NH ₂	Puente de hidrógeno	Amidas, ésteres, alcoholes, aminas y carboxilatos
CH ₂ O NH NH CF ₃ CF ₃ CF ₃	Puente de hidrógeno	Carboxilatos

Tabla 4.- Monómeros funcionales con interacciones no covalentes.

Las relaciones molares entre la molécula horma y el monómero funcional en el proceso de síntesis afecta la afinidad y la eficiencia en la generación de los sitios de reconocimiento en el MIP. Bajas relaciones molares suelen inducir pocos sitios de unión en los materiales, como resultado de un reducido número de agregados molécula horma-monómero funcional. Por el contrario, una alta relación molar puede producir sitios de unión no específicos, resultando en una disminución de la selectividad del polímero. Por esto es importante optimizar la relación molar entre el monómero, horma y entrecruzador(*60*).

Por lo tanto, es muy importante seleccionar el monómero adecuado con respecto a la molécula horma y la relación molar entre ellas. Ya que al optimizar la magnitud de las interacciones presentes en la mezcla de pre-polimerización se favorece la formación de

los sitios de unión en el MIP. Con la finalidad de conocer esta información se han evaluado las interacciones entre el monómero funcional y la molécula horma a través de varias estrategias, las cuales pueden ser 1) técnicas espectroscopicas como: resonancia magnética nuclear, NMR(*61-63*); espectroscopía de ultravioleta-visible, UV-vis(*39*); espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier, FT-IR(*64*) y 2) estudios de simulación en computadora(*65*).

Adicionalmente, otra estrategia para efectuar la sintesis de MIP's es caracterizar al complejo de pre-polimerización antes de efectuar la polimerización.

4.2.5. ENTRECRUZADORES

El agente entrecruzador juega un papel muy importante en las propiedades de reconocimiento de los MIP's. Los polímeros, son generalmente preparados con un alto porcentaje de agente entrecruzador, típicamente, entre 50 al 80 % del mismo. Estas altas relaciones son requeridas para mantener la integridad estructural de los sitios de reconocimiento. Aunque el primer objetivo del agente entrecruzador es formar una matriz rígida, éste, también cuenta con grupos que pueden participar directamente en el proceso de reconocimiento.

El etilenglicoldimetacrilato (EDGMA) y el divinilbenceno (DVB) Tabla 5, son los entrecruzantes más comúnmente utilizados en la obtención de polímeros estampados, ya que generan materiales que poseen estabilidad térmica y mecánica, con una rápida transferencia de masa y con aceptables propiedades de reconocimiento(*59*).

En trabajos acerca de la aplicación de los MIP's en cromatografía se ha encontrado que los polímeros estampados generados con EDGMA presentan factores de separación (α) superiores a los mostrados por los polímeros sintetizados por DVB(*66*).

En ese mismo sentido, se ha informado que entre los polímeros sintetizados con EGDMA y tetraetilglicoldimetracrilato (TEGDMA), los polímeros preparados con EDGMA presentan un mayor factor de impresión (IF), así como mejores capacidades

de unión (*67, 68*) en pruebas de retoma por lote. Las pruebas de retoma por lote se llevan a cabo a través de incubaciones en serie, donde una cantidad constante de polímero a evaluar se coloca en disoluciones crecientes de concentración conocida de molécula horma durante un periodo de tiempo necesario para alcanzar el equilibrio con la finalidad de conocer la cantidad unida de horma al polímero y la cantidad libre de horma en disolución.

Entrecruzante	Fórmula	
Divinilbenceno	H ₂ C	
Etilenglicoldimetacrilato	H_3C O H_2C CH_3 CH_2 CH_3	

Tabla 5.- Entrecruzadores más utilizados en la sintesis de MIP´s.

El factor de separación (α) está definido como la relación de los factores de capacidad de 2 sustancias cualquiera en la misma columna (k'_x / k'_y). El factor de capacidad (k') es calculada como (t_s - t_v)/ t_v donde los términos se refieren a los tiempos de retención de la muestra y tiempo muerto respectivamente. El IF se define como la relación de los factores de capacidad del MIP y NIP respecto a un mismo sustrato ($I = k_{MIP}/k_{NIP}$). El IF representa cuantas veces el sustrato se une al MIP respecto al NIP(69).

4.2.6. DISOLVENTE PORÓGENO

Los disolventes con la capacidad de generar poros dentro de los MIP's se definen como porógenos. Los poros representan una parte muy importante en la funcionalidad de los MIP's debido a que en función de su tamaño, las moléculas a reconocer pueden difundirse dentro del material. En la Figura 9 se muestra un esquema de la generación de la estructura porosa en un MIP. En los poros con diámetros menores a 20 Å, microporo, la difusión va a presentarse lenta debido a las fuerzas capilares. Dentro del núcleo existe una familia de poros muy pequeños (entre 50 y 150 Å) los cuales son responsables de la gran área superficial de estos materiales. Al incrementar el nivel de entrecruzante, el tamaño de poro promedio disminuye. Si la cantidad de porógeno se incrementa la cantidad de poros grandes entre los aglomerados de microesfera también aumenta(*16*).



Figura 9. Formación de la estructura porosa al sintetizar un MIP.

Adicionalmente, el disolvente porogénico juega un papel importante en el proceso de polimerización. No solo participa como un agente porogénico, sino que es el disolvente de los reactivos en el proceso de síntesis. El disolvente porógeno se elige en función de su capacidad para estabilizar el complejo de pre-polimerización. De esta manera la mayor parte de los trabajos hechos con MIP's no covalentes han elegido disolventes de baja constante dieléctrica, como cloroformo o tolueno para evitar interferencias en los

complejos pre-organizados basados en la formación de enlaces por puente de hidrógeno o fuerzas electrostáticas.

En el trabajo de Luliński y colaboradores(70) muestran la importancia del porógeno sobre la estructura del polímero así como en sus propiedades de reconocimiento molecular. Utilizando como monómero funcional al ácido metacrílico evalúan el efecto del porógeno. Los disolventes utilizados son los siguientes: cloroformo, tolueno-metanol (60-40 v/v) y metanol. Calculan las capacidades de unión de los polímeros en experimentos por lote a través de relacionar la concentración inicial y la concentración después del proceso de adsorción con una cantidad de polímero. Encuentran que la mayor capacidad de unión se presenta en el polímero preparado con cloroformo, mientras que la que presenta un menor valor fue el polímero preparado con metanol. Los resultados muestran que los disolventes (cloroformo y tolueno) no destruyen el complejo de pre-polimerización entre la molécula horma y el ácido metacrílico. Por otro lado, el metanol puede interactuar con el monómero funcional. El polímero sintetizado utilizando tolueno presenta poros de un tamaño de aproximadamente 200 nm de diámetro.

4.2.7. INICIADOR

El iniciador es el responsable del comienzo de la polimerización al introducir radicales en el sistema. Su elección depende de cuál sea el método de iniciación que se vaya a emplear, radiación ultravioleta o por acción del calor.

Los compuestos azo y peróxido con energías de enlace entre los 105 y 170 KJ mol⁻¹ son utilizados como iniciadores, ya que generan radicales libres cuya reactividad es suficientemente baja para reaccionar con el monómero.

Al trabajar con iniciadores de tipo azo, los radicales libres son generados a una temperatura que va de los 50 °C en adelante o bien mediante la radiación ultravioleta (UV) en la longitud de onda del máximo de absorción del mismo.

Uno de los iniciadores más comunes es el 2,2-azobis-isobutironitrilo (AIBN), la reacción de homólisis ocurre mediante la irradiación UV a λ_{max} = 345 nm, esto se puede lograr también mediante el calentamiento de la mezcla de reacción cerca de los 65°C.

En el caso de la polimerización con iniciación fotoquímica es necesario considerar la intensidad de la luz UV, la distancia de la fuente de luz y la profundidad de la penetración (la cual depende del coeficiente de extinción molar, ε , ya que estos parámetros determinan la velocidad de producción de radicales. Adicionalmente, la descomposición fotoquímica del AIBN permite que los materiales estampados puedan ser preparados a baja temperatura(*16*).

Los protocolos de impresión molecular, comúnmente empleados, consideran una cantidad de 1% p/p de AIBN, con respecto a la cantidad total de monómeros, la que se agrega a la mezcla de polimerización.

Por otro lado, el tipo y cantidad de iniciador(71) es un factor considerado en estudios sobre la influencia en la síntesis de MIP's. Se espera que los polímeros formados con altos porcentajes de iniciador resulten más rígidos, lo cual, aseguraría formas más definidas y mejor especificidad de las cavidades impresas en éste. Por otro lado, menores porcentajes de iniciador debería reducir la temperatura alcanzada dentro de la mezcla de polimerización. Sobre esto, destaca el estudio de Mijangos et al. (72) donde investiga el efecto sobre la síntesis de MIP's para (-) efedrina. Ellos utilizan dos tipos de iniciadores (1,1'azo-bis(ciclohexano-1-carbonitrilo) V 2.2-dimetoxi-2fenilacetofenona) y varian la cantidad usada de éstos. Concluyen que el tipo de iniciador tiene un efecto mínimo en el desempeño con respecto a otros factores como: tipo de iniciación, temperatura y tiempo de polimerización. Adicionalmente, encuentran que los materiales más rígidos se obtienen con altas concentraciones de iniciador y largos tiempo de polimerización, los cuales, son menos selectivos con respecto a los MIP's menos rígidos sintetizados usando una concentración menor de iniciador.

Por lo tanto, con el fin de obtener el mejor desempeño, los MIP's deben de prepararse como sea posible usando largos periodos de polimerización usando bajas concentraciones de iniciador a bajas temperaturas.

4.2.8. EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE SÍNTESIS DE POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE

Se ha informado que un elemento crucial para el éxito del proceso de impresión molecular es mantener la integridad del complejo preorganizado durante el proceso de polimerización. Algunos grupos de investigación han encontrado que la naturaleza de los equilibrios entre la molécula horma y el monómero funcional afectan las propiedades de reconocimiento de los polímeros.

También se ha demostrado mediante resonancia magnética nuclear (RMN) (*61*) que las interacciones no covalentes entre la molécula horma y los monómeros funcionales se mantienen por lo menos durante las etapas iniciales de la polimerización. El complejo horma-monómero funcional, su estabilidad, tipo y concentración dependen de las condiciones de polimerización; generalmente su formación sigue un control termodinámico y su energética puede describirse por la siguiente ecuación.

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{t+r} + \Delta G_r + \Delta G_h + \Delta G_{vib} + \sum \Delta G_p + \Delta G_{conf} + \Delta G_{vdW}$$
(5)

Donde los cambio de energía libre de Gibbs se representan como: ΔG_{bind} formación de complejos (preorganizados); ΔG_{t+r} translacional y rotacional; ΔG_r restricción de rotación tras la complejación; ΔG_h interacciones hidrofóbicas; ΔG_{vib} modos vibracionales residuales; $\sum \Delta G_p$ suma de interacciones de los grupos polares; ΔG_{conf} cambios conformacionales adversos e ΔG_{vdW} interacciones de van der Waals desfavorables. La ecuación (5) ofrece una descripción racional de los eventos a nivel molecular antes de la polimerización. Mientras el concepto general de impresión parece sencillo, las interacciones a nivel molecular involucradas están sujetas a muchos parámetros diferentes influenciando sus contribuciones relativas a las interacciones(*73*)

El efecto de la temperatura sobre las interacciones monómero-molécula horma y polímero-molécula horma no es sencilla. Temperaturas bajas favorecen la formación del complejo, debido a la reducción de los modos vibracionales residuales (ΔG_{vib}) y un incremento en fuerza de las interacciones polares ($\Sigma \Delta G_p$). Al mismo tiempo,

temperaturas más bajas pueden incrementar las contribuciones adversas de conformación (ΔG_{conf}) y las de van der Waals (ΔG_{vdW}) de acuerdo a la ecuación (5).

Sellegren et al, (*61*) hicieron experimentos de RMN los cuales demostraron que al disminuir la temperatura de polimerización se incrementa la concentración del complejo molécula horma-monómero en la pre-polimerización. La consecuencia es un incremento en el número de sitios específicos de enlace creados durante la polimerización comparado con el mismo polímero preparado a más alta temperatura. O'Shannessy et.al.,(*74*) estudiaron la síntesis de polímeros en un intervalo de 0 a 60°C usando azo-bis-nitrilos como iniciador térmico (60°C) o fotoiniciador (0°C). Los resultados mostraron que la impresión molecular a 0°C por homólisis del azo-bis-nitrilo incrementa de manera significativa la enantioselectividad y permite la separación de enantiómeros con respecto a la molécula impresa a temperatura ambiente o a 60°C.

Por otro lado, Osmani et al. (75) estudiaron el comportamiento de los complejos preorganizados y el efecto de la temperatura sobre la disolución de pre-polimerización. Los resultados que encontraron mostraron que a temperaturas bajas las interacciones del complejo se estabilizan mejor que a altas temperaturas. Otros artículos han reportado resultados similares. (72, 76) Sin embargo algunos estudios reportan resultados inesperados. Hosoya et.al (77) mostraron un efecto de mejor impresión para polímeros preparados a 70°C que el mismo polímero preparado a 0°C. Este resultado se explicó por la naturaleza inusual del sistema, donde la molécula horma, antraceno, se imprimió en un polímero de EDGMA sin monómero funcional adicional. Bajo estas circunstancias el balance en términos de la Ecuación (1) será diferente a la de las monómeros y plantillas cargadas o más polares, las cuales contienen una significativa contribución entrópica. El grupo de trabajo de Lu, (78) sintetizó tres polímeros a diferentes temperaturas de polimerización (10, 40 y 60° C) usando 3-L-fenilalanilamino piridina como molécula horma. Las propiedades de reconocimiento del polímero y la influencia de la carga de muestra sobre la selectividad del polímero se caracterizaron mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) en columnas preparadas con los MIPS sintetizados. Los resultados mostraron que el polímero preparado a 40 °C tiene la más alta enantioselectividad y la mayor capacidad de carga. Además se

analizaron las propiedades de los polímeros para evaluar el efecto de la temperatura de polimerización sobre el grado de polimerización y la morfología del polímero. Con base en estos resultados se concluyó que la más alta selectividad se obtuvo con el polímero preparado a 40 °C. En estas condiciones específicas de temperatura se asegura la estabilidad del complejo de preorganización y el más alto grado de polimerización. Es importante señalar que el grupo de trabajo concluye que la temperatura de polimerización óptima para los MIP depende de cada combinación de monómero-molécula horma.

Usualmente los MIPs, preparados utilizando interacciones electrostáticas en el complejo de pre-organización, estabilizan la molécula horma-monómero funcional a bajas temperaturas. Esto se debe a la mayor fuerza de las interacciones electrostáticas en bajas temperaturas. También es importante mencionar que la temperatura de polimerización afecta al proceso y la estructura del polímero e influye en la calidad y cantidad de sitios de reconocimiento. Por consiguiente, estos efectos se atribuyen al equilibrio que existe entre el grado de polimerización y la estabilización del complejo de preorganización. En términos generales se ha encontrado que en MIP´s no covalentes el número de sitios muestran constantes de adsorción mayores. (*78*) Las condiciones óptimas de la temperatura de polimerización se deben estudiar para cada combinación de molécula horma-monómero funcional.

4.2.9. EFECTO DEL TIEMPO DE POLIMERIZACIÓN SOBRE LA SINTESIS DE POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE

El tiempo óptimo para la formación de MIP ha sido menos estudiado que la cinética de la reacción de polimerización. Esto se explica, en alguna medida, por la dificultad en estudiar los procesos complejos involucrados en la formación de polímeros altamente entrecruzados y la formación del complejo de pre-polimerización entre el monómero funcional-molécula horma durante la reacción de polimerización(*79*).

Se considera, que independientemente del tipo de iniciación (UV o termo polimerización), al incrementar el tiempo de polimerización debe conducir a mayores grados de conversión en la reacción de polimerización. Los polímeros formados durante periodos prolongados de tiempo deben ser más rígidos debido a un mayor entrecruzamiento. Consecuentemente, esto debe garantizar cavidades de impresión con una forma más definida y una más alta especificidad de los MIP's sintetizados. Por otro lado, polímeros más rígidos podrían dificultar el intercambio de masa y tener cinéticas de unión lentas. El particular balance de rigidez de las cavidades de impresión contra la flexibilidad del polímero y adaptabilidad (un análogo del ajuste inducido en los receptores naturales y la enzima), aún es poco estudiado.

Para analizar el tiempo de polimerización sobre las habilidades de reconocimientos de los MIP. Piletska *et al.* (79), emplearon un sistema modelo de monómeros acrílicos que son estampados con efedrina usando iniciación térmica o UV. Estos experimentos se realizaron usando desde 20 min hasta 7 días de exposición. Los resultados indican que el tiempo de polimerización juega un papel importante en la determinación morfológica y desempeño de los materiales sintetizados. Incrementando el tiempo de polimerización se incrementa la rigidez de la estructura del polímero y facilita la formación de cavidades impresas con formas más definidas. La selectividad de la unión parece estar determinada por factores entrópicos resultantes del cambio en conformación del polímero producidos por la plantilla. El periodo inicial (fase de gelación) cuando se forman las cavidades parece ser el punto más crítico en la formación de cavidades impresas y determinantes en la selectividad del MIP.

4.3. FLUOROQUINOLONAS

4.3.1. ASPECTOS GENERALES

Las FQ's, son antibióticos sintéticos con un amplio espectro de actividad antibiótica contra bacterias gram-positivas y gram-negativas que actúan en la inhibición de ADN girasa y de la topoisomerasa IV.

El ácido nalidíxico, Figura 10, fue la primera quinolona utilizada clínicamente, a principios de los años 60's mostrando actividad contra la mayoría de las bacterias gram negativas, sin embargo, este compuesto presentaba una baja penetración intracelular y su farmacocinética sólo producía una adecuada concentración en las vías urinarias, por lo que su uso se limitó al tratamiento de infecciones urinarias sencillas(*80*). A partir de estas limitaciones se han desarrollado varias generaciones de este tipo de antibióticos. Entre las principales mejoras se cuentan la adición del átomo de flúor en la posición 6 y un anillo de piperazina en el carbono 7(*81*).



Figura 10.- Estructura del ácido nalidíxico.

4.3.2. FLUOROQUINOLONAS EN EL MEDIO AMBIENTE



Figura 11.- Estructura general de las 4-quinolonas

En la Figura 11 se muestra la estructura general de las fluoroquinolonas, éstas son utilizadas en forma muy amplia tanto en medicina humana como veterinaria. Sin embargo, este uso tan extendido ha provocado descontrol de éstos; lo que ha generado varios problemas entre ellos los relacionados con la seguridad alimentaria y medio ambiente.

El uso indebido y sin control de antibióticos en animales para consumo humano o productores de alimentos puede dar lugar a la permanecencia de residuos en los productos alimenticios obtenidos a partir de animales tratados. Los antibióticos además de ser usados para curar animales enfermos, también se han utilizado como promotores de crecimiento que tienen como finalidad la engorda del animal. Por esta razón, es posible encontrar residuos de antibióticos en animales enfermos y sanos.

Algunas consecuencias del uso no controlado de los antibióticos es la incidencia en diferentes aspectos relacionados con la seguridad y calidad alimentaria. Entre los que se cuentan los siguientes:

- 1. Pueden producir reacciones de hipersensibilidad en personas alérgicas.
- Incide en forma negativa en procesos de producción de alimentos, por ejemplo, en procesos de fermentación.
- La presencia de antibióticos puede ocultar la presencia de microorganismos patógenos en análisis de alimentos.

Con la finalidad de evitar los problemas por la presencia de antibióticos en los alimentos se han establecido limites máximos de residuos (LMR), lo cuales tienen como finalidad la protección del consumidor. Una vez fijado el límite máximo de un residuo, es necesario establecer en que momento, a partir de la aplicación de un producto veterinario, tanto el principio activo como sus metabolitos se han eliminado hasta encontrarse en un valor inferior al límite máximo establecido. Con base en lo anterior se fundamenta el uso del "periodo de restricción o periodo de retirada" que es el tiempo que debe trascurrir entre la última administración del fármaco y el sacrificio o recolección de los productos que se derivan de los animales tratados destinados al consumo humano. Debido a la problemática que origina la presencia de fluoroquinolonas en los alimentos se han desarrollado métodos analíticos para determinar y cuantificar a estos antibióticos en los alimentos(*12, 82*).

Además de lo expuesto hasta ahora con respecto a la problemática de fluoroquinolonas en alimentos, existe otro problema, el cual, es la incorporación al medio ambiente sin el debido control(*83*). Muchas de las sustancias empleadas en medicina veterinaria y humana son excretadas tal y como son ingeridas en un elevado porcentaje y junto con otras fuentes (aguas residuales de hospitales, inadecuado desecho) dan como resultado concentraciones de FQ's altas, por ejemplo, se ha informaron la presencia de quinolonas en concentraciones de mg/kg en muestras de excremento de animales(*84, 85*). Estos residuos de antibióticos pueden alcanzar suelos, asi como, aguas tanto subterráneas y superficiales.

Lo que ha resultado que las FQ's y su metabolitos(*86*) hayan sido identificados como contaminantes riesgosos y persistentes en agua, lodos, suelos y sedimentos(*87, 88*). La persistencia de agentes antibacterianos como la enrofloxacina, flumequina, y sarafloxacina puede ser un serio problema, por ejemplo, en los sedimentos marinos donde las concentraciones iniciales de esos compuestos permanecen casi intactos después de 180 días, mientras que los residuos en aguas más superficiales la depuración es más rápida(*89*).

4.3.3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El comportamiento de las FQ's es fuertemente afectado por sus propiedades fisicoquímicas, en particular, sus propiedades ácido-base, así como su capacidad de formar complejos de coordinación con iones metálicos.

4.3.3.1. CARÁCTER ÁCIDO-BASE

En general, las quinolonas son escasamente solubles en agua y la mayoría presentan carácter zwitteriónico, debido a la presencia de un ácido carboxílico y una amina en su estructura. Los valores de pKa para estos grupos funcionales están comprendidos entre 5.5-6.3 para los ácidos carboxílicos y 7.6-9.3 para el grupo amino. A pH ácido

tanto la amina como el ácido carboxílicos están protonados, dando a la molécula una carga global positiva. Por otro lado, a pH básico, la amina se encuentra en forma de base libre, mientras que el grupo carboxílico se encuentra en forma de anión carboxilato, dando a la molécula una carga neta negativa. Por este motivo, las quinolonas tienden a ser más solubles en agua a pH ácidos o básicos, con una solubilidad escasa a pH neutro (fisiológico); por ejemplo, el tosufloxacino presenta una solubilidad en agua a pH fisiológico de sólo 0.008 mg/mL(*80*).

Varios estudios sobre la disociación de las FQ's se han informado, para determinar los valores de pKa de estos antibióticos. Para lograr este objetivo se ha utilizado electroforesis capilar (EC), titulaciones potenciométricas, conductimétricas, espectroscópicas y cálculos teóricos(*90-93*).

En la Tabla 6 se muestran algunos de los valores de constantes de disociación de la enrofloxacina calculados a través de estas metodologías.

	pKa	Método
Enr	5.88 ± 0.03; 7.74 ± 0.03	EC*
	6.09 ± 0.01; 7.91 ± 0.05	EC-DAD**
	3.85 ± 0.30; 6.19 ± 0.18	Potenciométrica
	7.59 ± 0.25; 9.86 ± 0.30	
	5.86 ± 0.05; 8.24 ± 0.07	EC
	6.12 ± 0.05; 7.68 ± 0.42	UV/pH
	6.68; 7.87	Teórico

Tabla 6.-Valores de pKa de enrofloxacina.

*EC, electroforesis capilar

**EC-DAD, electroforesis capilar acoplado a detector de arreglo de diodos.

Para una FQ's con una estructura general como la mostrada en la Figura 12, dos sitios de protonación han sido identificados. En disolución, dicha molécula puede existir en cuatro formas de protonación microscópicas, dos de las micro especies son isómeros de protonación.



Figura 12.- Esquema de protonación de moléculas de FQ s.

Rusu *et al.* (94) señalan que diversos estudios efectuados para determinar las constantes de protonación difieren en los valores reportados así como en el número de sitios básicos en las FQ's. Por esta razón, presentan el análisis completo de los equilibrios de las FQ's siguientes: ciprofloxacina (Cip), Enr, norfloxacina (Nor), perfloxacina (Perf), ofloxacina (Oflo) y moxifloxacina (Moxi); así como, la identificación

inequívoca de los centros de protonación en esta clase de antibióticos, los cuales, han definido tres principalmente los cuales son: el grupo carboxilato, los nitrógenos, N-1 y N-4, del anillo piperazina; y, la concentración de micro especies no cargadas que están por debajo de los valores publicados. Se reportan los valores de las constantes de protonación obtenidas, los cuales, se presentan como macro y micro constantes. Las macro constantes son determinadas por titulaciones mediante RMN de ¹H, mientras que las micro constantes son determinadas por espectroscopía multimodal, en la cual, se sintetizan los derivados metil éster de las FQ's estudiadas y los datos de titulación de pH *vs* desplazamiento químico (δ) contribuyen a la evaluación de todas las micro constantes.

4.3.3.2. QUÍMICA DE COORDINACIÓN DE LAS QUINOLONAS

4.3.3.2.1. COMPLEJOS METÁLICOS DE QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS

La química de coordinación de las quinolonas y en particular de las fluoroquinolonas fue objeto de varias investigaciones a partir del descubrimiento de la reducción de la biodisponibilidad de estas en presencia de cationes multivalentes, esto fue atribuido a la interacción de este tipo de antibióticos con iones metálicos. El primer informe de este comportamiento fue en 1985 (*95*), donde se observó disminución en la absorción de las Q's al ser administradas vía oral, esto debido a que los antibióticos se administraron con antiácidos, los cuales, principalmente tienen los siguientes iones metálicos: Al³⁺, Mg²⁺, y Ca²⁺. El mismo efecto se observó con el uso de suplementos minerales, los cuales principalmente contienen Fe²⁺ y Zn²⁺, por ejemplo, Kara descubrió (*96*) la reducción de la biodisponibilidad de la ciprofloxacina como resultado de la formación de un complejo Fe³⁺-Cip, con una relación estequiométrica 1:3. Con base en lo anterior, se han propuesto diversos mecanismos para explicar la reducción de la biodisponibilidad de las Q's en presencia de iones metálicos(*97*). La primera hipótesis se atribuye a la

formación de complejos Q's-metal insolubles y/o no absorbibles en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, en un estudio *in vitro* de la permeabilidad de una FQ's a través de la mucosa intestinal en ausencia y presencia de iones metálicos (Ca²⁺, Mg²⁺ y Fe²⁺) se observó que las combinaciones fluoroquinolona-ion metálico resultan en una permeabilidad intestinal reducida con respecto a la fluoroquinolona, con lo que se concluye disminución de la biodisponibilidad(*98*).

El principal interés, debido a la actividad biológica de los complejos de FQ's con iones metálicos es identificar los grupos unidos al metal y establecer la estructura de los compuestos de coordinación formados. Esto ha derivado en un estudio muy amplio de la química de coordinación de las Q's y FQ's (*99-125*), incluyendo diversos métodos espectroscópicos(*126, 127*). Los diferentes autores coinciden que la coordinación de este grupo de antibióticos se lleva a cabo principalmente a través del átomo de oxígeno 3, perteneciente al carboxilato y al átomo de oxígeno del grupo 4–oxo. Por otro lado, la coordinación de las FQ's con iones metálicos a través de los nitrógenos del grupo piperazina es menos común. Figura 13c y 13d.



Figura 13.- Principales modos de coordinación de las Q´s y FQ´s.

Urbaniak y Kokot(*128*) han informado que los factores, tales como: número de ligantes, tipo de ion metálico y el número de grupos H^+ u OH^- en el complejo tienen una influencia significativa en la estabilidad de los complejos metálicos de las FQ´s.

En general, las Q's y FQ's en los complejos metálicos, pueden actuar como ligantes bidentados, sin embargo, se puede presentar la coordinación de manera monodentada y en puente. La coordinación de manera bidentada (Figura 13), la más frecuente, se lleva a cabo a través de uno de los átomos de oxígeno del grupo carboxilato y el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del anillo (13a). Otra forma de coordinación es a través de los dos oxígenos del grupo carboxilato, por ejemplo, en compuestos de coordinación de Nor con Co²⁺ y Fe³⁺ la coordinación con el centro metálico se presenta de esta manera(129) (13b). Otra manera de coordinación observada es a través del anillo piperazina, se ha informado, que esta manera de coordinación se presenta en complejos con la fórmula general [PtCl₂(L)] formada por los siguientes antibióticos: Cip, levofloxacina (Levo), Oflo, esparfloxacina (Espar) y (gatifloxacina) Gati con Pt²⁺(110)(12c). Finalmente, las Q's y FQ's pueden formar complejos actuando como un ligante monodentado coordinado al ion metálico a través del nitrógeno terminal del anillo piperazina. Este tipo de coordinación se ha observado en los complejos formados con algunos iones metálicos (Ag⁺, Au³⁺ y Ru³⁺) y Nor. Los complejos obtenidos son los $Ag(H-Nor)_2(NO_3)(130); Ag^+ y Au^{3+},$ Ag⁺; siguientes: $[Ag_2(Nor)_2](NO_3)_2$ y Ru³⁺, los complejos $[Au(Nor)_{2}(H_{2}O)_{2}]Cl_{3}(131);$ fórmula con la general Ru(L)₂Cl₃(DMSO)_m xH₂O (L: ácido pipemídico, enox, Enr, Cip, Nor, Oflo y Levo) se coordinan de manera descrita anteriormente (13d)(132, 133). En los complejos poliméricos en estado sólido presentan múltiples modos de coordinación simultáneos observados en la Figura 13(119).

Las Q's o FQ's, pueden unirse a cationes divalentes como (Mg²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ Fe²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ etc.), formando complejos con una relación estequiométrica metal ligando 1:1 o 1:2 o con cationes trivalentes (Al³⁺, Fe³⁺), formando complejos con una relaciones estequiométricas metal: ligando, de 1:1 a 1:3. Estequiometrias más altas 1:4 se encontraron en complejos con Bi³⁺. Por otro lado, en el sistema Cu²⁺-Cip se observó que el número de ligantes unidos al metal dependen del valor de pH. Por lo tanto, en la

región con un valor de pH más ácido, el complejo favorecido es el que tiene una relación estequiométrica metal ligando 1:1; mientras, que a pH más altos el complejo 1:2 es la principal especie (*101*).

En general las Q's y FQ's muestran una afinidad similar hacia los iones metálicos, respecto a su estado de oxidación, formando complejos de coordinación más estables con ácidos de Lewis más duros, en el sentido del concepto de dureza y blandura de Pearson, como los cationes trivalentes (Al^{3+} y Fe³⁺) y son menos estables con iones metálicos del grupo 2A (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+}). Por ejemplo, los valores de constante de formación de los complejos de Cip decrecen en el siguiente orden Al^{3+} >Fe³⁺>Cu²⁺>Zn²⁺>Mn²⁺>Mg²⁺(*134*).

La estabilidad de los complejos es grande en disolventes con baja constante dieléctrica y es dependiente del pH; la afinidad de la lomefloxacina por el Ca^{2+} y Mg^{2+} se reduce en el siguiente orden: anión> zwitteriónica >catión(*135*).

En este trabajo se utiliza el ligante Enr. Por esta razón, En la Tabla 7, se presentan algunos complejos con Enr, reportados en la literatura y obtenidos en estado sólido. El modo de coordinación de la Enr, en estos casos, es a través del oxígeno de piridino del anillo y el oxígeno del grupo carboxilato. Actuando como un ligante bidentado.

	lon metálico	Relación molar M:L	Fórmula general del complejo	Propiedades	Ref.
V M Enr Ni ²⁻¹ C U C	VO ²⁺	1:2	[VO(Enr) ₂ (H ₂ O) ₂]	Actividad antimicrobiana, unión DNA	(136)
	MO_{2}^{2+}	1:2	[MoO ₂ (Enr) ₂]	Actividad antimicrobiana, unión DNA	(137)
	$Mn^{2+} \\ Fe^{3+} \\ Co^{2+} \\ Ni^{2+} Zn^{2+} \\ Cd^{2+} \\ UO_2^{2+} \\ \end{bmatrix}$	1:2 M ²⁺ 1:3 Fe ³⁺	$\begin{array}{l} [Mn(Enr)_2(H_2O)_2] \\ [Fe(Enr)_3] \\ [Co(Enr)_2(H_2O)_2] \\ [Ni(Enr)_2(H_2O)_2] \\ [Zn(Enr)_2(H_2O)_2] \\ [Cd(Enr)_2(H_2O)_2] \\ [UO(Enr)_2] \end{array}$	Actividad antimicrobiana, unión DNA	(138)
	Cu ²⁺	1:2	[Cu(Enr) ₂]Cl	Actividad antimicrobiana	(139)
	Cu ²⁺	1:2	$[Cu(Enr)_2(H_2O)_2]$	-	(140)
	Ti ⁴⁺ , Y ³⁺ , Zr ⁴⁺ , Pd ²⁺ , Ce ⁴⁺	1:2 Ti ⁴⁺ 1:2 Zr ⁴⁺ 1:2 Y ³⁺ 1:2 Pd ²⁺ 1:2 Ce ⁴⁺	$ \begin{array}{l} [\text{Ti}(\text{Enr})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{SO}_4{\cdot}7\text{H}_2\text{O} \\ [\text{Y}(\text{Enr})_2(\text{H}_2\text{O})\text{CI}]{\cdot}9\text{H}_2\text{O} \\ [\text{ZrO}(\text{Enr})_2(\text{H}_2\text{O})]{\cdot}6\text{H}_2\text{O} \\ \text{Pd}(\text{Enr})_2(\text{H}_2\text{O})_2]{\cdot}4\text{H}_2\text{O} \\ [\text{Ce}(\text{Enr})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{SO}_4{\cdot}4\text{H}_2\text{O} \end{array} $	Actividad antibiótica	(141)

Tabla 7.-Algunos complejos de enrofloxacina.

4.3.3.2.2. COMPLEJOS MIXTOS DE QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS

Los compuestos de coordinación de las Q's y FQ's con ligantes mixtos se han estudiado principalmente por la posibilidad de que los compuestos de coordinación con ligantes mixtos muestran actividades biológicas mayores al antibiótico libre. El estudio de este tipo de compuestos hoy en día ha continuado debido a que este tipo de complejos mixtos pueden tener un uso importante en muchos campos, por ejemplo, contra el cáncer. El número de trabajos informados con respecto a este tipo de compuestos es muy amplio(*142*).

Entre estos, se encuentran los trabajos desarrollados en la síntesis de complejos de Q's FQ's con varios iones metálicos y utilizando bases de Lewis N-heterocíclicas como son: 1,10 fenantrolina, 2,2' bipiridina o histamina debido a que este tipo de complejos son utilizados para estudiar la afinidad hacia el DNA así como un aumento en la actividad antibiótica.

Mendoza, et al., reportó la síntesis del complejo de Cu²⁺ con cinoxacina (Cnx) e histamina, (hsm) (143). Con la finalidad de contribuir al conocimiento de la forma de de este tipo de antibióticos. ΕI complejo el actuar que reporta es [Cu(hsm)(cnx)NO₃]H₂O. La forma de coordinación de la cinoxacina actúa como un ligante bidentado coordinándose al ion metálico a través de los átomos de oxígeno 3carboxilato y 4-oxo. La estructura cristalina del complejo muestra que Cu²⁺ muestra una estructura de pirámide base cuadrada distorsionada.

Por otro lado, Mendoza, et al,(*113*) informa la síntesis de complejos mixtos de cobre con antibióticos de la familia de las Q's (cinoxacina y ácido oxolínico) y ligantes (N-N) (1,10 fenantrolina (Fen) y 2,2'bipiridina). Por ejemplo: [Cu(Fen)(Cnx)(H₂O)]NO₃·H₂O, Figura 14.



Figura 14.-Estructura molecular del complejo [Cu(Fen)(Cnx)(H₂O)]NO₃·H₂O

El grupo de Mendoza, (*112*) también estudia la síntesis de complejos mixtos de zinc con el ácido nalidíxico, (Nal); y, ligantes (N-N) (1,10 fenantrolina (Fen) y 2,2'bipiridina). En este estudio obtuvieron complejos del tipo $[Zn(N-N)(Nal)(X)] nH_2O$, X = nitrato o

cloruro. La estructura de los complejos muestra una geometría bipirámide trigonal y el modo de coordinarse del ácido nalidíxico es a través de los átomos de oxígeno 3-carboxilato y 4-oxo.

Gameiro, *et al.*(*144*) estudian la interacción de las FQ's Oflo y Nor con Cu²⁺ y fenantrolina. Determinaron las constantes de estabilidad de los complejos binarios y terciarios a través de estudios potenciométricos y espectroscopia de absorción ultravioleta visible. Las constantes de estabilidad de los complejos de norfloxacina (binario y terciario) fueron más altas con respecto a los complejos de ofloxacina. De los complejos de norfloxacina, el complejo terciario fue el que presentó constantes de estabilidad mayores, adicionalmente, con base a los diagramas de distribución fue la principal especie en disolución en un pH fisiológico, mostrando una buena actividad anti-bacterial.

En otro estudio, Hernández-Gil, *et al.* (*145*), reportan la síntesis de complejos de Cu²⁺ binarios y terciarios entre la Cip y Fen. Los complejos sintetizados fueron los siguientes: $[Cu(HCip)_2](NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (*a*), $[Cu(Fen)(Cip)]NO_3 \cdot 4H_2O$ (*b*) y $[Cu(Fen)(HCip)](NO_3)_2 \cdot H_2O$ (*c*). Como parte del trabajo de caracterización de los complejos, reportan la obtención de un cristal de la estructura (*b*) en la cual, la Cip actúa como ligante tridentado; el complejo, muestra un número de coordinación 5, presentando una estructura pirámide base cuadrada distorsionada alrededor del ion metálico. Los complejos terciarios (*b* y *c*) fueron evaluados en su capacidad nucleasa y mostraron una adecuada actividad en presencia de ascorbato.

Saraiva y colaboradores (*139*) reportan la síntesis de complejos mixtos en disolución acuosa en condiciones fisiológicas (concentraciones micromolares y pH = 7.4) entre la Enr y los siguientes iones metálicos: Cu^{2+} , Ni²⁺, Co²⁺ y Zn²⁺ con o sin Fen. Se obtuvieron complejos binarios y mixtos con todos los iones metálicos, sin embargo, en disolución solo los complejos con Cu²⁺ fueron estables. Los complejos obtenidos fueron los siguientes: $[Cu(Enr)_2]Cl y [Cu(Enr)(Fen)]Cl_2$. Los complejos y la Enr libre en dos cepas de *E. coli*. Los resultados mostraron que el complejo mixto presentó una actividad antibiótica equivalente a la Enr libre.

El grupo de Fernandes, *et al.* (*146*), reportan la síntesis del complejo mixto en disolución acuosa en condiciones fisiológicas (concentraciones micromolares y pH = 7.4) entre la lomefloxacina, (lmx); y Cu²⁺ en presencia o ausencia de Fen. El complejo obtenido es [Cu(lmx)(Fen)NO₃]·5H₂O. El complejo muestra un número de coordinación igual a cinco, presenta una estructura pirámide base cuadrada. Los complejos fueron evaludos en pruebas biológicas, las cuales consistieron en probar los complejos y la lomefloxacina libre en cepas de *E. coli*. Los resultados mostraron que el complejo mixto presentó una actividad antibiótica equivalente a la lmx libre.

Tarushi, *et al.* (*147*), informan de la síntesis de complejos mixtos de Zn^{2+} con flume, Oxo y Enr con los ligantes Fen y bipiridina (bipy). Los complejos obtenidos tienen las siguientes fórmulas generales: [Zn(Q's)(N-N)Cl] y con un exceso de Q's en una relación 2:1 ion metálico, la fórmula del complejo es la siguiente: [Zn(Q's)₂(N-N)]. El modo de coordinarse de las Q's en los complejos obtenidos es a través de los átomos de oxígeno 3-carboxilato y 4-oxo. Se obtuvieron las estructuras cristalinas de los complejos [Zn(Oxo)(Fen)Cl]·MeOH (*d*), [Zn(flume)(Fen)Cl]·0.5MeOH (*e*) y [Zn(flume)₂(Fen)]·2MeOH (*f*).

Las estructuras cristalinas de los complejos (*d*-*f*) presentan un número de coordinación cinco con una geometría de pirámide base cuadrada. En el caso de la estructura del complejo (*e*) se tienen dos moléculas independientes en una unidad asimétrica. Por otro lado, la estructura cristalina del complejo (*f*) presenta un número de coordinación seis con una geometría octaédrica distorsionada. Los complejos son evaluados en la capacidad de unión con el DNA del timo de becerro siendo los complejos [Zn(flume)(Fen)CI]·MeOH y [Zn(flume)₂(Fen)]·2MeOH los que presentaban mayor capacidad de unión. Adicionalmente, los complejos pueden desplazar al bromuro de etidio unido al DNA en experimentos de competencia.

Como parte de este trabajo de investigación, al ensayar las condiciones de síntesis de este tipo de complejos, se consiguió preparar y obtener la estructura de R-X del complejo de cobre (II) Enr y Fen. [Cu(Enr)(Fen)(H₂O)]NO₃ (*148*). La forma de coordinación del complejo es una estructura pirámide base cuadrada distorsionada alrededor del ion metálico.

4.4. POLÍMEROS ESTAMPADOS MOLECULARMENTE PARA FLUOROQUINOLONAS

La gran mayoría de los trabajos publicados acerca de los polímeros estampados molecularmente son a partir de la vía no covalente. Caro *et al.* (*149, 150*) informaron la síntesis de dos MIP's utilizando como plantilla a la CIP; y Enr. Estos polímeros fueron diseñados para extracción en fase sólida y aplicarlos en muestras de orina y tejido. Estos autores utilizaron como agente porogénico al diclorometano (DCM) a pesar de que el uso de este disolvente en la síntesis limita su uso directo en muestras biológicas. Lo hicieron así debido a que la mayor selectividad no es en disolventes polares y de otra forma no se obtenían materiales con la capacidad adecuada de hacer la extracción de las fluoroquinolonas en medios complejos.

Debido al interés que hay en obtener polímeros estampados con mayor selectividad por las fluoroquinolonas en diversas matrices. Se han sintetizado y estudiado diversas estrategias. Por otro lado, una dificultad muy importante como se ha mencionado es el utilizar los MIP's en disolventes polares.

Entre estas estrategias se encuentran los polímeros estampados monolíticos sintetizados generalmente dentro de una columna cromatrográfica. El método está basado en la preparación de la muestra a través de micro extracción con el MIP y el análisis de ésta a través de técnicas cromatográficas. El polímero sintetizado utilizando como monómero funcional, ácido metacrílico; entrecruzador, di(etilglicol)dimetacrilato (EDGMA); horma (perfloxacina) y usando como agente porogénico una mezcla de metanol-agua (10:3, v/v) es evaluado en el reconocimiento de cuatro FQ's en muestras de leche a través de HPLC con detección de fluorescencia (*151*). En el desarrollo de materiales con base en polímeros estampados monolíticos se han informado trabajos en donde se proponen mejoras a éstos. Li y colaboradores(*152*) informan la sintesis de un polímero monolítico. En el que usan como horma a la enrofloxacina y proponen el uso de agentes de acumulación (estireno) que favorecen la formación de los sitios de unión en los polímeros estampados. Los resultados muestran que los MIP's preparados utilizando estireno tienen mayor selectividad con respecto a los MIP's

monolíticos se puede llevar a cabo a través del proceso de polimerización (153). Los polímeros monolíticos presentan varias ventajas entre ellas que al no necesitar un proceso de molienda y cribado del polímero los sitios de unión formados en éste no son destruidos, sin embargo, estos polímeros presentan una gran heterogeneidad en los sitios de unión (154).

Otra alternativa para la preparación de MIP's para el reconocimiento de MIP's Los fluoroquinolonas la síntesis de estequiométricos. MIP's es estequiométricos(155) se basan en la estrategia de emplear una cantidad estequiométrica y una interacción fuerte entre el monómero funcional y la molécula horma. Esta estrategia se contrapone a la manera generalmente usada de emplear un exceso de monómero funcional con la finalidad de garantizar un complejo de prepolimerización fuerte. Sin embargo, la presencia de sitios de unión no específicos en el polímero estampado puede ser mayor.

Moreno-Bondi *et al.* (*51*) han informado la preparación de MIP's estequiométricos donde se utiliza como plantilla a la Enr y como monómero funcional a un derivado de la urea. Este polímero fue utilizado en pruebas de extracción en fase sólida, para efectuar una limpieza selectiva de FQ's en muestras ambientales de agua. Los recobros están alrededor de 66 %-100 % y la precisión en el intervalo de 2-12%, n=3 para las siguientes Q's y FQ's: danofloxacina, enrofloxacina, ácido oxolíinico y flumequina. Concluyen que la extracción selectiva de FQ's en muestras de agua ambientales se puede efectuar en niveles de ngL⁻¹.

Otra de las estrategias utilizadas para mejorar el desempeño de los MIP's y mejorar la funcionalidad de estos materiales en sistemas polares, especialmente en muestras donde se encuentra presente el agua. Ha sido el uso de disolventes polares en la síntesis de MIP's (*52-55, 151, 156-161*). Este proceso se efectúa bajo el principio de aprovechar el efecto de memoria en los MIP's. Adicionalmente, al uso de disolventes polares en la sintesis de MIP's (generalmente una mezcla de metanol: agua), se han realizado cambios en el tipo de monómeros utilizados, como el uso de monómeros con características hidrofílicas, el más utilizado, 2-hidroxi etil metacrilato (HEMA) o mezcla

de entrecruzadores (principalmente una mezcla de EDGMA con tri-metil-propano-trimetracrilato (TRIM) Figura 15).



Figura 15.- Monómero funcional y entrecruzador usado en polímeros preparados con disolventes polares.

En un trabajo reciente, Sun y colaboradores(*160*) han informado la preparación de MIP's usando como disolvente una mezcla de MeOH:H₂O, 1:9 v/v; utilizando como horma, 1 mmol de ofloxacina; monómero funcional, 10 mmol de MAA; y, entrecruzador, 15 mmol de TRIM. Los resultados obtenidos con estos polímeros en experimentos de extracción de fase sólida demostró la posibilidad de extraer en forma selectiva nueve Q's en muestras de orina(*160*). Por otro lado, Sun y colaboradores(*53*) preparan un polímero similar al anterior, sin embargo, varían al entrecruzador y la relación estequiométrica de la horma y del entrecruzador. Utilizan como horma, 2 mmol de ofloxacina; monómero funcional, 10 mmol de MAA; y, entrecruzador, 60 mmol de EDGMA, el disolvente utilizado es una mezcla de MeOH:H₂O, 1:9 v/v. Este polímero fue evaluado en muestras de suero y extrae en forma selectiva seis FQ's. Al comparar el límite de detección de las fluoroquinolonas en ambos polímeros se observa que el MIP sintetizado con EDGMA presenta niveles de detección menores.

Sin embargo aunque muchos de estos polímeros estampados muestran una buena selectividad hacia las FQ's en experimentos de extracción en fase sólida. Ésta depende en mucho de las características de los disolventes utilizados en el proceso de
extracción. Esto origina que la determinación de FQ's en muestras que se encuentren en disolventes polares sea todavía un reto por resolver(*162*).

Con la finalidad de aumentar la selectividad de los MIP's hacia una molécula plantilla, se ha estudiado el efecto de un centro de reconocimiento a través de un enlace de coordinación. Ya que éstos pueden aumentar la fuerza de unión entre el polímero y la horma resultando en un polímero más selectivo hacia la molécula de interés.

Qu y colaboradores (*163*) reportan la influencia del centro metálico de Fe³⁺ en el MIP sobre el reconocimiento de FQ´s. La molécula utilizada para participar en la síntesis de la horma es la ciprofloxacina; entrecruzador, EDGMA; y, como monómero funcional comparan el ácido itacónico (ITA) (Figura 16) respecto al ácido metacrílico.

Utilizan la presencia del ion de Fe³⁺ como un mediador entre el ácido itacónico y la ciprofloxacina (CIP-Fe³⁺-ITA). Teóricamente éste complejo se forma antes del proceso de polimerización, siendo verificado a través de un análisis de voltamperometría cíclica. Debido a que el ion Fe³⁺ es una especie electro activa, al momento de coordinarse con alguno de los ligantes provoca un desplazamiento negativo en el pico de potencial de reducción. Por lo tanto, un desplazamiento grande en el pico de potencial es un indicativo de una alta estabilidad del complejo. Con base en lo anterior, a través de esta técnica evalúan las disoluciones de Fe³⁺, ITA-Fe³⁺, CIP-Fe³⁺ y CIP-Fe³⁺-ITA. El resultado obtenido de la disolución de CIP-Fe³⁺-ITA muestra un desplazamiento mayor, con respecto a los compuestos con solo un ligante. Lo que correlaciona la presencia del complejo propuesto. Por otro lado, se efectúa un experimento similar con el ácido metacrílico. El resultado es el desplazamiento es menor respecto al obtenido al interaccionar con ITA por lo que concluyen que éste es menos estable respecto al compuesto CIP-Fe³⁺-ITA.



Figura 16.-Estructura del ácido itacónico.

El ácido itacónico al igual que el ácido metacrílico es un diácido y muy coordinante, por lo tanto, un inconveniente de utilizar este tipo de monómeros funcionales es que en el arreglo de los sitios de reconocimiento en el MIP debido al proceso de polimerización genere una gran cantidad de sitios de unión resultando en un MIP muy heterogéneo en función de sitios de unión. Por otro lado, la estructura de pre-polimerización no está claramente definida, ya que a través de los experimentos de voltamperometría se observa interacción entre el Fe³⁺ y los ligantes, pero no se garantiza la presencia del complejo terciario.

Los resultados obtenidos con los polímeros en donde se utilizó el compuesto CIP-Fe³⁺-ITA presentan ventajas con respecto a los materiales que utilizan en su preparación CIP-Fe³⁺-MAA y los polímeros sin la presencia de Fe³⁺. Las ventajas que se observan son mayor efecto de impresión y una mayor capacidad de adsorción específica por la molécula horma. Sin embargo, el polímero no solo es selectivo para la ciprofloxacina, la interacción propuesta es a través de los grupos 3 carboxilato y 4 oxo en la Cip y compuestos que tengan la posibilidad de una interacción similar pueden ser reconocidos por los polímeros preparados en este trabajo, como es el caso de la tetraciclina.

Lv y colaboradores (*37*) informan la síntesis del polímero de impresión para reconocimeinto de enrofloxacina en disolventes próticos. Para la preparación del MIP se utilizan los siguientes reactivos: horma, enrofloxacina; monómero funcional, 4-vinilpiridina; entrecruzador, EDGMA; y, acetato de cobalto (II). El agente porogénico utilizado en la preparación del MIP es metanol. La ruta de síntesis del polímero informado por Lv y colaboradores se muestra en la Figura 17.

73



Figura 17.- Esquema del proceso de impresión de la molécula Co(II)-Enr. (A) Enr, Co²⁺ y
 4 vinilpiridina forman en complejo de prepolimerización. (B) el complejo se fija usando un agente entrecruzante (EDGMA). (C) Imovilización del complejo en el material obtenido. (D) Sitios de reconocimiento que son selectivos para la molécula horma.

El MIP fue hecho a través de la copolimerización entre el compuesto 4-vinilpiridina-Co(II)-Enr. La cantidad utilizada de 4-vinilpiridina es de 1.6 mmol (0.2 mL), indicando que se obtiene un compuesto de coordinación, el cual, es confirmado a través de estudios de espectroscopia de UV-vis. Sin embargo, la comprobación del compuesto de coordinación se desarrollo a otras concentraciones, 4 órdenes de magnitud menores. La caracterización la llevan a cabo manteniendo una concentración fija entre Enr-Co(II) la cual fue de (0.1µmolmL⁻¹) mientras que se varia la concentración de 4vinilpiridina en un intervalo de (0 - 0.25 µmol mL⁻¹). Con base en lo anterior, no se puede garantizar que se tenga la estructura propuesta en la Figura 16. Debido a que no necesariamente se tiene un compuesto de coordinación mixto previo a la polimerización y que puede existir la presencia de otros compuestos de coordinación entre la Enr y el metal. Con la finalidad de comparar la influencia de la presencia del cobalto (II) se preparon otros dos polímeros: 1) sin cobalto (II) y 2) sin cobalto y sin Enr.

Por otro lado, el tipo de polimerización utilizada fue en lote. Una vez obtenido el polímero fue molido y cribado en un intervalo de tamaño de partícula entre 45 y 73 μm. Este tipo de proceso se ha informado que presenta el incoveniente de que los sitios de unión en el polímero son destruidos en estos procesos mecánicos, resultado poco conveniente respecto a otros tipos de polimerización como la polimerización por precipitación(*56*).

Para determinar la capacidad de unión de los polímeros preparados se realizaron pruebas de unión entre los polímeros (50 mg) con disoluciones de Enr en metanol en un rango de concentraciones de $(0.4 - 3.2 \,\mu\text{mol mL}^{-1})$. Los resultados obtenidos fueron ajustados al modelo de análisis Scatchard, ecuación 6, con él se estiman los siguientes parámetros de unión: K_d; constante de disociación; B, Cantidad de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; B_{max}, Cantidad máxima de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; [Enr], concentración de Enr libre, representado por el equilibrio:

Ecuación Scatchard: B/[Enr] =
$$(B_{max} - Q)/K_d$$
 (6)

Que representa el siguiente equilibrio:

Pol-Enr_(s)
$$\xrightarrow{K_d}$$
 Pol_(s) + Enr_(dis) (7)

 K_d tiene unidades de concentración y en un comportamiento ideal de un MIP, el valor de K_d debe ser pequeño para la molécula plantilla, lo cual indicaría una unión selectiva y fuerte hacia ésta.

Los valores ajustados a este modelo resultan en dos líneas rectas. Las cuales representan los grupos de sitios de reconocimiento en el polímero. Los cuales son sitios de alta afinidad y baja afinidad.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. MATERIALES

Enrofloxacina, Enr (98%,Fluka); Zn(NO₃)₂ 6H₂O (98%, Aldrich); Cu(NO₃)₂·3H₂O (98%, Aldrich); Ácido iminodiacético (IDA) (Aldrich, 98%); 4-(clorometil)estireno, 4-CME (90%, Aldrich); Terpiridina, Terp (98%, Aldrich); 1,10 fenantrolina (Fen) (Aldrich, 99%); CH₃CN (98%, Aldrich) Azabox y Aza-f fue sintetizada de acuerdo a lo informado por Raiser y Mayoral(*164, 165*); L-valina (Sigma-Aldrich, 98%); Borohidruro de sodio, NaBH₄, (Fluka, 99%); Iodo, I₂ (Sigma-Aldrich, 99.8%); Bromo, Br₂ (Sigma Aldrich, 99.5%); Cianuro de sodio, NaCN (Sigma-Aldrich, 97%); Trietilenamina, C₆H₁₅N (Sigma-Aldrich, 99%); Ácido p-toluensulfónico, C₇H₁₀SO₄ (Sigma-Aldrich, 98%); benzaldehído, C₇H₆O (Sigma-Aldrich, 99%); Bromuro de tetraetilamonio, C₈H₂₀NBr (Fluka, 99%); alcohol alílico (AA), C₃H₆O (98.5%, Aldrich); etilenglicoldimetacrilato (EDGMA), C₁₀H₁₄O₄ (98%, Aldrich), 2,2′ azo-bis-iso-butilnitrilo, C₈H₁₂N₄ (AIBN) (98% AKZO NOBEL); Hidróxido de sodio, NaOH (Sigma-Aldrich, 98%); Metanol, CH₃OH (Aldrich); Diclorometano, CH₂Cl₂ (Aldrich); THF, C₄H₈O (Aldrich); Benceno, C₆H₆, (Aldrich); Hexano, C₃H₁₄ (Sigma-Aldrich); acetato de etilo, C₄H₈O₂, (Sigma-Aldrich) H₂O tipo I, como disolventes.

5.2. EQUIPOS

Los espectros de infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR) se adquirieron en un equipo Perkin Elmer, modelo Spectrum RX I.

Para los espectros de RMN (13C CP-MAS) se usó un espectrómetro marca BRUKER modelo AVANCE-II 300, 300 MHz, empleando un probe CP-MAS de 4 mm con rango de frecuencias de 31P-15N. La temperatura de adquisición fue 25°C.

Para el estudio de la morfología de los polímeros se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) usando un equipo JEOL JSM-5900LV.

76

Los estudios de análisis elemental se ejecutaron en un analizador marca FISONS EA1108.

Para los estudios de espectroscopia de ultravioleta (UV) se utilizó el equipo Hewlett Pakard modelo 8453, con un controlador de temperatura Peltier modelo 8453.

El comportamiento térmico de las muestras fue analizado en un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Metler Toledo, modelo DSC821e. Las condiciones empleadas para el análisis son, de 1-10 mg de muestra se colocan en cápsulas de aluminio. Velocidad de calentamiento de 10°C/min, bajo atmósfera de nitrógeno en un intervalo de temperatura de 25-500°C. La calibración del flujo de calor se realiza con un estándar de In puro.

La determinación del exceso enantiómerico se detemina utilizando un cromatógrafo GO 5890 Serie II con detector de ionización a la llama y una columna cyclodex b, 30m x 0.25 mm x 0.25 μ m. Las condiciones experimentales son las siguientes: temperatura del detector = 250 °C; temperatura del inyector = 230 °C; gas portador = helio; presión en cabeza de columna = 20 psi y programa de temperatura: 125 °C (40 min.).

El estudio de difracción de rayos X del complejo $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O)]NO_3 \cdot (H_2O)_2$ se determinó a través de un difractrómetro Siemens P4, scan de corrección de absorción (XSCANS; Siemens, 1993) T_{min} = 0.8244, T_{max} = 0.8416, reflexiones colectadas = 9765 y reflexiones independientes = 8483. (Anexo I)

El estudio de difracción de rayos X del complejo $[Zn_3(Azabox)_5]NO_3$ se determinó a través de un difractrómetro Bruker Smart APEX AXS CCD area detector, en un modo de escaneo omega scan, reflexiones colectadas = 15571 y reflexiones independientes = 6714. (Anexo I)

5.3. SÍNTESIS DE LOS LIGANTES

5.3.1. SINTESIS DEL LIGANTE ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO (IDAE)

Se efectúo la síntesis del derivado del ácido iminodiacético (IDA) funcionalizado con estireno (IDAE), de acuerdo al método propuesto por Morris, L.R. *et al.* (*166*). Se prepara una disolución con (13.6 g, 0.1 mol) de ácido iminodiacético y (6.73 g, 0.165 mol) de NaOH en 200 mL de MeOH al 50% v/v, esta se calienta a 60°C y se le agrega gota a gota (15.65 mL, 0.1 mol) de 4-(clorometil) estireno (4-CME) con agitación. Este reactivo se agrega en dos partes, la mitad de 4-CME se agrega en el transcurso de 30 minutos, entonces se agrega otros 6.73 g de NaOH a la disolución. Se continúa con la adición del 4-CME y el calentamiento de la disolución hasta que la adición es completada.

El MeOH es destilado bajo vacío hasta que permanezcan dos terceras partes del volumen original. Se hacen extracciones con éter con la disolución. La fase acuosa se aparta y se acidifica con HCI hasta un pH de 2.5 presentando un precipitado el cual se filtra y seca al vacío. El rendimiento de la reacción es del 28%. La cantidad obtenida son (6.9728 g, 28 mmol). La caracterización del producto obtenido se lleva a cabo a través de: resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C, análisis elemental (AE), espectroscopía de infrarrojo (FTIR), espectroscopía de masas con ionización por impacto de electrones (EI⁺).

5.3.2. SINTESIS DE LOS LIGANTES 2,2' IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL] Y 2,2' IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL] FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO (AZA-F)

Los pasos de síntesis de los ligantes 2,2' imino-bis[(4S)-4-isopropil-4,5-dihidro-oxazol] (Azabox) y 2,2' imino-bis[(4S)-4-isopropil-4,5-dihidro-oxazol] funcionalizado con estireno (Aza-f) fueron sintetizados de acuerdo a lo informado por Raiser y Mayoral

(*164, 165*). La descripción de los pasos de la síntesis de Azabox y Aza-f se describe a continuación. La caracterización de cada uno de los productos de reacción no se hace completa, debido a que esta se encuentra informada en la bibliografía citada anteriormente. La caracterización de Azabox y Aza-f se hace de manera más extensa ya que Aza-f es el ligante utilizado en la síntesis de los polímeros.

5.3.2.1. SÍNTESIS DE (S)-VALINOL

A una disolución de (6.92 g, 181mmol) de NaBH₄ en THF, se le añaden (9.08 g, 76 mmol) de aminoácido L –valina. A continuación se lleva la disolución a 0°C y se añade (19.33 g, 76 mmol) de I_2 disueltos en 50 mL de THF durante 30 minutos.

Tras llevar la disolución a reflujo durante 18 horas se deja enfriar. A continuación se añade MeOH hasta que la turbidez de la disolución desaparezca y quede totalmente trasparente.

Una vez hecho esto se añade 150 mL de una disolución de KOH al 20% y se deja agitando durante 4 horas. La fase acuosa se extrae con CH_2CI_2 (3 x 150 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se concentra al vacío. La evaporación del disolvente da lugar a un sólido de color blanco que corresponde al aminoalcohol. El rendimiento de la reacción es de 98%. La cantidad obtenida del aminoalcohol es de (7.68 g, 74 mmol). En el siguiente paso de sintesis el aminoalcohol se utiliza sin mayor purificación. La caracterización del producto obtenido se hace a través de RMN de ¹H y ¹³C.

5.3.2.2. SÍNTESIS DE 2-AMINO-(4S)-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL.

A una disolución preparada con (1.7 mL, 33 mmol) de Br_2 en 40 mL de MeOH a 0°C, se le añaden, durante una hora (5.72 g, 33 mmol) de NaCN. A continuación se añaden (3.16 g, 30 mmol) de (*S*)-valinol disueltos en 7 mL de MeOH y se continúa agitando la

mezcla durante una hora a temperatura ambiente. Después, se trata la disolución con 15 mL de NH₄OH al 25% y se evapora la mayor parte del disolvente al vacío.

El residuo se disuelve en una disolución de NaOH al 20% para continuar con las extracciones empleando acetato de etilo (4 x 40 mL). La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro, el disolvente se evapora y el aminoalcohol se separa del residuo obtenido mediante recristalización en acetona. Se obtiene un rendimiento del 90%. La cantidad obtenida es (3.46 g. 27 mmol). La caracterización del producto obtenido se lleva acabo a través de RMN de ¹H y ¹³C.

5.3.2.3. SÍNTESIS DE 2,2'IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL] (AZABOX)

Una mezcla de aminooxazol (11 mmol, 1.41g), benzaldehído (5.5 mmol, 0.59 g) y ácido p-toluensulfónico (0.55 mmol, 104 mg) se lleva a reflujo por 22 horas usando un "Dean-Stark". Una vez transcurrido este tiempo el disolvente se evapora y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna de alúmina neutra utilizando como eluyente una mezcla de hexano/acetato de etilo = 1/1 y un 0.5 % en volumen de Et₃N, aumentando la polaridad hasta acetato de etilo puro. A continuación se realiza una cristalización en acetona. El rendimiento obtenido es de 60%. La cantidad obtenida es (0.79 g. 3.3 mmol). La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de RMN de ¹H y ¹³C, AE, FTIR y espectroscopía de masas modo FAB⁺.

5.3.2.4. FUNCIONALIZACIÓN CON ESTIRENO DE 2,2[°] IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL]

5.3.2.4.1. BROMACIÓN DEL REACTIVO 4-CLORO METIL ESTIRENO

En una mezcla de 15 mL de H₂O y 15 mL de benceno se agregan los siguientes reactivos: 1 g de 1 cloro metil-4-vinil benceno (6.55 mmol, 1.03 mL); bromuro de tetrametilamonio (3.25 mmol, 1.07 g) y NaBr (19.63 mmol, 2.04 g). La reacción se mantiene en reflujo por 48 h a 60°C.

El compuesto de interés se extrae con una mezcla de disolventes. Se agrega una disolución saturada de NaHCO₃; se extrae con CH_2CI_2 (40 mL x 3) y se agrega MgSO₄ para secar la fase orgánica.

Se hace una cromatografía de columna utilizando como fase estacionaria, silica gel; y, como fase móvil, hexano. Esta cromatrografía tiene como finalidad la obtención de las fracciones con mayor cantidad de producto 4-(bromometil) estireno (4-BME). Debido a que con la cromatrografía no es posible separar completamente el producto bromado del clorado. El rendimiento obtenido de 4-BME es del 63%. La cantidad obtenida es (0.81 g. 4.11 mmol). La caracterización del producto obtenido se efectúa a través de RMN ¹H y ¹³C.

5.3.2.4.2. REACCIÓN DE FUNCIONALIZACIÓN DE LIGANTE 2,2' IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL]

Una vez sintetizado el 4-BME, se procede con la reacción de funcionalización de la Azabox. La síntesis se lleva a cabo en una atmósfera inerte, con THF destilado. Se mezclan 7.5 equivalentes de Azabox (2.09 mmol, 0.5g), 8.5 equivalentes de n-butil-litio (2.37 mmol, 0.94 mL) y 8.5 equivalentes de 4-BME (2.37 mmol, 0.74g). Al momento de

adicionar el n-butil-litio la reacción se lleva a cabo a -76°C. La reacción se completa al cabo de 96 h a temperatura ambiente. El producto obtenido es evaporado a sequedad y redisuelto en metanol, la fracción disuelta es retirada y evaporada a sequedad. El rendimiento de la reacción es de 85%. La cantidad obtenida del ligante Aza-f fue (0.63g, 1.77 mmol). La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de RMN de ¹H y ¹³C, AE, FTIR y espectroscopía de masas modo FAB⁺.

5.4. SÍNTESIS DE COMPLEJO DE LIGANTES MIXTOS

5.4.1. SÍNTESIS DE Na[Cu(IDA)(Enr)]

En la síntesis del compuesto Na[Cu(IDA)(Enr)] se utilizó 1 mmol de Enr (0.37 g), al cual se le agregan 10 mL de H₂O y para desprotonar al ligante se agrega 1 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 10 mL de H₂O se agregan 1 mmol de IDA (0.14 g) y 2 mmol de NaOH 1M para desprotonar al ligante. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan; posteriormente, se agrega gota a gota una disolución acuosa de 1 mmol (0.25 g) de Cu(NO₃)₂, se deja reaccionar 12 horas hasta la formación de un precipitado azul. El precipitado es filtrado y lavado con etanol, finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 90% La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.52 g, 0.90 mmol) considerando la fórmula Na[Cu(IDA)(Enr)]. El producto de reacción es soluble en dimetilsulfóxido. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, espectroscopía de absorción atómica (EAA) y FTIR.

5.4.2. SÍNTESIS DE Na[Zn(IDA)(Enr)]

En la síntesis del compuesto Na[Zn(IDA)(Enr)] se utilizó 1 mmol de Enr (0.37 g), al cual se le agregan 10 mL de H₂O y para desprotonar al ligante se agrega 1 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 10 mL de H₂O se agregan 1 mmol de IDA (0.14 g) y 2 mmol de NaOH 1M para desprotonar al ligante. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se

agitan; posteriormente, se agrega gota a gota una disolución acuosa de 1 mmol (0.30 g) de Zn(NO₃)₂, se deja reaccionar 12 horas hasta la formación de un precipitado blanco. El precipitado es filtrado y lavado con etanol y finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 85 % La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.49 g, 0.85 mmol) considerando la fórmula Na[Zn(IDA)(Enr)]. El producto de reacción es poco soluble en metanol. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, EAA y FTIR.

5.4.3. SÍNTESIS DE Na[Cu(IDAE)(Enr)]

En la síntesis de este compuesto de ligantes mixtos se utilizó 1 mmol de Enr (0.37 g), al cual, se le agregan 10 mL de H₂O y para desprotonar al ligante se agrega 1 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 10 mL de H₂O se agregan 1 mmol de IDAE (0.31 g) y 2 mmol de NaOH para desprotonar al ligante. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan; posteriormente, se agrega gota a gota una disolución acuosa con 1 mmol (0.25 g) de Cu(NO₃)₂. Se deja reaccionar 12 horas formándose un precipitado azul. El precipitado es filtrado y lavado con etanol y finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 87 % La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.6 g, 0.87 mmol) considerando la fórmula Na[Cu(IDA)(Enr)]. El producto de reacción es soluble en metanol y dimetilsulfóxido . La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, EAA y FTIR.

5.4.4. SÍNTESIS DE Na[Zn(IDAE)(Enr)]

En la síntesis del compuesto Na[Zn(IDAE)(Enr)] se utilizó 1 mmol de Enr (0.37 g), al cual, se le agrega 10 mL de H₂O y para desprotonar al ligante se agrega 1 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 10 mL de H₂O se agregan 1 mmol de IDAE (0.31 g) y 2

83

mmol de NaOH 1M para desprotonar al ligante. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan; posteriormente, se agrega gota a gota una disolución acuosa con 1 mmol (0.30 g) de Zn(NO₃)₂. Se deja reaccionar 12 horas formándose un precipitado blanco. El precipitado es filtrado y lavado con etanol y finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 85 % La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.49 g, 0.85 mmol) considerando la fórmula Na[Zn(IDA)(Enr)]. El producto de reacción es poco soluble en metanol. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, EAA y FTIR.

5.4.5. SÍNTESIS DE [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

Para la síntesis de este compuesto se colocaron 0.25 mmol de Enr en 2 mL de H₂O, para desprotonar al ligante se agregan 0.25 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, a 6 mL de MeCN se le agregan 0.25 mmol de 1,10 fenantrolina. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan. Se agrega gota a gota una disolución de Cu(NO₃)₂ con 0.25 mmol disueltos en 2 mL de H₂O. Se deja reaccionar 12 horas originándose una disolución azul, a la cual, se le agrega una disolución de NaPF₆ (0.25 mmol, 0.043g) para la obtención de un precipitado azul. El precipitado es filtrado y lavado con H₂O y finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 97.2 % La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.19 g, 0.24 mmol). El producto de reacción es soluble en acetonitrilo, acetona y en una mezcla de MeCN/H₂O 70:30, MeOH y EtOH. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, FTIR, espectroscopía de masas modo FAB⁺ y difracción de rayos X.

5.4.6. SÍNTESIS DE [Cu(Terp)(Enr)]PF₆·(H₂O)₄

En la síntesis de este compuesto se colocaron 0.25 mmol (0.092 g) de Enr en 2 mL de H_2O y para desprotonar al ligante se agregan 0.25 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 6 mL de MeCN se agregan 0.25 mmol (0.06 g) de terpiridina. Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan. Se agrega gota a gota una disolución de Cu(NO₃)₂ con 0.25 mmol (0.062g) en 2 mL de H_2O . Se deja reaccionar 12 horas formándose una disolución azul, a la cual, se le agrega una disolución de NaPF₆ (0.25 mmol, 0.043g) para la obtención de un precipitado azul. El precipitado es filtrado y lavado con H_2O y finalmente se seca a temperatura ambiente en una cámara de vacío. El rendimiento de la reacción es de 87 % La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.19 g, 0.22 mmol). El producto de reacción es soluble en acetonitrilo, acetona y en una mezcla de MeCN/H₂O 70:30. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, FTIR, espectroscopía de masas modo FAB⁺.

5.4.7. SÍNTESIS DE [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

El objetivo de la síntesis de este compuesto es obtener un complejo de ligantes mixtos de la Azabox y Enr para lo cual se utilizaron 0.1045 mmol de Enr (0.038 g) en 2 mL de una disolución CH₃CN:H₂O 70:30 %v/v; para desprotonar al ligante se agrega 0.1045 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 7 mL de la disolución CH₃CN:H₂O 70:30 %v/v se agregan 0.1045 mmol de Azabox (0.03 g). Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan. Se agrega gota a gota una disolución de 0.1045 mmol (0.032 g) de Zn(NO₃)₂·6H₂O disueltos en 2 mL de H₂O. La disolución permanece sin presentar precipitado y al cabo de 10 días se obtienen cristales, los cuales fueron analizados por cristalografía de rayos X. La síntesis no resulto en el complejo esperado, se obtiene el complejo [Zn₃(Azabox)₅]NO₃ no encontrando presencia de Enr en éste. La cantidad obtenida de cristales es de (0.0125g, 0.009 mmol). El producto de la reacción es soluble en metanol. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de difracción de rayos X.

5.4.8. SÍNTESIS DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O

En la síntesis de este compuesto se colocaron 0.20 mmol de Enr (0.07 g) en una disolución de 2 mL de CH₃CN:H₂O 70:30 %v/v, para desprotonar al ligante se agregan 0.2028 mmol de NaOH 1M. Por otro lado, en 10 mL de la disolución CH₃CN:H₂O 70:30 % v/v se agregan 0.2028 mmol de Aza-f (0.09 g). Las disoluciones de los ligantes se mezclan y se agitan durante 5 minutos; después de esto, se agrega gota a gota una disolución de Zn(NO₃)₂ H₂O con 0.20 mmol (0.06 g) disuelto en 2 mL de H₂O. Se obtiene un precipitado blanco. El precipitado es evaporado, disuelto en metanol, filtrado y evaporado nuevamente a sequedad. El rendimiento de la reacción es de 80%. La cantidad de producto obtenido de esta reacción es de (0.14 g, 0.16 mmol). El producto de reacción es soluble en metanol. La caracterización del compuesto obtenido se lleva acabo a través de AE, EAA, RMN de ¹³C, FTIR y espectroscopía de masas modo FAB⁺.

5.5. POLIMERIZACIÓN

5.5.1. SÍNTESIS DE POLÍMEROS USANDO COMPLEJO Na[(IDAE)(Enr)], ENROFLOXACINA Y SIN HORMA

Se prepararon los siguientes copolímeros utilizando los monómeros: ácido metacrílico, MAA; y, estireno, ES. Como agente entrecruzador se utilizó el etilenglicoldimetacrilato, EDGMA, y al agente porogénico dimetilsulfóxido, DMSO. Los polímeros fueron sintetizados mediante la polimerización en lote y se emplearon dos condiciones estequiométricas entre el monómero y el entrecruzador. (a) 4:20 y (b) 0.5:23.5. Se estudiaron estas condiciones estequiométricas debido a que son las situaciones estándar de polimerización que se informan en la literatura para la síntesis de MIP's(*167*).

Para comparar el efecto de la presencia del enlace de coordinación se sintetizaron tres tipos de polímeros: Polímero Enr, se utilizó como horma a la Enr. Polímero complejo,

86

se utilizó como molécula horma Na[Cu(IDAE)(Enr)] y polímero blanco en el cual no se utiliza molécula horma.

Para sintetizar los polímeros utilizando el monómero MAA, se efectúo de la siguiente manera, para la relación molar 4:20 (monómero:entrecruzador). En tubos de ensaye de 20 mL los cuales contenían la siguiente mezcla de polimerización: MAA, 1.40 mmol, 0.12 mL; EDGMA, 7.04 mmol, 1.35 mL y 0.56 mL de DMSO. En el caso del polímero Enr se adicionó Enr, 0.352 mmol, 0.13g y en el caso de la síntesis del polimero complejo se agregó la molécula horma Na[Cu(IDAE)(Enr)], 0.352 mmol, 0.27g. Los tubos fueron sellados, sonicados y purgados con N₂ por 10 minutos. Estos se colocan en un baño de aceite a 60°C durante 12 h. Transcurrido ese tiempo, se rompen y se extraen los polímeros los cuales son molidos y lavados con EtOH y HCI. Finalmente son cribados por una malla con un tamaño de partícula de 32 μm.

Los polímeros con la relación estequiométrica 0.5:23.5 (monómero:entrecruzador) se sintetizaron de la misma manera que los anteriores, pero las cantidades empleadas de monómero funcional y entrecruzador fueron: MAA, 0.18 mmol, 0.015 mL; EDGMA, 8.27 mmol, 1.59 mL.

Para sintetizar los polímeros utilizando el monómero estireno (ES), se realizó lo siguiente:

Para los polímeros con las relaciones estequiométricas 4:20 (monómero:entrecruzador) se utilizaron tubos de ensaye de 20 mL los cuales contenía la mezcla de polimerización siguiente: ES, 0.79 mmol, 0.09 mL; EDGMA, 3.9 mmol, 0.75 mL y 0.28 mL de DMSO. En el caso del Polímero Enr se adicionó Enr, 0.20 mmol, 72.24 mg y en el caso de la síntesis del polimero complejo se agregó la molécula horma Na[Cu(IDAE)(Enr)], 0.20 mmol, 150 mg. Los tubos fueron sellados con septas, sonicados y purgados con N₂ por 10 minutos. Los tubos son colocados en un baño de aceite a 60°C durante 12 h. Transcurrido ese tiempo, los tubos de ensaye se rompen y se extraen los polímeros los cuales son molidos y se someten a un lavado con la finalidad de remover Enr, y los monómeros residuales, así como, los oligómeros, además de disolvente de polimerización, el AIBN o sus restos, etc. Se utiliza inicialmente EtOH para este

87

proceso, pero solo se remueve una cierta cantidad de Enr, debido a que mucha plantilla queda atrapada dentro de la matriz polimérica y mucho del disolvente es inaccesible a la Enr. Por esta razón, es necesario utilizar métodos diferentes para remover la mayor cantidad de plantilla del polímero con base en esto, se utilizó HCI para remover a la Enr. Finalmente los productos son secados y cribados por una malla con un tamaño de partícula de 32 μm.

Los polímeros con las relaciones estequiométricas 0.5:23.5 (monómero:entrecruzador) fueron sintetizados de la misma manera que los anteriores, con la diferencia de las cantidades de monómero y entrecruzador. Los cuales fueron: ES, 0.098 mmol, 0.012 mL; EDGMA, 4.63 mmol, 0.89 mL.

Adicionalmente, en el polímero donde se utilizó como plantilla al complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)], el tratamiento del polímero provoca la salida del metal presente en éste. Por lo que hay que restituir el cobre en el polímero; para efectuar esto, se agrega 800 μ L de una disolución 1M de Cu(NO₃)₂ en 10 mL de agua.

5.5.2. SÍNTESIS DE POLÍMEROS USANDO EL COMPLEJO [Zn(Enr)(Azaf)]NO₃·H₂O, ENROFLOXACINA Y SIN HORMA

Las proporciones estequiométricas utilizadas de monómeros e iniciador en la síntesis de los polímeros fueron las siguientes: AA, 4, EDGMA, 20; y, AIBN, 1.04; con respecto a la molécula plantilla, la cual es 1. Por lo tanto, se utilizaron las siguientes cantidades: (AA, 0.81 mmol, 0.05 g); (EDGMA, 4.06 mmol, 0.82 g) y (AIBN, 0.21 mmol, 0.04 g). Por otro lado, la molécula horma, la cual difiere respecto a cada polímero: MIPc, (complejo [Zn(Enr)(Aza-f)]NO₃ H₂O (Com) 232.7 mg, 0.203 mmol); MIPe, (Enr, 74.4 mg, 0.203 mmol); y, NIP, ninguna molécula plantilla. El disolvente porogénico utilizado es el metanol. Con éstas se efectúa la mezcla de reacción en un tubo de vidrio, al cual se sónica, sella con septas y purga con N₂ durante 10 minutos, transcurrido este tiempo, el tubo es colocado en un baño de agua a 10°C. La polimerización se inicia con una

lámpara de mercurio a λ = 365 nm, por 24 h. Al finalizar el proceso de síntesis de los polímeros, éstos se lavan en soxhlet usando primero CH₃OH y después CH₂Cl₂ durante 12 horas con cada disolvente con el fin de remover los residuos de monómeros no polimerizados.

Adicionalmente, MIPc, se hace reaccionar con una disolución de NaCN 0.2 M por 12 h, se enjuaga con varios volúmenes de H₂O; y, se regenera el centro metálico en el polímero agregando 25 mL de una disolución 0.06M de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$.

5.6. CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS

5.6.1. POLÍMEROS USANDO COMPLEJO Na[(IDAE)(Enr)], ENROFLOXACINA Y SIN HORMA

Una vez que los polímeros se encuentran lavados y en el caso del polímero sintetizado con el complejo de cobre, se le ha regenerado el centro metálico, se efectúan pruebas lote donde se evalúa la unión entre la enrofloxacina y los polímeros. En este método, la capacidad de unión de los polímeros con la Enr está directamente determinada en términos de cantidad de huésped unido a los polímeros. Para lo cual, a 0.3 g de polímero se le agregan 5 mL de una disolución de Enr en EtOH con una concentración de 0.02 M. Las mezclas se dejan reaccionar por 12 h. El polímero es removido de las mezclas; y, las concentraciones de Enr en la fase líquida son determinadas por espectroscopia de ultravioleta visible. La cantidad de Enr unida a los polímeros se determina por espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis) a λ = 323 nm. La curva patrón utilizada fue preparada en EtOH en un intervalo de concentración de Enr de 1.8x10⁻⁵ a 8 X10⁻⁵ M. Figura 18



Figura 18.-Curva patrón de Enr. λ = 323 nm.

5.6.2. POLIMEROS USANDO COMPLEJO [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O, ENROFLOXACINA Y SIN HORMA

Las técnicas utilizadas para la caracterización de los polímeros obtenidos fueron las siguientes: espectroscopía de infrarrojo, FTIR; resonancia magnética nuclear de sólidos, HPDEC MAS RMN. La morfología del polímero fue determinada a través de microscopía electrónica de barrido, SEM; Calorimetría diferencial de barrido, DSC; y, análisis elemental de polímero.

Por otro lado, una prueba importante para determinar la preservación del sitio de unión y demostar que la Aza-f permanece viable durante todo el proceso de síntesis de los MIP's se efectúa una prueba de actividad catalítica en una reacción de ciclopropanación asimétrica de estireno. La manera en como se lleva a cabo se describe a continuación. A una cantidad de polímero MIPc se le añade una disolución de triflato de cobre en 1 mL de CH₂Cl₂ seco. Esta mezcla se agita de 15 a 20 min y se filtra a través de un microfiltro. La disolución resultante se añade a una disolución de 5 mmol (520 mg) de estireno y 100 mg de n-decano (patrón interno) en 5 ml de CH₂Cl₂ seco, a temperatura ambiente y bajo atmósfera de argón. A continuación se le añade durante 2 horas, mediante una bomba de jeringa, una disolución de 2.5 mmol (290 mg) de diazoacetato de etilo en 0,5 ml de CH₂Cl₂ seco. La reacción se sigue por cromatografía de gases con una columna de separación quiral de ciclodextrina. Una vez que se ha consumido todo el diazoacetato de etilo por el mismo procedimiento. La reacción se da por finalizada cuando el pico correspondiente al diazoacetato de etilo no aparece en el cromatograma de gases.

Para determinar el exceso enantiomérico de los ciclopropanos mediante cromatografía de gases se utilizan las siguientes ecuaciones:

% e.e (cis) =
$$\left| \frac{\text{área enantiómero (1R,2S)-área enantiómero (1S,2R)}}{\text{área enantiómero (1R,2S)+área enantiómero (1S,2R)}} \right| * 100$$
 (8)

% e.e (trans) = $\left| \frac{\text{área enantiómero (1R,2R)-área enantiómero (1S,2S)}}{\text{área enantiómero (1R,2R)+área enantiómero (1S,2S)}} \right| 100$ (9)

5.6.2.1. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE UNIÓN DE LOS POLÍMEROS

5.6.2.1.1. ESTUDIOS CINÉTICOS

Para determinar la cinética de equilibrio de adsorción entre los polímeros sintetizados y la Enr, se prepararon una serie de 10 tubos Eppendorf en los cuales se colocó en cada uno 10 mg de polímero a evaluar, 1125 µL de una disolución de Enr 0.37 mM en

MeOH. Los tubos se colocan en un baño de agua a 10°C durante diferentes tiempos. (0, 5, 10,15, 20, 30 minutos). Las disoluciones resultantes, se filtran con membranas de 0.45 µm. El progreso de la adsorción se monitorea a través de espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis) a λ = 280 nm. La curva patrón utilizada fue preparada en MeOH en un intervalo de concentración de Enr de 1.0 x10⁻⁵ a 2.5 X10⁻⁵ M. Figura 19



Figura 19.-Curva patrón de Enr. λ = 280 nm.

5.6.2.1.2. ESTUDIOS DE AFINIDAD

La capacidad de unión de los MIP's y NIP, se evaluó en ambientes polares, a través de isotermas de adsorción. Para lo cual, en un tubo se colocaron 10 mg de MIP's o NIP más 1125 μ L de disolución de Enr en un intervalo de 0.0176 mM – 12 mM. El experimento se efectúa a 10°C durante 15 minutos. Trascurrido el tiempo, las disoluciones se filtran utilizando membranas millipore de 0.45 μ m. La concentración de sustrato fue determinada a través de UV-Vis, λ = 280 nm. Las concentraciones del sustrato se determinan antes y después de efectuar el experimento de adsorción. La

cantidad adsorbida por gramo de polímero fue obtenida a través del balance de la concentración de Enr.

El modelo empleado para cuantificar la unión Enr-polímero es el análisis Scatchard, ecuación 6, con él se estiman los siguientes parámetros de unión: K_d; constante de disociación; B, Cantidad de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; B_{max}, Cantidad máxima de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; [Enr], concentración de Enr libre, representado por el equilibrio:

Ecuación Scatchard: $B/[Enr] = (B_{max} - Q)/K_d$ (6)

Que representa el siguiente equilibrio:

Pol-Enr_(s)
$$\xrightarrow{K_d}$$
 Pol_(s) + Enr_(dis) (7)

K_d tiene unidades de concentración y en un comportamiento ideal de un MIP, el valor de K_d debe ser pequeño para la molécula plantilla, lo cual indicaría una unión selectiva y fuerte hacia ésta.

5.6.2.1.3. ESTUDIOS DE SELECTIVIDAD

Para comprobar la selectividad de MIPc por la Enr, se utilizaron otras dos fluoroquinolonas para comprobar la afinidad de MIPc por éstas. Las FQ's utilizadas fueron la ofloxacina y la flumequina.

El experimento se llevó a acabo adicionando 10 mg de polímero MIPc en tubos con 1125 μ L de una disolución de FQ[']s, en un intervalo de concentración que va de 0.02 mM a 0.65 mM. Las disoluciones se preparan en una mezcla de CH₃OH/H₂O 70:30 v:v. Éstas se incuban en la obscuridad a 25°C, al final de este tiempo, se centrifugan, filtran

y se determina la concentración final mediante UV. Las λ utilizadas fueron las siguientes: Enr, 280 nm; 338 nm, Flume; y, 298 nm, Oflo.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. SINTESIS DE LIGANTES FUNCIONALIZADOS CON ESTIRENO

6.1.1. SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO



Figura 20.- Síntesis del ácido iminodiacético funcionalizado con estireno (IDAE).

En la Figura 20 se esquematiza la síntesis del ácido imidiacético funcionalizado con estireno (IDAE), se siguió la metodología propuesta por Morris, L.R. et al(*166*). La síntesis se describe en la sección experimental 5.3.1. Los resultados de la caracterización se comentan a continuación.

6.1.1.1. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹H y ¹³C ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO

El ligante se caracterizó empleando RMN de ¹H y ¹³C. En los espectros obtenidos para el ligante IDAE se conservan señales características de los reactivos (IDA y 4-CME), sobre la Figura 21 se realiza la asignación.



Figura 21.- Espectros de ¹H y ¹³C ligante IDAE.

Se observan señales características de los reactivos. En el espectro de ¹H, es sencillo localizar las señales de metileno (– CH_2 -) que pertenecen al ácido iminodiacético en 3.78 ppm; así como las que pertenecen a la doble ligadura vinílica del 4-CME, localizadas en 5.86 y 5.30 ppm. Con el espectro de ¹³C se obtiene más información, la señal localizada en 59.2 ppm se asigna al carbono metilénico proveniente del 4-CME y unido al ácido iminodiacético Figura 21 (carbono 17). También es de mencionar la ausencia de señales en 30.67 ppm y 46.60 ppm pertenecientes a desplazamientos químicos de – CH_2 - del ácido iminodiacético y del 4-CME respectivamente, lo cual, es indicativo de ausencia de los reactivos en el producto obtenido.

En la Tabla 8 se presenta una comparación de los desplazamientos químicos δ en (ppm) entre los precursores IDA, 4-CME y el producto.

Tabla 8.- Desplazamientos químicos obtenidos en experimentos de RMN de ¹H y ¹³C para los precursores IDA, 4-CME y el producto, ligante IDAE, en CD₃OD.

Compuesto	¹ H	¹³ C				
REACTIVOS						
OH O OH OH	3.74 (s) -C H₂ -NH-	30.67 - C H₂-NH 170.01 - C OOH				
CH ₂ CI	4.45 (s) -C H₂ -Cl	46.60 - C H ₂ -Cl				
PRODUCTO						
CH ₂	3.78 (s)	55.63 - С Н ₂ -Ф				
	-С H ₂-Ф* 4.29 (s) -С H ₂-N	59.20 - C H ₂ -N				
		171.73 - С ООН				

* -Φ=Anillo aromático

¹**H RMN** (CD₃OD, δ ppm, 300 MHz): 7.47 ppm (d; J =8.9 Hz, 4H), 6.77 ppm (m, 1H), 5.82 ppm (m, 1H), 5.29 ppm (m, 1H), 4.29 ppm (s, 2H), 3.78 ppm (s, 4H).

¹³**C RMN** (CD₃OD, δ ppm, 300 MHz: 171.14, 151.15, 139.98, 137.67, 131.95, 127.60, 115.43, 59.23, 55.55)

Los resultados obtenidos, permiten concluir que la síntesis se realizó adecuadamente y se obtuvo el producto deseado.

6.1.1.2. ANALISIS ELEMENTAL ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO

Los resultados del análisis elemental efectuado al ligante IDAE se muestran en la Tabla 9. Los valores obtenidos experimentalmente se ajustan adecuadamente a los valores teóricos, El % de error calculado en los valores de AE y EAA se determinaron con respecto a la variación del valor experimental con respecto al valor teórico. Este resultado agrega evidencia en el sentido de que se obtuvo el ligante propuesto.

Tabla 9.- Análisis elemental ligante IDAE.

Compuesto	Teórico		Experimental			
Ligante IDAE	N%	C%	H%	N%	C%	H%
Valores	5.62	62.64	6.07	5.72	62.60	6.14
% Error				1.78%	0.06%	1.15%

6.1.1.3. ESPECTRO DE INFRARROJO DE ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO

Con la intención de completar la caracterización del producto de reacción entre el ácido iminodiacético y el 4-CME; se adquirieron los espectros FTIR, empleando pastillas con KBr, de los compuestos individuales y del producto de reacción. Los espectros se presentan en la Figura 22.



Figura 22.- Espectros de FTIR de 4-CME (espectro superior), IDA (espectro medio) y del producto obtenido (espectro inferior).

En el espectro FTIR del 4-CME se observan bandas correspondientes al anillo aromático en 3080 cm⁻¹, 1523 cm⁻¹, 850 cm⁻¹ y en la región de 1915-1820 cm⁻¹; estas bandas se atribuyen a vibraciones de tensión (v) de los C-H del anillo aromático (v_{C-H}), v_{C-C}, vibraciones de torsión (T) T_{C-H} y a los sobretonos que son característicos de una sustitución 1,4 del anillo, respectivamente. En el mismo espectro es importante señalar las bandas en 1630 cm⁻¹ y en 1405 cm⁻¹, que se atribuyen a v_{C=C} de un grupo vinílico conjugado con un anillo aromático y a δ_{CH2} del mismo grupo vinílico. La señal en 732 cm⁻¹, se atribuye a las v_{C-CI}.

Por otro lado, en el espectro del ácido iminodiacético se observan bandas en 1582 cm⁻¹ y en 699 cm⁻¹ correspondientes a vibraciones de deformación de tipo tijereteo (δ_{N-H}) y aleteo (ω_{N-H}) del enlace N-H de amina secundaria, respectivamente. Las señales en 1714 cm⁻¹ y 906 cm⁻¹ se asignaron al grupo carbonílico a v_{C=O} y T_{C-O}, respectivamente.

Finalmente el espectro del producto obtenido presenta bandas que provienen de precursores en 1714 cm⁻¹, 1523 cm⁻¹ y 1405 cm⁻¹ correspondientes a $v_{C=O}$, v_{C-C} de anillo aromático y δ_{CH2} del grupo vinílico, respectivamente. También es de notar que la banda en 733 cm⁻¹ del v_{C-CI} no se observa en el producto final; esto da indicio de que el 4-CME ha reaccionado con el IDA. Es de mencionar que la señal en 1405 cm⁻¹ nos corrobora la presencia de la doble ligadura en el producto final.

6.1.1.4. ESPECTROSCOPÍA DE MASAS ÁCIDO IMINODIACÉTICO FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO

En la Figura 23, se presentan los espectros de masas con ionización por impacto de electrones (EI⁺) de IDA y 4-CME, en los cuales se pueden observar las señales m/z características de estos reactivos y su correspondiente distribución isotópica. En el espectro del ligante IDAE se encuentran señales que pueden asignarse a estas mismas fracciones observadas en los reactivos. Sin embargo, el pico en m/z = 161 puede asignarse a la fracción donde el ácido iminodiacético se encuentra unido a dos carbonos, provenientes de la funcionalización con el 4-CME, adicionalmente, la distribución isotópica experimental es semejante a las calculadas. Este pico no aparece en el patrón de fragmentación de los reactivos de la reacción de síntesis (Figura 24).



Figura 23.- Patrones de fragmentación de los reactivos IDA (línea punteada) y 4-CME (línea continua).



Figura 24.- Comparación de la señal m/z = 161 entre el espectro de masas EI^{+} teórico (a) y el espectro de experimental (b).

6.1.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS LIGANTES AZABOX Y AZA-F



Figura 25.- Síntesis del ligante azabis(oxazolina) funcionalizada con estireno (Aza-f)

La ruta sintética seleccionada para la síntesis del ligante Aza-f, está ilustrada en la Figura 25. La reacción inicia con un aminoalcohol obtenido de un aminoácido. El siguiente paso es la obtención del aminodihidrooxazol correspondiente. Para ello el aminoalcohol se trata con una disolución de bromo en metanol y cianuro de sodio, en la que se propone la formación de una especie intermedia del tipo "BrCN" que reacciona con el aminoalcohol. La condensación del aminooxazol para dar la Azabox correspondiente se produce mediante la catálisis ácida. La reacción se lleva a cabo a reflujo en tolueno (*164, 165*).

6.1.2.1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE (S)-VALINOL



Figura 26.- Síntesis de (S)-valinol.

Las condiciones de síntesis empleadas para la obtención del valinol se presentan en la Figura 26 y se describen en la sección experimental 5.3.2.1. El producto obtenido es un polvo color blanco y los resultados de RMN de ¹H se presentan a continuación.

6.1.2.1.1. RMN DE ¹H DE (S)-VALINOL

La síntesis del valinol, a partir de la reducción de la valina con NaBH₄, Figura 27, se puede seguir a través de RMN de ¹H. Esto debido a la aparición de señales de protón, en 3.24 ppm, correspondientes a un metileno derivado de la reducción del grupo carbonilo. En la Figura 24, se presenta el espectro de ¹H y la asignación de señales del producto obtenido.



Figura 27.- Espectro de RMN de ¹H del valinol.

¹**H-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 3.55 (dd, 1H; J = 10.6 Hz, J= 3.7 Hz), 3.24 (dd, 1H; J = 10.6 Hz, J = 8.4 Hz), 2.49 (m, 4H), 1.54 (m, 1H), 0.89 (d, 3H; J = 3.0), 0.85 (d, 3H; J = 3.0)

En la Tabla 10 se presenta una comparación de los desplazamientos químicos, δ , entre la valina y el producto, valinol.

Tabla 10.- Desplazamientos químicos observados en los espectros de ¹H para la valina y el valinol en CDCl₃.

Compuesto	Desplazamiento químico en el espectro de RMN de ¹ H/ppm	
REACTIVO		
ОН ИН2	-С <u>Н</u> (NH ₂)СООН	
	3.6	
	-C <u>H</u> (CH ₃) ₂	
	2.3	
	-C <u>H</u> 3	
	1.00	
PRODUCTO		
	-С <u>Н</u> 2-ОН	
	3.5, 3.2	
он NH ₂	-C <u>H</u> (NH ₂)CH ₂ -	
	2.5	
	-C <u>H</u> (CH ₃) ₂	
	1.5	
	-C <u>H</u> ₃	
	0.85	

Con los resultados obtenidos, se comprueba que se obtuvo el producto deseado, valinol.

6.1.2.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 2 AMINO-(4S)-4-ISOPROPIL -4,5- DIHIDRO-OXAZOL



Figura 28.- Síntesis de aminooxazol

La reacción de ciclación del valinol para la obtención del aminooxazol, se presenta en la Figura 28 y fue descrita en la sección experimental 5.3.2.2. El producto obtenido es

un líquido viscoso color blanco. Los resultados de RMN de ¹H se presentan a continuación.

6.1.2.2.1. RMN DE ¹H DE 2 AMINO-(4S)-4-ISOPROPIL -4,5-DIHIDRO-OXAZOL

El avance de la reacción en la síntesis del aminooxazol se confirma a través de RMN de ¹H. Esto debido al desplazamiento a campo bajo de la señal del metino, cuando se transforma de un –**CH**(NH₂)- alifático (δ =2.50 ppm) a un metino del anillo del oxazol (4.21 ppm). El espectro de ¹H del producto obtenido, así como su asignación se presenta en la Figura 29.



Figura 29.- Síntesis de 2 amino-(4S)-4-isopropil-4,5 dihidro-oxazol.

¹**H-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 4.21 (dd, 1H; J = 6.09 Hz, J = 6.57 Hz), 3.88 (dd, 1H; J = 5.76 Hz, J = 5.82 Hz), 3.69 (ddd, 1H; J = 5.17 Hz, J = 5.73 Hz, J = 6.48 Hz), 1.57 (m, 1H), 0.88 (d, 3H; J = 6.7Hz), 0.80 (d, 3H, 6.7 Hz).

En la Tabla 11 se presenta una comparación de los desplazamientos químicos, δ entre el valinol y el producto, aminooxazol. Debido a la obtención de estos resultados se prosigue con la síntesis de azabis(oxazolina).

 Tabla 11.- Desplazamientos químicos observados en los espectros de ¹H para el valinol y el aminooxazol en CDCl₃.

Compuesto	Desplazamiento químico en el espectro de RMN de ¹ H/ppm			
REACTIVO				
ОН ИН2	-С <u>Н</u> 2-ОН			
	3.5, 3.2			
	-C <u>H</u> (NH ₂)CH ₂ -			
	2.5			
	-C <u>H(</u> CH ₃) ₂			
	1.5			
	-CH ₃			
	0.85			
PRODUCTO				
	-C <u>H</u> (N=)CH ₂ -			
	4.21			
	-CH2-O-			
	3.9, 3.7			
	$-CH(CH_3)_2$			
	1.6			
	-C <u>H</u> 3			
1112	0.9.0.8			

6.1.2.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE 2,2'IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL] (AZABOX)



Figura 30.- Síntesis de 2,2´ imino-bis[(4S)-4-isopropil-4,5-dihidro-oxazol. Azabox.

La síntesis del ligante Azabox, usando amino-oxazolina se presenta en la Figura 30 y fue descrita a detalle en la sección experimental 5.3.2.3 Se obtuvo un sólido amarillo y los resultados de la caracterización del producto se presentan a continuación.

6.1.2.3.1. RMN DE ¹H Y ¹³C DE 2 AMINO-(4S)-4-ISOPROPIL -4,5-DIHIDRO-OXAZOL. (AZABOX)

Se adquirieron espectros de RMN de ¹H y de ¹³C (Figura 31) del producto obtenido para asegurar la formación de la azabis(oxazolina). Sobre los espectros mostrados se presenta la asignación de las señales, la cual se encuentra reportada(*164*).


Figura 31.-Espectros de ¹H (a) y ¹³C (b) ligante Azabox

¹**H-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 4.38 (dd, 2H; J = 8.67Hz, J = 8.70 Hz), 4.05 (dd, 2H; J = 7.1 Hz, J = 8.6 Hz), 3.83 (ddd, 2H; J = 7.0 Hz, J = 7.1 Hz, J = 8.9 Hz), 1.71 (m, 2H), 0.99 (d, 6H; J = 6.2 Hz), 0.91 (d, 6H; J = 6.7 Hz).

 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl3, δ ppm 300 MHz): 165.75, 69.35, 65.44, 32.98, 18.63, 18.06

En la Tabla 12 se presenta una comparación de los desplazamientos químicos δ en (ppm) entre el precursor, aminooxazol, y el producto, la Azabox.

Tabla 12.- Desplazamientos químicos en experimentos de RMN¹H y ¹³C para el compuesto aminooxazol y la Azabox.

Compuesto	¹ H	¹³ C
REACTIV	0	
NH ₂	-C <u>H</u> (N)CH ₂ - 4.21 -C <u>H</u> 2-O- 3.9, 3.7 -C <u>H</u> (CH ₃) ₂ 1.6 -C <u>H</u> 3 0.9, 0.8	$= \underline{C}(NH_{2})O-160$ $-\underline{C}H(N=)CH_{2}-71$ $-\underline{C}H_{2}-O-69$ $-\underline{C}H(CH_{3})_{2}$ 32 $-\underline{C}H_{3}$ 20
PRODUC	ГО	T
	-C <u>H</u> ₂ -O- 4.4, 3.8 -C <u>H</u> (N)CH ₂ - 4.1 -C <u>H</u> (CH ₃) ₂ 1.7 -C <u>H</u> ₃ 1.0, 0.9	= <u>C</u> (NH)O- 165.8 - <u>C</u> H(N)CH ₂ - 69.4 - <u>C</u> H ₂ -O- 65.4 - <u>C</u> H(CH ₃) ₂ 32.9 - <u>C</u> H ₃ 18.6, 18.1

6.1.2.3.2. ANALISIS ELEMENTAL LIGANTE AZABOX

Los resultados del análisis elemental efectuado al ligante Azabox se muestran en la Tabla 13. Los valores obtenidos experimentalmente se ajustan adecuadamente a los valores teóricos. Este resultado agrega evidencia en el sentido de que se obtuvo el ligante propuesto.

Compuesto	Teórico			E	Experimenta	ıl
Ligante IDAE	N%	C%	H%	N%	C%	H%
Valores	17.57	60.21	8.85	17.23	61.11	8.69
% Error				1.94	1.49	1.81

Tabla 13.- Análisis elemental ligante Azabox.

6.1.2.3.3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS DEL LIGANTE AZABOX

Se efectuó el análisis de espectroscopia de masas FAB⁺ del ligante Azabox. Los resultados obtenidos experimentalmente (Figura 32) muestran que el patrón de fragmentación y la distribución isotópica corresponden adecuadamente al espectro teórico. El valor de m/z del ion molecular obtenido tiene un valor de m/z = 240, mientras que el valor teórico esperado es de m/z = 239.



Figura 32.- Espectro teórico del ligante Azabox (a) y espectro de masas FAB⁺ de ligante (b).

De los resultados obtenidos por el conjunto de técnicas seleccionadas (RMN de ¹H y ¹³C, espectroscopia de masas modo FAB⁺; AE y FTIR se puede concluir que se logró la síntesis del ligante Azabox.

6.1.2.4. FUNCIONALIZACIÓN CON ESTIRENO DEL LIGANTE AZABOX



Figura 33.- Esquema de reacción de la bromación del 4-CME.

Para funcionalizar el ligante Azabox se efectúa la reacción de bromación del 4-CME, esto se hace debido a que la velocidad de sustitución de los productos bromados es mucho mayor que la de los clorados. Ensayos preliminares mostraron que no se obtiene el producto si la reacción se hace directamente con el 4-CME.

La reacción de obtención del 4-BME, se presenta en la Figura 33 y fue descrita en la sección experimental 5.3.2.4.1. Se obtuvo un líquido viscoso transparente. Los resultados de la caracterización del producto se muestran a continuación.

6.1.2.4.1. RMN DE ¹H Y ¹³C DE 4-CME Y SU COMPUESTO BROMADO

Se adquirieron los espectros de RMN de ¹H y de ¹³C (Figura 34) del producto obtenido de la reacción de bromación del 4-CME. En ellos se puede observar señales de los productos de 4-CME y 4-BME debido a que la purificación del producto de reacción a través de la cromatrografía de columna no es óptima.

En el espectro de ¹H se observa un conjunto de señales en 7.32 ppm correspondientes a los protones del anillo aromático; en 6.66, 5.77 y 5.27 ppm se localizan los tres protones correspondientes a la doble ligadura vinílica, los resultados de la integral mostrados en la misma figura concuerdan con lo mencionado.

Debido a que la purificación del producto de reacción 4-CME no es completa se puede observar dos señales en 4.54 y 4.45 que corresponden al –CH₂- unido al halógeno –Cl y –Br respectivamente.

En el caso del espectro de ¹³C se observa la misma situación que en el experimento de ¹H. Las señales en 137.5 y 136.77 ppm se atribuyen a los carbonos cuaternarios del anillo aromático, la señal en 136.05 ppm corresponde al metino de la doble ligadura disponible, las señales en 128.7 y 126.88 ppm pertenecen a los –CH del anillo aromático, la señal en 114.4 ppm se atribuye -CH₂-.

Debido a que la purificación del producto de reacción 4-CME no es completa se puede observar dos señales en 45.92 y 30.74 que corresponden al –CH₂- unido al halógeno – Cl y –Br respectivamente.





Figura 34.-Espectros de 4-CME y compuesto bromado ¹H (a) y ¹³C (b)

¹**H-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 7.32 (m, 4H), 6.67 (m, 1H), 5,71 (d, 1H; J = 18.33 Hz), 5.27 (d, 1H; J = 12.21 Hz), 4.54 (s, 2H), 4.45 (s, 2H)

¹³**C-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 137.38, 136.81, 135.91, 128.53, 126.44, 114.45, 45.90, 30.75.

Con los resultados obtenidos se concluye que el método de purificación no permite obtener un producto puro, ya que se encuentra presente el 4-CME, es decir el producto de reacción existe tanto el reactivo y el producto. Empleando el espectro de ¹H se determinó que la mezcla contiene un 37 % del 4-CME y 63 % de 4-BME. La presencia de ambos compuestos en el producto ya ha sido estudiada. (*168*)

6.1.2.4.2. 2,2'IMINO-BIS[(4S)-4-ISOPROPIL-4,5-DIHIDRO-OXAZOL FUNCIONALIZADO CON ESTIRENO (AZA-F)



Figura 35.- Funcionalización con estireno de 2,2 *îmino-bis[(4S)-4-isopropil-*4,5-dihidro-oxazol].

En la Figura 35 se esquematiza la reacción de síntesis del ligante Aza-f, a partir de la funcionalización del ligante Azabox con el producto de la reacción que se muestra en la Figura 33. La reacción fue descrita en la sección experimental 5.3.2.4.2. Se obtuvo un sólido amarillo. Los resultados de la caracterización del producto se muestran a continuación.

6.1.2.4.2.1. RMN DE ¹H Y ¹³C LIGANTE AZA-F

En la Figura 36, se presentan los espectros de RMN de ¹H y ¹³C con su asignación del producto de reacción obtenido de la funcionalización con estireno de la Azabox.



Figura 36.- Espectros de Aza-f¹H (a) y ¹³C (b)

¹**H-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz) 7.37 (m, 4H), 6.68 (m, 1H), 5.79 (d, 1H; J = 17.7), 5.29 (d, 1H; J = 10.89 Hz), 4.90 (s, 2H), 4.44 (dd, 2H; J = 8.43 Hz, J = 8.04 Hz), 4.14 (dd, 2H; J = 7.47 Hz, J = 6.60 Hz), 3.76 (s, 2H), 1.85 (s, 2H), 0.88 (d, 6H; J = 7.11 Hz), 0.80 (d, 6H; J = 6.93 Hz).

¹³**C-RMN** (CDCl₃, δ ppm 300 MHz): 157.08, 137.21, 136.61, 136.45, 127.93, 125.98, 113.37, 71.29, 69.81, 52.62, 32.75, 18.55, 17.61.

Es de mencionar que el producto obtenido presenta impurezas. El compuesto es purificado con el objetivo de eliminar el exceso de 4-CME, el cual se consigue reducir hasta un 37%. Por otro lado, las señales más importantes, sobre todo en el espectro de ¹³C corresponden al Azabox funcionalizada. La señal más significativa que muestra la funcionalización de la Azabox es el metileno (-N–CH₂- Φ). Esta señal en el producto se localiza en 4.90 ppm en ¹H y 52.62 ppm en ¹³C.

En la Tabla 14 se presenta una comparación de los desplazamientos químicos (δ) entre los precursores, 4-BME, Azabox, y el producto, Aza-f. Los datos obtenidos por RMN de ¹H y ¹³C sugiere la obtención del Aza-f.

Compuesto	δ ¹ H/ ppm	δ ¹³ C/ppm
	REACTIVOS	
CH ₂	4.45 (s) -C H₂ -Cl	45.92 - C H ₂ -Cl
X X= Cl o Br	4.54 (s) -C H₂ -Br	30.74. - C H ₂ -Br

Tabla 14.- Desplazamientos químicos obtenidos en experimentos de RMN de ¹H y ¹³C para los precursores 4-BME, azabox y el producto, Azabox funcionalizada.

-C <u>H</u> ₂ -O- 4.4, 3.8 -C <u>H</u> (N)CH ₂ - 4.1 -C <u>H</u> (CH ₃) ₂ 1.7 -C <u>H</u> ₃ 1.0, 0.9	= <u>C(NH)O-</u> 165.8 - <u>C</u> H(N)CH ₂ - 69.4 - <u>C</u> H ₂ -O- 65.4 - <u>C</u> H(CH ₃) ₂ 32.9 - <u>C</u> H ₃ 18.6, 18.1
PRODUCTO	,
6.68 =С <u>Н</u> -Ф	157.08 = <u>C</u>(N)-O-
4.9 -C <u>H</u> 2-	136.6 = <mark>С</mark> Н-Ф
3.75 -C <u>H</u> ₂-O-	52.62 - <u>C</u> H ₂ -

* -Φ=Anillo aromático

6.1.2.4.2.2. ANALISIS ELEMENTAL LIGANTE AZA-F

En la Tabla 15 se presentan los resultados de análisis elemental (AE) obtenidos para el ligante Aza-f. Se observa una diferencia entre los valores experimentales y teóricos calculados que se atribuye a impurezas en el producto final.

Compuesto	Teórico			E	Experimenta	al
Ligante Aza-f	N%	C%	H%	N%	C%	H%
Valores	11.83	70.94	8.23	11.09	68.05	7.80
% Error				6.25	4.07	5.22

6.1.2.4.2.3. ESPECTRO DE INFRARROJO DE LIGANTE AZA-F

En la Figura 37 se muestran los espectros de FTIR que se adquirieron de los ligantes Azabox y Aza-f purificado.



Figura 37.- Espectros de FTIR del ligante Azabox (espectro superior), y del producto obtenido de la funcionalización con estireno (espectro inferior).

En el espectro FTIR del ligante azabox se distinguen las bandas en 1638 y1590 cm⁻¹ que corresponden a vibraciones del grupo imina ($\geq c=N-$)[149]. La banda en 765 cm⁻¹ se atribuye a las ω_{N-H} de la amina secundaria y la banda en 1071 cm⁻¹ corresponde a vibraciones de tensión C-O.

En el espectro del ligante funcionalizado es claro observar que las bandas señaladas en el párrafo anterior se mantienen, pero con un ligero desplazamiento excepto la banda que corresponde a la amina secundaria, esta banda desaparece lo cual es conforme a lo esperado, pues al funcionalizar el ligante Azabox, la amina secundaria es transformada en una amina terciaria. También es de mencionar la presencia de las bandas del anillo aromático en 825 y 728 cm⁻¹, correspondientes a vibraciones de deformación fuera del plano de los 2H vecinos del anillo aromático 1,4disustituido.(*169*)

6.1.2.4.2.4. ESPECTROSCOPIA DE MASAS LIGANTE AZA-F

Se efectuó el análisis de espectroscopia de masas FAB^+ del ligante Aza-f. Los resultados obtenidos experimentalmente (Figura 38) muestran que el patrón de fragmentación y la distribución isotópica corresponden adecuadamente al espectro teórico. El valor de m/z del ion molecular obtenido tiene un valor de m/z (FAB⁺): = 355, mientras que el valor teórico esperado es de m/z = 355.



Figura 38.- Espectro teórico del ligante Aza-f (a) Espectro experimental de masas FAB⁺ de Aza-f (b)

6.2. SÍNTESIS DE COMPLEJOS DE LIGANTES MIXTOS

Uno de los objetivos de este trabajo de investigación es la síntesis de complejos de coordinación de ligantes mixtos que puedan ser utilizados como molécula horma en la síntesis de MIP's. Este complejo debe estar completamente caracterizado con la finalidad de obtener un MIP con mejores sitios de reconocimiento. Estos sitios mejor formados serán creados en el proceso de síntesis de MIP's de pre-organización.

Por esta razón, con los ligantes previamente sintetizados y caracterizados se efectúa el estudio de las condiciones de síntesis de complejos de ligantes mixtos entre estos ligantes y la enrofloxacina con diversos metales.

A continuación se describe los resultados obtenidos en la síntesis de estos complejos de coordinación.

6.2.1. COMPLEJOS SINTETIZADOS CON LIGANTE IDA



Figura 39.- Esquema de síntesis de complejos mixtos. Ligantes IDA: Enr: M²⁺. Relación estequiométrica 1:1:1.

Como primer paso se hizo la síntesis de los complejos con ligantes mixtos a partir del IDA y la Enr, utilizando Cu^{2+} y Zn^{2+} (Figura 39). Las reacciones fueron descritas en las secciónes 5.4.1 y 5.4.2. Esto se hizo considerando que la estructura simétrica del ligante favorecería la obtención de un monocristal y a su vez la caracterización de este tipo de compuestos. Sin embargo, no se encontraron las condiciones adecuadas para la obtención de un monocristal de estos compuestos de coordinación.

En ese sentido, se ha informado en la bibliografía la obtención de varios complejos con ácido iminodiacético; estos pueden ser muy variados en función del valor de pH del medio de reacción, y las relaciones molares de los reactivos. Muchos de estos complejos son poliméricos y muestran estructuras en cadenas con ordenamientos en una, dos o tres dimensiones(*45, 46*). Los resultados obtenidos están acorde con lo informado en la literatura.

6.2.2. COMPLEJO Na[Cu(Enr)(IDAE)]



Figura 40.- Esquema de síntesis de complejos con IDAE:Enr:M²⁺, relación estequiométrica 1:1:1.

La reacción de obtención de los complejos de ligantes mixtos con el ligante IDAE, Enr y utilizando Cu²⁺ y Zn²⁺ se efectuaron siguiendo la síntesis mostrada en la (Figura 40). Las reacciones fueron descritas en las secciónes 5.4.3 y 5.4.4.

El compuesto de Zn²⁺ sintetizado con el ligante IDAE no pudo ser caracterizado. Los resultados de AE y EAA presentan un % de error mayor al 10% entre los valores teóricos y experimentales. Por otro lado, los resultados de FTIR no son concluyentes debido a que aunque en los espectros obtenidos se presentan las bandas características de ambos ligantes, éstos no proporcionan evidencia de tener un complejo mixto. Este resultado se explica de manera similar al comportamiento observado en los compuestos con ligante IDA.

Por otro lado, el compuesto de Cu²⁺ con los ligantes IDAE y Enr se obtuvó un sólido azul el cual, con los resultados de AE, EAA y FTIR se puede proponer la siguiente estructura del compuesto de coordinación siguiente: Na[Cu(IDAE)(Enr)]. Los resultados de la caracterización se comentan a continuación.

122

6.2.2.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO Na[Cu(IDAE)(Enr)]

6.2.2.1.1. ANALISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATOMICA DE Na[Cu(IDAE)(Enr)]

Los valores experimentales obtenidos de AE y EAA se muestran en la Tabla 16, éstos concuerdan adecuadamente con los valores teóricos de la estructura propuesta.

Compuesto Teóricos				Teóricos				
Na[Cu(IDAE)(Enr)]	С	Н	N	Cu	С	Н	N	Cu
Valores	55.52	4.95	8.09	9.18	54.56	5.05	8.85	8.62
% de error					1.73	2.02	6.24	6.10

Tabla 16.- Resultados AE y EAA complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)].

6.2.2.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO DEL COMPLEJO Na[Cu(IDAE)(Enr)]

En los espectros de FTIR del producto obtenido, se observan bandas características de ambos ligantes. En la Figura 41, se presentan los espectros de los precursores y el del complejo mixto propuesto. Como se puede observar, el espectro del complejo mixto sintetizado no presentan la banda entre 1733-1715 cm⁻¹ encontrada en sus precursores, atribuida a las vibraciones de tensión del C=O ($v_{C=O}$) del grupo carboxílico. En el producto se observan dos bandas anchas, una entre 1720-1620 cm⁻¹ y otra en 1380 cm⁻¹ que se atribuyen a la formación de un enlace de coordinación de C-O- con Cu²⁺. Otra banda que se conserva de la Enr es la que se localiza en 1257 cm⁻¹ y corresponde a v_{C-F} .

Esto apoya la formación del complejo y que la coordinación de la Enr se lleva a cabo a través del átomo de oxígeno 3 perteneciente al carboxilato y al átomo de oxígeno del grupo 4-oxo. (*100, 101*).



Figura 41.- Espectros de FTIR de los ligantes Enr, IDAE y complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)]

Con base a nuestros resultados, la síntesis de complejos de ligantes mixtos entre los ligantes IDAE y Enr no se ve muy favorecida, debido a que la enrofloxacina es un ligante de naturaleza zwitteriónica (*90-92*), influido por el pH del medio de reacción. Esto favorece mezclas complejas que no son convenientes para ser utilizados como hormas en la síntesis de MIPs con centro metálico. Por esta razón, nos dimos a la tarea de buscar ligantes que pudieran cumplir con las condiciones para ser utilizados en la síntesis de complejos de ligantes mixtos para ser utilizados como moléculas hormas en la síntesis de MIP's.

El ligante propuesto para efecturar el complejo de ligantes mixtos que pudiera cumplir con las condiciones para la síntesis de polímeros estampados, fue la azabis(oxazolina) (Azabox) funcionalizada con estireno (Aza-f).

Sin embargo, los primeros ensayos para la síntesis de complejos mixtos se efectuaron con ligantes que presentaran un comportamiento similar en cuanto a química de coordinación con respecto a la Azabox y pudieran ser adquiridos comercialmente. Los ligantes escoguidos para esta tarea fueron la 1,10 fenantrolina (Fen) y terpiridina (Ter). Éstos fueron utilizados en los ensayos para definir las condiciones experimentales de síntesis de complejos entre la enrofloxacina y Cu²⁺.

6.2.3. COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

6.2.3.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O



Figura 42.- Esquema de síntesis del complejo [Cu (Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

Se realizó la síntesis del complejo de ligantes mixtos de Cu²⁺, Enr y 1,10 fenantrolina, Figura 42, La reacción fueron descritas en las secciónes 5.4.5. Se ensayaron diferentes condiciones de síntesis reportados por diferentes grupos de investigación para sistemas similares (*103, 125*). Las primeras pruebas efectuadas en la síntesis del complejo se utilizó una relación H₂O-MeCN 40:60 v/v como disolvente de síntesis, finalmente, se seleccionó la mezcla de H₂O-MeCN con una relación 30:70 v/v para la síntesis de los complejos, debido a que mostró un mejor síntesis de los compuestos.

Por otro lado, el compuesto de Cu²⁺ con los ligantes 1,10 fenantrolina y enrofloxacina se obtuvó un sólido azul Los resultados de la caracterización se comentan a continuación.

6.2.3.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DEL COMPLEJO [Cu (Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

Los valores experimentales obtenidos de AE y EAA se muestran en la Tabla 17, éstos concuerdan adecuadamente con los valores teóricos de la estructura propuesta.

Compuesto	Teóricos			E	Experir	nental		
[Cu(Fen)(Enr)(H ₂ O)]PF ₆ ·H ₂ O	C H N Cu			С	H	Ν	Cu	
Valores	47.54	4.24	8.94	8.12	47.30	4.49	8.93	8.11
% de error					0.50	5.57	0.11	0.12

Tabla 17.- Resultados de AE y EAA complejo [Cu (Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

6.2.3.1.2. ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO DEL COMPLEJO [Cu (Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

En la Figura 43 se puede observar bandas características de la Fen a través de la presencia de las bandas siguientes 1660 cm⁻¹ correspondiente a N=C y la bandas en 853 cm⁻¹, correspondiente a los alquenos; 739 cm⁻¹, 695 cm⁻¹ y 623 cm⁻¹ correspondientes a los anillos aromáticos Por otro lado, para la Enr se observan las bandas en 1628 cm⁻¹ correspondientes al C=O del anillo; 1467 cm⁻¹, correspondiente a los grupos C=C aromáticos; la señal en 1289 cm⁻¹, se asigna al enlace C-F; y, la banda en 1254 cm⁻¹ correspondiente al C=O del carboxilato. Adicionalmente en el compuesto formado (complejo) no se observa la banda de 1628 cm⁻¹, tiene una disminución y hay la aparición de una pequeña señal a 1580 cm⁻¹ lo cual, se puede relacionar con la participación en el enlace de metal con el grupo 4-oxo. Con base a estas dos bandas se apoya la forma en que proponemos la coordinación de la Enr que es por el grupo 4 oxo y carboxilato del grupo 3. Este hecho se encuentra ampliamente informado en la bibliografía. Adicionalmente, se encuentra bien definida la presencia de PF₆⁻ en el compuesto debido a la señal en 840 cm⁻¹.



Figura 43.- Espectros de IR de los ligantes Enr, Fen y complejo [Cu(Fen)Enr(H₂O)]PF₆·H₂O

6.2.3.1.3. ESPECTROSCOPÍA DE MASAS COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O

Al complejo [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O se le realiza un análisis de espectroscopia de masas en modo FAB⁺ en el cual se determina el ion molecular [Cu(Fen)(Enr)]⁺ el cual tiene un valor teórico de m/z = 601 concordando con el valor experimental obtenido.

Por otro lado la molécula de agua de coordinación propuesta en la estructura $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O)]PF_6 H_2O$ y corroborada por rayos X para el complejo $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O)]NO_3 (H_2O)_2$ no se logra detectar en el ion molecular, esto se atribuye a la pérdida de la misma durante el análisis de masas. Adicionalmente, se compara la distribución isotópica teórica con la obtenida experimentalmente y se concluye que son similares. Estos resultados concluyen con la obtención el complejo deseado. Figura 44.



Figura 44.- Espectro teórico del ion molecular [Cu(Fen)(Enr)]⁺ (a) Espectro experimental de masas FAB⁺ del ion molecular [Cu(Fen)(Enr)]⁺ (b)

6.2.3.1.4. CRISTALOGRAFÍA DEL COMPLEJO [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]NO₃ (H₂O)₂

Se efectuaron diversas pruebas para la obtención de monocristales. Se emplearon disolventes en los que el complejo es soluble como son: $(CH_3)_2CO$, MeOH, MeCN, EtOH; se realizaron mezclas de disolventes, difusión y variación de la temperatura (frío y temperatura ambiente). Se obtuvo el complejo $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O)]NO_3 \cdot (H_2O)_2$ al cual se le realizó la difracción de rayos X de monocristal, encontrando la estructura mostrada en la Figura 45. Esta estructura no estaba informada en la literatura, por lo cual se publicó en el Acta Crystallographica Section E(*148*).

Los resultados de R-X se encuentran en el anexo I.



Figura 45.- Estructura del complejo [$Cu(Fen)(Enr)(H_2O)$] NO₃ (H_2O)₂.

En la estructura se puede observar un número de coordinación 5 alrededor del ion metálico Figura 45. Formando una estructura de pirámide base cuadrada. La Enr está coordinada a través de los oxígenos 4-oxo y 3 –carboxilato, mientras, la 1, 10 fenantrolina se coordina por los grupos donadores N-N. La estructura obtenida y la forma de coordinarse están acorde a compuestos de coordinación informados en otros trabajos.

El Cu²⁺ esta coordinado por dos átomos de oxígeno de la enrofloxacina y dos átomos de nitrógeno de la 1,10 fenantrolina en el plano basal y se encuentra coordinada una molécula de agua en la posición axial. El ángulo de los enlaces O1-Cu-O2 es de 92.94° y 82-08° para los enlaces N1-Cu-N2. El ion Cu²⁺ esta desviado del plano basal por 0.1439 Å. El sitio apical esta ocupado por una molécula de agua con una distancia de enlace Cu1-O1 es de 2.253 Å y un ángulo de 89.69°. El átomo de oxígeno del carboxilato no coordinado [Cu1···O3 = 4.020 Å] por arriba del plano basal de la pirámide. El átomo *trans* del plano basal proporciona ángulos O1-Cu-N1= 169.36° y O2-Cu-N2 = 170.46°.

El empaquetamiento de la estructura del cristal del complejo esta basado por estructuras en capas Figura 46. Todas las unidades son conectadas via O-H···O a través de puentes de hidrógeno formando una cadena infinita en una sola dimensión a

129

lo largo [001]. Adicionalmente, los cationes están unidos a través de interacciones débiles π - π , lo cual, completa el arreglo supramolecular en 3 dimensiones.



Figura 46.- Empaquetamiento complejo del [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)] NO₃ (H₂O)₂.

6.2.4. COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF₆·(H₂O)₄

6.2.4.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF6·(H2O)4



Figura 47.- Síntesis de complejo con ligante terpiridina.

Se realizó la síntesis del complejo de ligantes mixtos de Cu²⁺, Enr y terpiridina, Figura 47, La reacción fueron descritas en las secciónes 5.4.6. Para la síntesis de este compuesto se utilizaron las mismas condiciones de usadas en el complejo del ligante 1, 10 fenantrolina.

Las primeras pruebas efectuadas en la síntesis del complejo se utilizó una relación H₂O-MeCN 40:60 v/v como disolvente de síntesis, finalmente, se seleccionó la mezcla de H₂O-MeCN con una relación 30:70 v/v para la síntesis de los complejos, debido a que mostró un mejor síntesis de los compuestos. Por otro lado, el compuesto de Cu²⁺ con los ligantes terpiridina y enrofloxacina se obtuvó un sólido azul Los resultados de la caracterización se comentan a continuación.

6.2.4.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)₄

Los resultados experimentales de AE y EAA, se muestran en la Tabla 18, éstos concuerdan adecuadamente con los valores teóricos de la estructura propuesta.

Compuesto		Teóri	cos		Experimentales			
[Cu(Terp)(Enr)]PF ₆	С	Н	Ν	Cu	С	Н	N	Cu
·(H ₂ O) ₄								
% masa	46.76	4.73	9.62	7.28	44.80	4.43	9.74	7.52
% Error					4.19	6.34	1.24	3.29

Tabla 18.- Resultados de AE y EAA, complejo [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)_{4.}

6.2.4.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)₄

En los espectros de FTIR, se observan bandas de ambos ligantes; entre las cuales, se pueden observar para el ligante Terp las siguientes bandas: 1421 cm⁻¹ correspondiente al C=N, y en 1258 cm⁻¹ y 655 cm⁻¹ correspondientes al N aromático. Por otro lado, para la Enr se observan las bandas en 1628 cm⁻¹ correspondientes al C=O del anillo; 1467 cm⁻¹, correspondiente a los grupos C=C aromáticos; la banda en 1289 cm⁻¹, se asigna al enlace C-F; y, la banda en 1250 cm⁻¹ correspondiente al C=O del carboxilato.

En el espectro del complejo obtenido, se observa la desaparición de la banda en 1734 cm⁻¹ banda que corresponde al C=O del carboxilato libre. Por otro lado, la banda de 1628 cm⁻¹ tiene una disminución. Con base a estas bandas se apoya la forma en que proponemos la coordinación de Enr por el grupo 4 oxo y carboxilato del grupo 3, lo que sugiere que la fórmula propuesta es adecuada. Figura 48.



Figura 48.- Espectros de IR de los ligantes Enr, Terp y complejo [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)₄

6.2.4.1.3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS MODO FAB⁺ COMPLEJO [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)₄

Al complejo [Cu(Terp)(Enr)]PF₆ (H₂O)₄ se le hizo un análisis de espectroscopia de masas en modo FAB⁺ en el cual se determinó el ion molecular [Cu(Terp)(Enr)]⁺ el cual tiene un valor teórico de m/z = 654 concordando con el valor experimental obtenido. Adicionalmente, se compara la distribución isotópica teórica con la obtenida experimentalmentey se observa una correlación adecuada entre ellas. Figura 49.



Los ensayos efectuados en la síntesis de complejos mixtos con los ligantes 1,10 fenantrolina y terpiridina sirvieron para definir una metodología de síntesis de compuestos de ligantes mixtos de éstos con la enrofloxacina. Se definió que la mezcla óptima de disolventes es de 70:30 MeCN/H₂O. La síntesis de los complejos de coordinación con el ligante Azabox y Aza-f se efectuaron siguiendo ésta.

6.2.5. COMPLEJO [Zn₃(Azabox)₅]NO₃



Figura 50.- Ruta de síntesis del complejo [Zn(Azabox)(Enr)]NO₃·H₂O

Es importante mencionar que la química de coordinación de la azabis(oxazolina) no ha sido estudiada hasta la fecha con profundidad y muestra un comportamiento diferente cuando el ligante está funcionalizado o no, es decir, el grupo N-H que une a los dos anillo oxazolínicos se desprotona fácilmente en presencia de iones metálicos dando diferentes formas de coordinación. Se hicieron varios ensayos para obtener el complejo con los ligantes Azabox y Enr con el Zn²⁺ Figura 50. El resultado de estos ensayos no fue el complejo de Zn²⁺ con los ligantes enrofloxacina y Azabox. El compuesto obtenido de esta reacción fue el complejo [Zn₃(Azabox)₅]NO₃. Este compuesto no tiene presencia de enrofloxacina.

6.2.5.1. CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

6.2.5.1.1. CRISTALOGRAFÍA DEL COMPLEJO [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

La estructura cristalina del complejo $[Zn_3(Azabox)_5]NO_3$ fue obtenida por difracción de rayos X y se ilustra en la Figura 51.



Figura 51.- Complejo Azabox y zinc

Como se observa en la estructura es un complejo trimetálico donde la oxazolina muestra dos formas de coordinación diferentes, como ligante bidentado con una distancia de los nitrógenos del anillo oxazolínico al zinc de, 1.98 Å, (N-Zn) ver anexo I, en esta forma de coordinación el nitrógeno puente queda muy lejos del metal, a una distancia aproximada de 3.28 Å, lo suficiente para no considerarse enlazado. Sin embargo, de las cinco bis-oxazolinas dos se coordinan a través del nitrógeno puente.

La geometría alrededor del átomo de zinc central, al que únicamente se coordinan las bis-oxazolinas de forma bidentada, es tetraédrica, aunque muy distorsionada, la coordinación bidentada de la oxazolina genera ángulos de enlace de 93.5 °, mientras que el ángulo N-Zn-N entre moléculas de bis-oxazolina es de 113.4°. Por otro lado el ángulo entre los nitrógenos puente y el zinc es de 107.8°.

El empaquetamiento del cristal del complejo esta dominado por estructura de capas (Figura 52).



Figura 52.- Empaquetamiento Complejo azabox y zinc

El disolvente dentro de la red cristalina no se define bien, esto debido al desorden propio de éste dentro del cristal, además de que se después de algunos días de colección el cristal se fractura y no es posible tener mayor información estructural.





Figura 53.- Ruta de síntesis del complejo [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O

La reacción de sintesis del complejo de $[Zn(Enr)(Aza-f)]NO_3 H_2O$ se presenta en la Figura 53 y fue descrita en la sección experimental 5.4.8. Los resultados de la caracterización del compuesto se comentan a continuación.

6.2.6.1. CARACTERIZACIÓN DE [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃ H₂O

Las técnicas utilizadas para la caracterización del complejo obtenido fueron las siguientes: AE, EAA, RMN de ¹³C, FTIR y espectroscopia de masas modo FAB⁺.

6.2.6.1.1. ANÁLISIS ELEMENTAL Y ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE COMPLEJO [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃ H₂O

Por otro lado, los resultados de EAA y AE del complejo [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O se muestran en la Tabla 19. En esta se observa que hay una correlación razonable entre los valores teóricos y experimentales.

Compuesto **Experimentales** Teóricos [Zn(Enr)(Aza-С С Zn Н Ν Zn Н Ν f)]NO₃·H₂O 55.20 % masa 54.70 6.31 11.16 7.45 6.02 11.12 7.88 % Error 0.91 0.36 5.7 4.6

Tabla 19.- Resultados de AE y EAA, complejo [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O

6.2.6.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO DEL COMPLEJO [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃ H₂O

En el espectro FTIR del complejo se encontraron bandas características de ambos ligantes.

En los espectros de infrarrojo del complejo de Zn²⁺ con los ligantes Enr y Aza-f (Figura 54), las señales de Enr se caracterizan por las siguientes bandas: 3443 cm⁻¹ v(O-H); 1736 cm⁻¹ v(C=O) grupo COOH; 1628 cm⁻¹ v(C=O) cetona; 1508 cm⁻¹ v(anillo); 1467 cm⁻¹ δ (CH2) + v(CC); 1341 cm⁻¹ v(CC); 1255 cm⁻¹ v(C-O). El de la Aza-f 1690 cm⁻¹ v(C=N), señal similar se ha observado en complejos de cobre con el ligante análogo bis-oxazolina(*170*). 1686 cm⁻¹ v_{as}(-C=N) de grupo oxazolinas; 1441 cm⁻¹ v(C-N) del grupo ($\sum_{n=CH_2}^{\infty}$); 1240 cm⁻¹ y 1058 cm⁻¹ v(C-N) de aminas alifáticas terciarias. En el espectro del complejo se observan bandas características que pertenecen a ambos ligantes.



Figura 54.- Espectro de IR de complejo [Zn(Azaf)(Enr)]NO₃·H₂O.

Sin embargo, las bandas características como la que aparece en 1736 cm⁻¹ debido al COOH no se detecta en el espectro del complejo; esto como resultado de la formación de un enlace de coordinación de C-O- con Zn²⁺. Por otro lado, Cuando se genera un grupo carboxilato a partir del ácido carboxílico los enlaces C=O y C-O son remplazados por 2 enlaces C-O y esto se caracteriza por el desplazamiento de la banda del C=O del carboxilo alrededor de 130 cm⁻¹ hacia un número de onda menor y las vibraciones de tensión asimétrica que ocurren entre 1440-1335 cm⁻¹. Las bandas del carboxilato aparecen en 1619 cm⁻¹ v_{as}($-\hat{\ell}_{-o^-}$), y la presencia de la banda en 1415cm⁻¹ v_s($-\hat{\ell}_{-o^-}$) sugiere que el grupo puede participar en un enlace con un ion metálico. Por otro lado, el C=O cetónico muestra un desplazamiento de una banda de 1628 cm⁻¹ v(C=O) cetona en Enr libre a una banda 1581 cm⁻¹ cuando C=O participa en un enlace de coordinación. Estos cambios en el espectro de infrarrojo sugiere que la coordinación del ligante Enr es através de un oxígeno del grupo carboxilato y un oxígeno del grupo piridona.

6.2.6.1.3. ESPECTROSCOPIA DE MASAS DE COMPLEJO [Zn(Azaf)(Enr)]NO₃·H₂O

En los espectros de masas FAB⁺ se encontró el pico m/z = 777 correspondiente al ion molecular $[Zn(Aza-f)(Enr)]^+$, se corrobora que el patrón isotópico en es semejante a la teórica, con lo cual, sugiere que la composición del complejo es la propuesta. Figura 55.



Figura 55.- Espectro teórico del ion molecular [Zn(Aza-f)(Enr)]⁺ (a) Espectro experimental de masas FAB⁺ del ion molecular [Zn(Aza-f)(Enr)]⁺ (b)

6.2.6.1.4. RMN ¹³C DE COMPLEJO [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃ H₂O

Se adquirieron espectros de RMN de ¹³C de los ligantes Aza-f, Enr y Com. Las señales más importantes que sufren modificación debido al efecto de la coordinación son: las señales C-2 y C-4 de Enr que desaparecen; adicionalmente, C-1 y C-3 muestran

similares desplazamiento químicos con respecto a otros complejos de FQ's(*112*). Figura 56 y Tabla 20.



Figura 56.-Estructuras de Enr y Aza-f con asignaciones para ¹³C NMR. Desplazamientos de ¹³NMR del complejo de [Zn(Aza-f)(Enr)NO₃·H₂O.

		•	
# Carbono	Enr	Aza-f	[Zn(Aza-f)(Enr)]NO ₃ ·H ₂ O
1	147.56	-	151.11
2	108.20	-	-
3	177.23	-	177.98
2a	167.25	-	171.90
4	139.31	-	-
i		59.67	59.61
j		166.74	169.98
k		66.75	65.33
I		69.81	68.42
m		32.29	33.93
n		18.67	19.15

Tabla 20.- Desplazamientos ¹³C para el complejo de Zn.

6.3. COMPLEJOS MIXTOS UTILIZADOS COMO HORMAS

Los complejos del ligante IDAE se obtuvieron y fueron utilizados para efectuar ensayos de las condiciones de polimerización y evaluar propiedades de adsorción de los polímeros obtenidos.

Los complejos de los ligantes 1,10 fenantrolina y terpiridina fueron utilizados para determinar las condiciones de síntesis de complejos mixtos con Enr.

Los complejos de ligantes mixtos de 1,10 fenantrolina y terpiridina no fueron utilizados como horma en la síntesis de MIP, ya que, no contaban con un ligante susceptible de polimerizar para unirse covalentemente a la matriz polimérica.

El complejo de ligantes mixtos de Aza-f y Enr fue utilizado como molécula horma en la síntesis de MIPc.

6.4. POLIMERIZACIÓN

6.4.1. SÍNTESIS DE POLÍMEROS CON COMPLEJO Na[Cu(Enr)(IDAE)]

Una vez realizada la caracterización del complejo de Cu²⁺ con los ligantes Enr e IDAE. Se hicieron ensayos para determinar las condiciones de síntesis de polímeros estampados utilizando como molécula plantilla al complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)]. Por otro lado, para comparar el efecto del enlace de coordinación, se sintetizaron otros dos tipos de polímeros. Uno utilizando como plantilla a la Enr y otro sin ningún tipo de plantilla. Se usaron dos monómeros funcionales: estireno y ácido metacrílico. Las relaciones molares utilizadas del monómero funcional fueron (0.5 y 4.0) con respecto al monómero entrecruzador (EDGMA) (23.5 y 20) respectivamente (Figura 57). En la síntesis de polímeros estampados un parámetro muy importante a considerar es la relación molar que hay entre el monómero:horma:entrecruzador. (M:H:E) debido a que esta relación

determinará el desempeño en el reconocimiento molecular del polímero hacia la molécula horma.



Figura 57.- Esquema general de sintesis MIP's ligante IDAE.

En el caso del monómero funcional se requiere que forme el complejo de prepolimerización con la molécula horma, por lo que, una relación baja de monómero funcional puede no desplazar el equilibrio a la formación del complejo de prepolimerización y una vez obtenido el polímero, éste no cuente con sitios de unión adecuados. Por otro lado, una cantidad alta de monómero daría un polímero muy entrecruzado y sin sitios de unión para la molécula de interés. En el caso del entrecruzador una relación molar baja da como resultado un polímero muy flexible y por lo tanto, los sitios de reconocimiento formados colapsan teniendo un polímero con un desempeño bajo. En el caso de una relación molar alta da un polímero muy entrecruzado que no permite la transferencia de la molécula de interés hacia los sitios de unión. En muchos protocolos de síntesis la relación (M:H:E) que más ha sido utilizada para la sintesis de polímeros no covalentes es (4:1:20). Sin embargo, al ser un
punto muy importante en la síntesis de MIP's se han informado estudios para optimizar la síntesis de MIP's.(60, 171, 172)

En la sintesis de los polímeros usando el complejo del ligante IDAE se quiere probar dos relaciones estequiométricas entre el monómero funcional y el entrecruzador. Adicionalmente la presencia del centro metálico en la matriz polimérica.

Una vez obtenidos los polímeros sintetizados con base en el esquema anterior, éstos son molidos, cribados a un tamaño de partícula de 32µm y lavados. Los polímeros sintetizados con el complejo Na[Cu((IDAE)(Enr)] son procesados de la manera como se muestra en la Figura 58.



Figura 58.- Esquema general de síntesis, tratamiento y de MIP´s usando MAA y ES y complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)]

6.4.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS

6.4.1.1.1. POLÍMEROS LIGANTE IDAE

6.4.1.1.1.1. PRUEBAS DE RETOMA

Una vez que los polímeros se encuentran lavados y en el caso del polímero sintetizado con el complejo de cobre, se le ha regenerado el centro metálico, se efectúan pruebas lote donde se evalúa la unión entre Enr y los polímeros.

Las pruebas de retoma por lote se llevan a cabo a través de incubaciones en serie, donde una cantidad constante de polímero a evaluar se coloca en disoluciones de concentración conocida de Enr. Este experimento se realiza durante un periodo de tiempo necesario para alcanzar el equilibrio y con la finalidad de conocer la cantidad de Enr unida al polímero y la cantidad de Enr libre en disolución.

En este método, la capacidad de unión de los polímeros con la Enr está directamente determinada en términos de cantidad de huésped unido a los polímeros. Una vez que la cantidad predeterminada de polímero es agregado a la disolución de Enr; se mezclan, se dejan reaccionar por el tiempo suficiente hasta alcanzar el equilibrio. El polímero es removido de las mezclas; y las concentraciones de Enr en la fase líquida son determinadas a través de (UV-vis).

En la Tabla 21 se presentan los valores de la cantidad total de enrofloxacina que son capaces de atrapar los polímeros en g de Enr/100 g de polímero. En la misma se pueden comparar el efecto del centro metálico de los MIP's sintetizados con el complejo Na[Cu(IDAE)(Enr)], polímeros 1, 4, 7 y 10; respecto a los MIP sintetizados con Enr, polímeros 2,5,8 y 11; y, sin plantilla, polímeros 3, 6, 9 y 12.

Caso	Polímero	Relación molar	gr Enr/100 gr polímero
1	MAA/EGDMA/[Cu(IDAE)(Enr)]	4:20:1	6.37
2	MAA/EGDMA/Enr	4:20:1	5.01
3	MAA/EGDMA/	4:20	3.31
4	MAA/EGDMA/[Cu(IDAE)(Enr)] ⁻	0.5:23.5	5.76
5	MAA/EGDMA/Enr	0.5:23.5/1	2.84
6	MAA/EGDMA	0.5:23.5:1	2.85
7	Estireno/EGDMA/[Cu(IDAE)(Enr)]	4:20:1	8.08
8	Estireno/EGDMA/Enr	4:20:1	3.59
9	Estireno/EGDMA	4:20	2.26
10	Estireno/EGDMA/[Cu(IDAE)(Enr)]	0.5:23.5:1	5.66
11	Estireno/EGDMA/Enr	0.5:23.5/1	1.44
12	Estireno/EGDMA	0.5:23.5:1	≈ 0

Tabla 21.-Pruebas de retoma con polímeros estampados. Monómeros MAA y estireno.

Adicionalmente, se compara el efecto del monómero funcional, se prepararon dos grupos de polímeros utilizando al ácido metacrilico y estireno. También se estudia el efecto de dos relacionanes molares entre el monómero funcional y el entrecruzador 4:20 y 0.5:23.5.

Los polímeros con centro metálico en la relación molar 4:20 polímero 1 y 7 se observa una mayor cantidad de Enr unida en polímeros preparados con estireno. Este comportamiento se puede atribuir a que el ácido metacrílico se comporta como ligante e interfiere en la formación del sitio de reconocimiento molecular. La competencia del MAA como ligante con Enr e IDAE da como resultado un menor número de sitios de reconocimiento específico. Por otro lado, el estireno interacciona débilmente con la enrofloxacina de modo que el polímero 7 se une a ésta mayoritariamente a través de los sitios metálicos de unión.

Los polímeros 7 y 8, sintetizados con estireno, uno preparado con Na[Cu(IDAE)(Enr)] y el otro con Enr difieren sólo en la presencia de sitios metálicos de unión. Se observa un valor de 8.08 g de Enr/100 g de polímero 7 respecto a un valor de 3.59 g de Enr/100 g de polímero para el polímero 8. Este resultado muestra el efecto positivo de los sitios de unión metálicos en el reconocimiento del polímero por la enrofloxacina.

Los polímeros 1 y 2, sintetizados con ácido metacrilico, uno preparado con Na[Cu(IDAE)(Enr)] y el otro con Enr difieren sólo en la presencia de sitios metálicos de unión. Se observa un valor de 6.37 g de Enr/100 g de polímero 1 respecto a un valor de 5.01 g de Enr/100 g de polímero 2. Este resultado muestra una capacidad de unión menor con respecto a los polímeros preparados con estireno. Esto se atribuye nuevamente a que el ácido metacrílico, puede comportase como ligante resultando en un polímero menos selectivo por la enrofloxacina.

Por otro lado, el agente entrecruzador, es un parámetro muy importante en la capacidad de unión. Los polímeros que tienen una relación estequiometrica 0.5:23.5 monómero funcional: agente entrecruzador. Polímeros 4, 5, 6, 10, 11 y 12, muestran una reducción en la cantidad de Enr unida al polímero, esto, sugiere la reducción de las interacciones entre los sitios de unión en el polímero y la Enr, como consecuencia capta menos Enr. Este comportamiento se debe principalmente a una matriz polímerica más entrecruzada.

A pesar de observar una gran afinidad entre Enr y los polímeros que cuentan con centro metálico sintetizados con el ligante IDAE, no fue posible caracterizar completamente el complejo obtenido. Se ha informado (45) que los complejos de ácido iminodiacético pueden ser muy variados en función del pH y la relación molar de los reactivos. Muchos de estos complejos son poliméricos y muestran estructuras en cadenas con ordenamientos en una, dos o tres dimensiones. Esto trae como consecuencia que los centros de reconocimiento molecular sean heterogéneos. Debido a que los resultados experimentales no coincidieron con las estructuras propuestas, no conocemos completamente la estructura del complejo, por lo que la estructura del sitio activo no está bien definida resultando en sitios de reconocimiento heterogéneos. Como consecuencia la capacidad de unión y la selectividad del polímero se ven mermadas.

Como se había observado en los ensayos de polimerización del ligante IDAE, el ácido metacrílico, se puede comportar como ligante e interferir con la estructura del complejo; por otro lado, en el caso del estireno, las interacciones son débiles y se forman

147

polímeros muy poco hidrofílicos, lo cual los hace malos candidatos para generar MIPs que funcionen en medios polares.

6.4.2. SÍNTESIS DE POLÍMEROS CON EL COMPLEJO [Zn(Enr)(Aza-f)NO₃ H_2O

En la Figura 59 se esquematiza la síntesis del polímero con centro metálico utilizando el complejo [Zn(Enr)(Aza-f)NO₃ H₂O, definido como MIPc. Por otro lado, se preparan otros dos polímeros con el objetivo de comparar el comportamiento del efecto del enlace metálico.



Figura 59.- Esquema general de síntesis de MIP´s y NIP.

En el polímero denominado MIPe, se utiliza como plantilla únicamente a la Enr, no tiene metal por lo que es un polímeros no covalente y NIP es el polímero sintetizado de forma similar a los MIPc y MIPe con la única diferencia de que no se utiliza ninguna plantilla en su síntesis.

La síntesis de MIPc es un poco más compleja que la de MIPe, ya que es necesario quitar la horma y regenerar el sitio de reconocimiento, esto se ilustra en la Figura 60.



Figura 60.- Síntesis y regeneración de sitio de regeneración de MIPc.

El monómero funcional seleccionado para la síntesis de los polímeros estampados de este estudio fue el alcohol alílico (AA) ya que comparado con el ácido metacrílico es menos coordinante. De esta manera se favorece que el sitio de unión en el polímero MIPc sea formado a través del complejo de zinc y no por sitios no hormados superficiales que tengan la capacidad de coordinar zinc. Adicionalmente, el AA tiene la posibilidad de formar puentes de hidrógeno, por esta razón, la matriz polímerica tendrá una naturaleza hidrófila, lo que le da una posibilidad de interactuar en medios polares. El entrecruzador utilizado es el etilenglicoldimetacrilato (EDGMA) y el disolvente porogénico que se usa es el metanol.

Las relaciones estequiométricas a utilizar son las que utilizan muchos protocolos, monómero:horma:entrecruzador (M:H:E) 4:1:20. Esta relación se mantiene fija.

Con el objeto de observar el efecto de la temperatura en la síntesis de los MIP's y NIP se ensayó la reacción a tres temperaturas: 10, 20 y 30°C.

El método inicial de polimerización que se utilizó, fue el de lote, que ha sido por mucho el más ampliamente empleado en los trabajos informados en la literatura. Este método se basa en la obtención del polímero con la mínima cantidad de disolvente. Una vez obtenido el polímero, se muele y criba a un tamaño de partícula de 32 µm. Sin embargo, también está informado que este tratamiento, presenta varios inconvenientes(*56*). Como el daño de los sitios de reconocimiento, heterogeneidad importante en tamaño y forma de las partículas. Estos inconvenientes se aprecian en las isotermas de enlace, efectuadas entre la Enr con los MIP's y NIP. Las isotermas de enlace presentaban mucha variabilidad, sugiriendo la heterogeneidad de los sitios de reconocimiento en los MIP's, lo que quiere decir que son materiales con características de reconocimiento molecular modestos.

Con base en lo anterior, el método de polimerización por lote tuvo que ser sustituido por la polimerización por precipitación y así evitar el proceso de molienda.

Al obtener los polímeros, se lavan con dos disolventes, MeOH y CH₂Cl₂; esto remueve del polímero los oligomeros de bajo peso molecular, reactivos sin reaccionar, así como residuos de AIBN. Adicionalmente, MIPc se lava con una disolución acuosa de NaCN en medio básico para descoordinar el Zn²⁺ presente en el polímero, posteriormente se lava nuevamente, varias veces con agua y metanol para quitar completamente residuos de cianuro. Finalmente, el centro de reconocimiento en MIPc se regenera con Zn²⁺. El esquema general del proceso descrito para la síntesis de MIPc se presenta en la Figura 60. Los lavados son analizados espectrofotométricamente para asegurar que estos han sido hechos de forma eficiente, es decir, que se ha removido lo más posible tanto la horma como el resto de las sustancias productos de la reacción de síntesis.

6.4.2.1. CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS MIPc, MIPe Y NIP

6.4.2.1.1. ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO

Los espectros de infrarrojo obtenidos para los 3 polímeros sintetizados (MIPc, MIPe y NIP) a 10°C, se presentan en la Figura 61. Los espectros de los polímeros no mostraron diferencias significativas entre ellos. Las bandas siguientes: 3440 cm⁻¹, OH, estiramiento; 2956 cm⁻¹, CH estiramiento, CH alifático; 1728 cm⁻¹, CO estiramiento, éster, CO y COOH; 1389 cm⁻¹, -O-CH₂ doblamiento; 1263 cm⁻¹, C-O doblamiento, éster; 1160 cm⁻¹, doblamiento éster; 955 cm⁻¹, C-CH₃ balanceo (*16, 173*) son representativas del copolímero poli[(AA-co-EDGMA)].



Figura 61.- FTIR polímeros sintetizados a 10°C.

Sin embargo, el espectro del polímero MIPc muestra bandas que se asignan al enlace C=N (*170*) del ligante Aza-f y se encuentran localizadas en: 1512 cm⁻¹ y 1470 cm⁻¹. Esas bandas son pequeñas con respecto a las correspondientes al copolímero poli-

[(AA-co-EDGMA)], debido a la relación estequiométrica de los monómeros con respecto a la plantilla que es una relación estequiométrica 5:1.

Los polímeros preparados a 20 y 30°C muestran espectros prácticamente idénticos a los mostrados anteriormente.

6.4.2.1.2. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE SÓLIDOS ¹³C CP-MAS NMR DE NIP, MIPe y MIPc

Los espectros de RMN de ¹³C de sólidos de los materiales analizados (MIPc, MIPe y NIP) se muestran en la Figura 62. Al comparar los espectros, se observa que los polímeros que no fueron hormados utilizando el complejo metálico (MIPe y NIP) no presentan diferencia en los desplazamientos químicos. Mientras que en el espectro de MIPc se encuentran señales que se pueden asignar al ligante Aza-f. Las señales tienen los siguientes desplazamientos: 127.25 ppm, y 128.53 ppm (-CH- anillo de benceno del estireno); 133.73 ppm (-C- anillo de benceno), 158.90 ppm (-N-C=N, anillo de la oxazolina). Este resultado sugiere que el ligante Aza-f se encuentra unido covalentemente al polímero. Sin embargo, debido a la resolución de la técnica y que la mayor parte del polímero proviene del entrecruzador que se encuentra en una relación estequiométrica 20:1 con respecto a la bis-oxazolina, las señales son pequeñas y no muy claras, no es posible decir con certeza que la bis-oxazolina esta estructuralmente intacta, es decir, que no ha sufrido ruptura el anillo.

152



Figura 62.-¹³C CP-MAS NMR polímeros sintetizados a 10°C.

6.4.2.1.3. ANÁLISIS ELEMENTAL DE NIP, MIPe y MIPc

Los resultados obtenidos del AE de los MIP´s y NIP lavados se muestran en la Tabla 22. Mediante AE se estimó la cantidad del ligante Aza-f que se une al polímero a través de la determinación cuantitativa de nitrógeno, ya que los polímeros *per se* no contienen nitrógeno. (*174*).

Polímero	% de Nitrógeno teórico Polímero sin lavar	% de Nitrógeno Teórico Polímero lavado	% de Nitrógeno Experimental Polímero lavado
NIP	0	0	0
MIPe	1.05	0	0.198
MIPc	2.09	1.04	1.017

Tabla 22.- Resultados AE de polímeros sintetizados a 10°C lavados.

Los datos experimentales fueron comparados con los datos teóricos del contenido de nitrógeno basado en la estequiometría de nitrógeno. En el caso del NIP y MIPe, fueron sintetizados a través de interacciones no covalentes. Los resultados de estos polímeros estuvieron de acuerdo a lo esperado. El valor para el NIP fue de 0% de N, debido a que no tenía ninguna fuente de nitrógeno. Por otro lado, en el caso de MIPe, que contenía a la Enr como fuente de N, el comportamiento esperado era similar a NIP, debido a que las interacciones de Enr con el polímero son no covalentes, sin embargo, experimentalmente se determinó 0.198 % de N. Esto se atribuye a la Enr que quedó atrapada en la matriz polimérica y es inaccesible a las moléculas del disolvente utilizado en los lavados del polímero (metanol y diclorometano).

En el caso de MIPc lavado, el valor teórico de nitrógeno es de 1.04%, considerando sólo la Aza-f. El valor experimental obtenido es 98% con respecto al valor teórico. Este resultado sugiere que la Enr ha sido removida del polímero con el lavado y que el ligante Aza-f se encuentra unido a la matriz polimérica. Adicionalmente, se puede inferir que el disolvente (metanol y diclorometano) tiene un buen acceso hacia el centro de reconocimiento.

6.4.2.1.4. CATÁLISIS

Con la finalidad de probar la integridad estructural del ligante Aza-f en la matriz polímerica después de los procesos a que han sido sometidos los polímeros y considerando que un posible problema con el ligante Aza-f es que el anillo oxazolínico puede ser lábil, dependiendo de las condiciones puede abrirse(*175*) y aun así quedar anclados los fragmentos a la red polimérica, de esta manera no se tendría un ligante funcional, pero la composición química del polímero no cambiaría mucho. Para demostrar que el ligante Aza-f se encuentra intacto después de haber sido sometido al proceso de polimerización, lavado y la regeneración de los sitios de reconocimiento se evaluó la actividad catalítica de MIPc en una reacción de ciclopropanación asimétrica de estireno, Figura 63.

Esta reacción es una forma conocida de analizar selectividad de isomería en catálisis asimétrica, ya que los productos de reacción son los isómeros *cis y trans* así como las respectivas combinaciones R y S. Si la reacción se lleva a cabo con un catalizador no quiral, el resultado es la mezcla racémica al 50%.



Figura 63.- Reacción de ciclopropanación utilizando MIPc.

Para este experimento, se ensayó con MIPc limpio sin metal, se regeneró el centro de coordinación con triflato de Cu²⁺ en vez de regenerar el polímero con Zn²⁺. Esto debido a que el Cu²⁺ es activo para la reacción de ciclopropanación(*175*).

A pesar de que el centro del MIPc fue moldeado con un complejo de Zn²⁺, el polímero logró retomar 9.18 mg Cu²⁺/g MIPc. El cual es un valor estequiométricamente parecido al Zn²⁺ que es de 9.44 mg Zn²⁺/g MIPc. Los resultados de la catálisis asimétrica del MIPc reconstituido con Cu²⁺, empleándolo como catalizador, mostraron un rendimiento de reacción del 39% después de 24 h. con los siguientes excesos enatioméricos: un %ee cis de 28.46 y % ee trans 24.59. Estos resultados no muestran una actividad catalítica muy alta, pero la enantioselectividad no es mala si se considera que el complejo [Aza-Cu] en fase homogénea muestra un 54% de % ee y es uno de los mayores excesos enantioméricos conseguidos con este ligante. Por otro lado, MIPc tiene una desventaja, para esta reacción, debido a que no fue diseñado para catálisis asimétrica, ya que la matriz polimérica tiene grupos –OH, lo que no es muy conveniente para una reacción que se lleva a cabo en un medio poco polar como es el CH₂Cl₂. Adicionalmente, la estructura alrededor del centro catalítico no es la ideal para la enantioselectividad ya que fue hormada y con otro metal con una geometría diferente a la necesaria para la catálisis. En principio para que tuviera un efecto mayor en la velocidad de reacción y enantioselectividad la geometría de la matriz polimérica alrededor del metal debería ser triangular, ya que el intermediario de la reacción

catalítica que limita la velocidad de la reacción es un carbeno coordinado a (bisazabox)Cu⁺, y no la estructura tetraédrica que se moldeó.

A pesar de lo anterior, se puede inferir que la integridad del ligante Aza-f en el MIPc es buena, experimentos donde se ancla la monooxazolina o donde se ancla el precursor de ozaxolina (donde no se ha ciclado el anillo), catalizan la reacción de ciclopropanación pero los excesos enantioméricos encontrados son nulos.

6.4.2.1.5. MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La morfología de los polímeros sintetizados fue estudiada por microscopía electrónica de barrido (SEM). En la Figura 64, se presentan micrografías obtenidas para NIP, MIPe y MIPc. Se observan diferencias en términos de tamaño y morfología.



Figura 64.- Microscopía SEM de A) NIP; B) MIPe; C) MIPc. Escala de barras 500 nm

Los valores de tamaño de partícula obtenidos a través de la microscopía de barrido se muestran en la Tabla 23.

Definido en figura	Polímero	Tamaño de partícula
		nm
Α	NIP	350
В	MIPe	700
С	MIPc	200

Tabla 23.- Resultados tamaño de partícula de polímeros

En reportes publicados (*50, 57, 176*) sobre polímeros estampados que utilizan como monómero funcional al ácido metacrílico, MAA, se ha informado que la molécula horma causa reducción del crecimiento de la partícula en la polimerización por precipitación. En el caso de sistemas no estampados, el MAA se asocia preferentemente entre sí y forma dímeros; por lo tanto, en la disolución de pre-polimerización puede contener ambas especies: MAA libre y dímeros de MAA, resultando en polímeros con mayor tamaño de partícula. Por otro lado, en los sistemas estampados, la presencia de la molécula horma, contribuye con interacciones adicionales en la disolución de pre-polimerización, entre el MAA y la molécula horma reduciendo el tamaño de partícula del polímero final.

En el caso de nuestros resultados, se puede observar que el tamaño de partícula del polímero sin ningún tipo de horma; NIP, muestra un tamaño de aproximadamente 350 nm. Con respecto a la literatura se esperaría que este polímero tuviera el tamaño de partícula mayor de los tres polímeros; sin embargo, el resultado no fue el esperado. La explicación a este resultado se atribuye a las interacciones entre AA y MeOH que no favorecen la interacción entre los monómeros funcionales lo que da resultado una reducción del tamaño de partícula.

El valor de tamaño de partícula el polímero en el que se utilizó como horma a la enrofloxacina; MIPe, tienen un tamaño aproximado de 700 nm. Este resultado no es consistente con lo comentado anteriormente para otros sistemas. Lo que hace sugerir que la enrofloxacina al formar el complejo de pre-polimerización con los monómeros forme agregados que resultan en partículas de mayor tamaño.

Finalmente el tamaño de partícula de MIPc, es aproximadamente 200 nm de diámetro, este valor es el menor de los tres polímeros preparados, lo cual, esta acorde con lo reportado en la literatura, debido a la presencia de la molécula horma en la disolución de pre-polimerización no permite la interacción monómero-monómero o monómero libre.

6.4.2.1.6. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

No son comunes los estudios de calorimetría diferencial de barrido en el área de polímeros estampados, tan solo cerca de un 0.3% de los estudios de estos materiales han hecho DSC. Esto no es casual, ya que en la gran mayoría de los estudios de MIPs, el efecto del estampado es insignificante con respecto a la estructura general del polímero. Esto surge del hecho de que aproximadamente entre el 1 al 5% en masa del polímero es la fracción asociada al centro de reconocimiento molecular, lo cual no influye significativamente en propiedades observables en DSC. Adicionalmente, en general se trata de polímeros muy entrecruzados que no tienen posibilidad de muchos cambios estructurales en función de la temperatura. Sin embargo, es importante estudiarlas, sobre todo cuando se cuenta con sistemas con centro metálico, es muy conocido que iones metálicos de transición pueden interferir en la reacción de polimerización dando como consecuencia polímeros con estructuras, entrecruzamiento, peso molecular, etc., diferentes con respecto a los polímeros que se han preparado sin estos iones.

En la Figura 65 se presentan los termogramas obtenidos para los siguientes polímeros: NIP, MIPe y MIPc.

158



Figura 65.- DSC de polímeros NIP, MIPe y MIPc

Muchos estudios han reportado relajación entálpica en polímeros sintéticos(*177, 178*) sobre todo después de su envejecimiento. Este fenómeno de relajación se ha estudiado mediante DSC y a menudo se observa en la región de la transición vítrea, Tg, durante el calentamiento del material. El proceso de relajación entálpica o "envejecimiento físico" resulta en la disminución de la energía contenida en el material, por lo que se observa como una transición endotérmica.

Debido a que el sistema que se estudia en este trabajo no se caracteriza por una Tg, y a que el mónomero más abundante del sistema es el EDGMA de cuyos homopolímeros no se reporta Tg, se consideró que el etilmetacrilato es el monómero más parecido y cuyos homopolímeros reportan Tg de 65°C. Bajo esta consideración, y tomando en cuenta que el material cómo se estudia presenta un "envejecimiento físico" se puede atribuir la transición por debajo de los 175°C a un proceso de relajación entálpica.

Una posible interpretación de las transiciones térmicas que ocurren a una temperatura mayor de 175°C se realizó considerando los trabajos con polímeros no moldeados pero preparados a partir de etilenglicol dimetacrilato, los cuales han sido estudiados por Cascaval *et. al.*(*179*) Estos autores realizaron un estudio de degradación térmica, en él se reportan que los homopolímeros de EDGMA funden a 310 °C, se depolimerizan por debajo de 400 °C y se descomponen a partir de los 400 °C. En los termogramas obtenidos para NIP, se observa una desviación en la curva (transición endotérmica) que ocurre en 275 °C y alcanza su máximo en 318 °C, esto se atribuye a la fusión del sistema, al incrementar la temperatura aparecen más transiciones que corresponden a depolimerización y degradación del copolímero.

El termograma de MIPe presenta un perfil parecido al detallado para NIP con pequeñas diferencias; en este sistema la temperatura de fusión se abate y comienza en 227 °C, el máximo de esta transición ocurre en 285 °C, esto pudiera atribuirse a que la estructura del hormado modifica ligeramente la estructura general del polímero. Al continuar incrementando la temperatura, se conserva el perfil mencionado.

Finalmente el termograma de MIPc presenta una transición exotérmica alrededor de 165 °C, no observada en el copolímero AA-EDGMA. Esta transición se atribuye a (Com) presente en el sistema y se asigna principalmente a las moléculas de agua(*141*). Al incrementar la temperatura la curva presenta una transición endotérmica que corresponde a fusión del sistema y finalmente depolimerización y descomposición.

Adicionalmente, a través de DSC se analizaron los siguientes reactivos: AA, EDGMA y Enr. Los cuales fueron empleados en la síntesis de los MIP. De los termogramas se obtuvo sólo una transición endotérmica para cada uno de los compuestos que corresponde al punto de ebullición o fusión, estos se tomaron en el inicio de transición, los resultados se muestran en la Tabla 24.

Compuesto	T de fusión ó ebullición	T de fusión ó ebullición		
Compuesto	experimental	reportada		
AA	87 °C	96-98 °C		
EDGMA	94 °C	98-100 °C		
Enr	220 °C	226 °C		

Tabla 24.- Resultados de DSC. AA, EDGMA y Enr

6.4.2.1.7. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN DE ENROFLOXACINA EN MIPc SINTETIZADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Con la finalidad de conocer si hay una influencia de la temperatura con respecto a la capacidad de unión de los polímeros que utilizan el enlace de coordinación como sitios de reconocimiento. Se determinó la cantidad de enrofloxacina adsorbida por los polímeros MIPc preparados a tres temperaturas diferentes (10°C, 20°C y 30°C). También se definió el tiempo en el que se llega al equilibrio.

En la Figura 66 se muestran los resultados de la evaluación de la cinética de unión de los polímeros sintetizados a diferentes temperaturas. De estos ensayos se encontró que el polímero sintetizado a 10°C, presentó mejor capacidad de unión para la Enr, es decir acepta mayor cantidad de la FQ, y no se observan diferencias en la velocidad con la que llega al equilibrio cada caso. Este resultado es acorde a lo esperado, ya que a temperaturas menores se favorece el ordenamiento en la etapa de pre-polimerización; Por lo tanto, el polímero resulta con mejores sitios de unión. Este resultado está acorde a lo informado en trabajos similares(*16, 71*)



Figura 66.- Cinética de unión de MIPc para Enr.

Se encontró que las velocidades de adsorción son rápidas y que se ha llegado al equilibrio después de 20 minutos. En la figura 67 se observa la cantidad de Enr unida vs tiempo.



Figura 67.- Cantidad de Enr unida en MIPc (10°C) vs tiempo.

6.4.2.1.8. CINÉTICAS DE ADSORCIÓN DE NIP, MIPe Y MIPc

Se realizaron estudios de cinéticas de adsorción con los tres tipos de polímeros lavados, y en el caso del MIPc se regeneró el centro metálico, para ello se gráfica la cantidad de Enr libre *vs* tiempo (Figura 68).



Figura 68.- Cinéticas de adsorción de polímeros sintetizados 10°C.

De acuerdo a las cinéticas de adsorción, se encontró que la cantidad de Enr adsorbida es mayor por parte de MIPc, este resultado es acorde a lo esperado, debido a que el MIPc tiene sitios más fuertes de reconocimiento, si la FQ se adsorbe principalmente en sitios fuertes, es de esperar que los sitios de un polímero de coordinación aumenten el número de sitios, sobre todo si consideramos que el estudio se hizo en medio polar, por lo que la Enr se unirá preferentemente a sitios fuertes, es decir, a sitios cuya interacción sea mayor que la interacción Enr-disolvente.

La cantidad de Enr adsorbida es 5 veces mayor respecto a NIP y 2.5 veces más respecto a MIPe. Este resultado sugiere que la cantidad de sitios de reconocimiento fuertes está en proporción con la fuerza del enlace. Por lo tanto, la cantidad de sitios de unión son mayores con el polímero con centro metálico esto probablemente se asocia a que son más fuertes que las interacciones no covalentes y en la cinética de adsorción se observa principalmente los sitios fuertes.

6.4.2.1.9. ESTUDIOS DE AFINIDAD

Las pruebas de en retoma por lote se llevan a cabo a través de incubaciones en serie, donde una cantidad constante de polímero a evaluar se coloca en disoluciones

163

crecientes de concentración conocida de enrofloxacina, durante un periodo de tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, con la finalidad de conocer la cantidad unida de antibiótico al polímero y la cantidad libre de enrofloxacina en disolución.

El polímero que muestre una mayor afinidad hacia la enrofloxacina será el que a bajas concentraciones de enrofloxacina adsorba casi la totalidad del antibiótico y la cantidad que permanezca en disolución sea menor.

Se hizo la estimación de las propiedades de enlace de los polímeros y la Enr a través de ensayos estáticos de adsorción. Las isotermas de adsorción, Figura 69, muestran que el MIPc, tiene más sitios de reconocimiento para la Enr, respecto a los polímeros MIPe y NIP.



Figura 69.- Isotermas de unión de los polímeros NIP, MIPe y MIPc.

Se han hecho gran número de trabajos donde se estudian diferentes modelos(*180*) de isotermas de enlace, sin embargo, en este trabajo se ha elegido para cuantificar la unión Enr-polímero es el análisis Scatchard, ya que es un análisis muy simple que puede brindar mucha información acerca del tipo diferentes de sitios del material, tiene

la restricción de debe ajustarse al modelo linealizado. Con él se estiman los siguientes parámetros de unión: K_d; constante de disociación; B, Cantidad de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; B_{max}, Cantidad máxima de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; [Enr], concentración de Enr libre, representado por el equilibrio:

Ecuación Scatchard:
$$B/[Enr] = (B_{max} - Q)/K_d$$
 (6)

Que representa el siguiente equilibrio:

Pol-Enr_(s)
$$\xrightarrow{K_d}$$
 Pol_(s) + Enr_(dis) (7)

 K_d tiene unidades de concentración y en un comportamiento ideal de un MIP, el valor de K_d debe ser pequeño para la molécula plantilla, lo cual indicaría una unión selectiva y fuerte hacia ésta.

B_{max}; es la máxima cantidad de Enr unida por unidad de peso de polímero (B_{max} = B_{unida} + B_{libre})

En la Figura 70 se graficó Q/[Enr] vs Q, donde Q es la cantidad de Enr unida a los polímeros al equilibrio, Q_{max} es la capacidad máxima de unión, [Enr] es la concentración libre de Enr y K_d es la constante de disociación. Los valores de K_d y Q_{max} pueden ser calculados de la pendiente y de la ordenada en el origen determinada del ajuste lineal en Q/[Enr] vs Q. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 25, a) NIP, b) MIPe y c) MIPc.





Figura 70.-Análisis Scatchard NIP (a), MIPe (b) y MIPc (c).

Ecuaciones Scatchard	r	K_d (mmolL ⁻¹⁾	Q _{max} (mmolg ⁻¹)			
Q/[Enr] = -2.097Q + 50.011	0.9891	0.4768	0.0238			
Q/[Enr] = -49.3601Q +	0.9901	0.020	0.005			
258.37						
Q/[Enr] = -0.28856Q +	0.9667	3.4654	0.1384			
39.951						
Q/[Enr] = -149.36Q +	0.999	0.0067	0.0337			
5039.34						
Q/[Enr] = -0.2123Q + 75.30	0.9059	4.7103	0.3547			
	Ecuaciones Scatchard Q/[Enr] = -2.097Q + 50.011 Q/[Enr] = -49.3601Q + 258.37 Q/[Enr] = -0.28856Q + 39.951 Q/[Enr] = -149.36Q + 5039.34 Q/[Enr] = -0.2123Q + 75.30	Ecuaciones Scatchardr $Q/[Enr] = -2.097Q + 50.011$ 0.9891 $Q/[Enr] = -49.3601Q +$ 258.37 0.9901 $Q/[Enr] = -0.28856Q +$ 39.951 0.9667 $Q/[Enr] = -149.36Q +$ 5039.34 0.999 $Q/[Enr] = -0.2123Q + 75.30$ 0.9059	Ecuaciones Scatchardr K_d (mmolL ⁻¹⁾ Q/[Enr] = -2.097Q + 50.0110.98910.4768Q/[Enr] = -49.3601Q + 258.370.99010.020Q/[Enr] = -0.28856Q + 39.9510.96673.4654Q/[Enr] = -149.36Q + 5039.340.99990.0067Q/[Enr] = -0.2123Q + 75.300.90594.7103			

Tabla 25.- Parámetros Scatchard calculados.

Los resultados muestran que el comportamiento de unión de Enr con los polímeros es diferente en cada caso. El polímero NIP muestra un solo tipo de sitios de enlace correspondiente a sitios de reconocimiento no específicos, esto debido a que sólo se encuentra una recta en el intervalo de concentraciones estudiado y normalmente se

asocia el número de rectas a los diferentes grupos de sitios que hay en el material. También, la pendiente de las rectas es proporcional a la fuerza de asociación (180).

Para el caso del NIP, la cantidad de Enr unida es la menor de los tres tipos de polímeros, este comportamiento es acorde a lo esperado en un sistema no estampado. Esto se puede observar en la K_d obtenida, la cual tiene un valor de 0.4768 mmolL⁻¹; comparando los valores de K_d de los polímeros obtenidos en los sitios de alta afinidad con respecto al valor K_d (constante de disociación) de NIP, es el más alto obtenido de los análisis de Scatchard, lo que demuestra que tiene una baja afinidad por Enr, es importante considerar que K_d se refiere a una constante de disociación.

Por otro lado; MIPe, polímero hormado vía no covalente con Enr, muestra dos sitios de reconocimiento, uno de baja afinidad y otra de alta afinidad, correspondientes a las dos rectas de diferente pendiente. Los sitios de baja afinidad son similares en comparación con los sitios de NIP, correspondiente probablemente a la unión de la estructura no específica del polímero con la Enr. Los sitios de alta afinidad muestran un K_d que es menor en 25 veces al obtenido en NIP, este resultado indica que MIPe tiene sitios de reconocimiento para Enr, este resultado es similar a otros MIP's no covalentes con fluoroquinolonas(*53, 54, 157, 160*).

En el caso de MIPc, también muestra dos tipos de sitio de unión, de alta y baja afinidad. El valor de K_d en los sitios de alta afinidad es 71 veces menor con respecto a los sitios no específicos. Este resultado es debido a la formación del enlace de coordinación entre la Enr y el sitio de reconocimiento presente en el polímero. La gran fuerza del enlace de coordinación conduce a que el polímero tenga sitios de unión más fuertes si se compara con respecto al no covalente que únicamente son interacciones no enlazantes.

Al comparar los resultados de los análisis Scatchard obtenidos con MIPc, con el trabajo informado por Lv, *et.al.* (*37*) En el cual se informa la síntesis de un MIP para Enr, basado en el enlace de coordinación entre el Co²⁺ y Enr, utilizando como monómero funcional a la 4-vinilpiridina. En ambos polímeros se muestra un comportamiento similar con respecto a los sitios de unión, ambos, presentan dos sitios, uno de alta afinidad y

otro de baja afinidad. Sin embargo, en el sitio de alta afinidad, para MIPc, los valores de K_d y Q_{max} estimados, son 115 veces y 3 veces más bajos que los informados en el polímero informado por Lv, es decir, la afinidad del polímero informado en este trabajo es notoriamente mayor con respecto al publicado en la literatura. Esta diferencia puede ser atribuida al método específico de generación de los sitios de reconocimiento en los polímeros. Ya que mientras en MIP1, el complejo metálico de Co²⁺ es formado *in situ* en la disolución de pre-polimerización dando como resultado una estructura de pre-organización del complejo no bien definida. En cambio en el MIPc, se obtienen mejores sitios de reconocimiento probablemente debido a que el complejo utilizado como plantilla fue sintetizado y caracterizado antes del proceso de polimerización, por lo que su estructura es definida, no se trata de mezclas de posibles complejos.

Por otro lado, en el trabajo reportado por Qu *et al.* (*163*) estudian la influencia del centro metálico en el reconocimiento de FQ's con MIP's. Sintetizan un polímero con centro metálico, utilizando ciprofloxacina (CIP), y ácido itacónico (ITA) los cuales son la molécula horma y el monómero funcional respectivamente. Se reporta la síntesis de un complejo de ligantes mixtos Fe³⁺-ITA-CIP. También, hacen estudios para determinar la capacidad de unión del MIP por la CIP, utilizando como disolvente el agua. Los datos obtenidos son analizados por los autores a través de las gráficas Scatchard. Los resultados obtenidos muestran dos tipos de sitios, de alta y baja afinidad.

Haciendo comparaciones con base en los sitios de alta afinidad, el valor K_d estimado de MIPc preparado en este trabajo es 18 veces menor al reportado por Qu (*163*). Este resultado sugiere que MIPc es un material que funciona en disolventes polares y tiene una mayor afinidad con respecto al material preparado por Qu. Se debe considerar que la Enr es muy similar estructuralmente, respecto a la CIP, únicamente se sustituye un – H por un –CH₂CH₃ en el extremo opuesto donde ocurre la coordinación

Por otro lado, comparando los valores de K_d obtenidos en el polímero MIPe se puede observar la ventaja de utilizar la polimerización por precipitación con respecto a otros MIP's sintetizados utilizando la polimerización en lote. Para estos polímeros, comparando la K_d obtenida en los sitios de alta afinidad, presentan valores aproximadamente de 5 veces más grande respecto a la obtenida en MIPe. Con lo cual,

169

se ajusta con las desventajas mencionadas en la bibliografía de utilizar el método de polimerización en lote.

En el trabajo realizado Papaioannou y colaboradores(*38*) se informan valores de K_d obtenidos al evaluar la capacidad de unión de los polímeros (Fe-NTA, Ni-NTA y Cu-NTA) con el péptido (CCK-5). Este grupo reporta que los polímeros con los iones y orden mencionados presenta valores bajos de K_d , lo cual, muestra una unión fuerte con el huésped. Los valores reportados de K_d son: 1.78 mmolL⁻¹, 1.98 mmolL⁻¹ y 1.99 mmolL⁻¹ respectivamente. Sin embargo, en este trabajo no hay un conocimento profundo de la estructura del complejo formado previo al proceso de polimerización.

Lo anterior origina que aunque el efecto del ion metálico en la unión del péptido con el polímero se observa con respecto a los polímeros sin centro metálico, estos valores al compararlo con los Kd obtenidos en el polímero MIPc en los sitios de alta afinidad los valores sea aproximadamente 250 veces más pequeña respecto al K_d del polímero Fe-NTA.

6.4.2.1.10. ESTUDIOS DE SELECTIVIDAD

La selectividad del polímero MIPc, se ensayó con diferentes FQ's, las cuales fueron: flumequina (Flume); ofloxacina (Oflo); y Enr. Se hicieron las isotermas de enlace para las tres fluoroquinolonas, ya que el modelo de Scatchard no se ajusta adecuadamente para flume y oflo. Cabe destacar que la afinidad de MIPc por estas moléculas es peor y esto trae como consecuencia mayor dispersión en los resultados experimentales.

El modelo Langmuir-Freundlich(*180*), Ecuación. 10, describe la relación de equilibrio entre la concentración de plantilla unida (B) y la concentración de plantilla al equilibro en disolución (C). Donde N_t , el número total de sitios de unión; K_o, afinidad media de unión; m, índice de heterogeneidad.

$$B = N_t K_0^m C^m / 1 + K_0^m C^m$$
(10)

Las isotermas de adsorción obtenidas con estas tres FQ's se ajustaron al modelo Langmuir-Freundlich, Figura 71. Los valores obtenidos a partir de los ajustes a la ecuación Ec 10 fueron los siguientes: Enr mostró un valor de K_o = 21.38 mM⁻¹ y número de sitios (N_t) = 58.89 μ mol/g; Oflo, K_o = 2.2 x 10⁻⁸ mM⁻¹ y N_t = 11010.07 μ mol/g; Flume, K_o = 1.6 x 10⁻⁵ mM⁻¹ y N_t = 76378.25 μ mol/g. Estos resultados demuestran la selectividad de MIPc por Enr.



Figura 71.- Selectividad de FQ's de MIPc.

La asociación entre Flume y Oflo y MIPc es muy pobre ya que las constantes de asociación son al menos cinco órdenes de magnitud menores con respecto a la Enr. Este resultado puede ser debido a que la mayoría de los sitios de interacción en MIPc poseen la estructura complementara a la Enr que fue la horma, y las otras FQ's tienen una estructura que muestra un impedimento estérico mayor que impida la accesibilidad al centro metálico.

7. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los ligantes susceptibles de polimerizar utilizados en la síntesis de complejos de ligantes mixtos. Ligante derivado del ácido iminodiacético funcionalizado con estireno (IDAE) y azabis(oxazolina) funcionalizada con estireno (Aza-f).
- Complejos de ligantes mixtos. Ácido iminodiacético y enrofloxacina. Los compuestos de coordinación con los iones metálicos de Cu²⁺ y Zn²⁺ no se pudieron caracterizar. Los valores de AE y EAA presentan una diferencia mayor del 10% de error entre los valores teóricos y experimentales.
- Complejos de ligantes mixtos entre el ligante derivado del ácido iminodiacético funcionalizado con estireno y enrofloxacina. Los compuestos de coordinación con los iones metálicos de Zn²⁺ no se pudieron caracterizar. Los valores de AE y EAA presentan una diferencia mayor del 10% de error entre los valores teóricos y experimentales. Por otro lado, el complejo de Cu²⁺ Los resultados experimentales obtenidos de AE y EAA se ajustan a los valores teóricos. Se propone la estructura Na[Cu(Enr)(IDAE)].
- Los compuestos de coordinación sintetizados a partir de los ligantes 1,10 fenantrolina y terpiridina. [Cu(Fen)(Enr)(H₂O)]PF₆·H₂O y [Cu(Terp)(Enr)]PF₆·(H₂O)₄. Sirvieron para la determinar las condiciones de la síntesis de complejos mixtos con enrofloxacina. Se determinó que el disolvente más adecuado es una mezcla de 70:30 v/v MeCN/H₂O. Estas condiciones fueron aplicadas a la síntesis de complejos de coordinación con el ligante Azabox y Aza-f.

- Se propone la síntesis de un complejo de ligantes mixtos entre los ligantes Azabox, enrofloxacina y el ion metálico Zn²⁺. Sin embargo, el complejo obtenido es [Zn₃(Azabox)₅]NO₃.
- Se efectúa la síntesis y caracterización de un complejo de ligantes mixtos entre los ligantes Aza-f, enrofloxacina y el ion metálico Zn²⁺. El complejo sintetizado es [Zn(Enr)(Aza-f)]NO₃·H₂O el cual es utilizado como horma en la síntesis de MIP´s con centro metálico.
- Se sintetizaron los siguiente polímeros estampados utilizando como horma en una relación estequiometríca de 1 a las siguientes moléculas hormas: 1) complejo Na[Cu(Enr)(IDAE)], 2) enrofloxacina y 3)polímero sin horma. En una relación estequiométrica 4:20 entre el ácido metacrílico y etilenglicoldimetacrilato. Al comparar la capacidad de unión de los polímeros por la enrofloxacina en g Enr/100 g de polímero. El polímero sintetizado con Na[Cu(Enr)(IDAE)] muestra una capacidad 1.27 veces mayor respecto al polímero preparado con enrofloxacina.
- Se sintetizaron los siguiente polímeros estampados utilizando como horma en una relación estequiometríca de 1 a las siguientes moléculas hormas: 1) complejo Na[Cu(Enr)(IDAE)], 2) enrofloxacina y 3)polímero sin horma. En una relación estequiométrica 4:20 entre el estireno y etilenglicoldimetacrilato. Al comparar la capacidad de unión de los polímeros por la enrofloxacina en g Enr/100 g de polímero. El polímero sintetizado con Na[Cu(Enr)(IDAE)] muestra una capacidad 2.25 veces mayor respecto al polímero preparado con enrofloxacina.
- Se sintetizaron los siguiente polímeros estampados utilizando como horma en una relación estequiometríca de 1 a las siguientes moléculas hormas: 1) complejo Na[Cu(Enr)(IDAE)], 2) enrofloxacina y 3)polímero sin horma. En una relación estequiométrica 0.5:23.5 entre el (ácido metacrílico o estireno) y

etilenglicoldimetacrilato. Al comparar la capacidad de unión de los polímeros por la enrofloxacina en g Enr/100 g de polímero se observa una reducción en la capacidad de unirse a la enrofloxacina respecto a los polímeros sintetizados con una menor relación estequiometríca de etilenglicoldimetacrilato. Este comportamiento se explica debido a que la matriz polímerica se encuentra más entrecruzada y con sitios de unión más inaccesibles.

- Se sintetizaron los siguiente polímeros estampados utilizando como horma en una relación estequiometríca de 1 a las siguientes moléculas hormas: 1) complejo [Zn(Enr)(Aza-f)]NO₃·H₂O;MIPc, 2) enrofloxacina; MIPe, y 3)polímero sin horma; NIP. En una relación estequiométrica 4:20 entre el alcohol alílico y etilenglicoldimetacrilato. Los polímeros obtenidos fueron caracterizados a través de ¹³C CP-MAS NMR, AE, FTIR y con la finalidad de comprobar la viabilidad del ligante Aza-f en el polímero MIPc fue probado en una reacción catalítica de ciclopropanación asimétrica de estireno. El resultado muestra la integridad del ligante Aza-f.
- A través de análisis Scatchard se determinan los siguientes parámetros: constante de disociación, K_d; cantidad de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero; B, cantidad máxima de molécula de interés unida por unidad de peso de polímero, B_{max} de los polímero NIP, MIPe y MIPc.

En análisis Scatchard muestra los siguientes resultados: NIP, se encontró un solo tipo de sitios de unión, el cual, se relaciona con los sitios de interacción no específicos; mientras, que los polímeros MIPe y MIPc muestran dos tipos de sitios de unión, los cuales se relacionan como sitios de unión de alta y baja afinidad.

Los valores de Kd de los polímeros NIP, MIPe y MIPc son los siguientes: NIP, Kd = 0.4768; MIPe, Kd = 0.020 y MIPc, Kd = 0.0067 (mmol⁻¹). Los valores de MIP's corresponden a los sitios de alta afinidad. El resultado muetra la

174

generación de sitios de reconocimiento (estampado) en MIPe y MIPc. Adicionalmente, se observa una mayor asoación del MIPc para la enrofloxacina, esto como efecto del enlace de coordinación presente en MIPc.

- Los análisis de cinética de enlace muestran que MIPc alcanza el equilibrio antes que MIPe y NIP. Adicionalmente, la cantidad adsorbida de enrofloxacina es 5 veces más respecto a MIPe y NIP.
- El polímero MIPc muestra una mayor afinidad por la enrofloxacina con respecto a otras fluoroquinolonas evaluadas (flumequina y ofloxacina). Se atribuye la alta afinidad a la presencia de los centros metálicos en los sitios de reconocimiento.

Se concluye que después del trabajo efectuado se ha conseguido un polímero (MIPc) con sitios de reconocimiento hacia la enrofloxacina basados en la formación de un enlace de coordinación, lo cual, le proporciona una mayor fuerza de unión y selectividad hacia la enrofloxacina en comparación a polímeros que no cuentan con este tipo de enlace.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Hooper, D. C., and Wolfson, J.S., The fluoroquinolones: Pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **1985**, 28, (5), 716-721.

2. Sukul, P.; Spiteller, M., Fluoroquinolone Antibiotics in the Environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **2007**, 191, 131-162.

3. Kümmerer, K., *Pharmaceuticals in the Environment Sources, Fate, Effects and Risks*. 3 ed.; Springer: Berlin, 2008; p 521.

4. Tan, F.; Sun, D.; Gao, J.; Zhao, Q.; Wang, X.; Teng, F.; Quan, X.; Chen, J., Preparation of molecularly imprinted polymer nanoparticles for selective removal of fluoroquinolones antibiotics in aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials* **2013**, 244-245, 750-757.

5. Carabineiro, S. A. C.; Thavorn-Amornsri, T.; Pereira, M. F. R.; Figueiredo, J. L., Adsorption of ciprofloxacin on surface-modified carbon materials. *Water Research* **2011**, 45, 4583-4591.

6. *Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance*; World Health Organization: 2014.

7. Kümmerer, K., Antibiotics in the aquatic environment -A review- Part I. *Chemosphere* **2009**, 75, 417-434.

8. Jaglal, K., Contaminated Aquatic Sediments. *Water Environment Research* **2013**, 85, (10), 1678-1679.

9. da Silva, A. K.; Amador, J.; Cherchi, C.; Miller, S. M.; Morse, A. N.; Pellegrin, L.; Wells, M. J. M., Emerging Pollutants-Part 1 - Ocurrence, Fate and Transport. *Water Environment Research* **2013**, 85, (10), 1978-2021.

10. Yan, H.; Wang, H.; Qin, X.; Liu, B.; Du, J., Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for determination of fluoroquinolones in pharmaceutical wastewater. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2011**, 54, (1), 53-57.

11. Rodriguez, E.; Moreno-Bondi, M. C.; Marazuela, M. D., Multiresidue determination of fluoroquinolone antimicrobials in baby foods by liquid chromatography. *Food Chemistry* **2011**, 127, (3), 1354-1360.

12. Stoilova, N. A.; Surleva, A. R.; Stoev, G., Simultaneous Determination of Nine Quinolones in Food by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Analytical Methods* **2013**, 6, (3), 803-813.

13. Yu, H.; Tao, Y.; Chen, D.; Pan, Y.; Liu, Z.; Wang, Y.; Huang, L.; Dai, M.; Peng, D.; Wang, X.; Yuan, Z., Simultaneous determination of fluoroquinolones in foods of animal origin by a high performance liquid chromatography and a liquid chromatography tandem mass spectrometry with accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **2012**, 885-886, 150-159.

14. Mingdi, Y.; Ramström, O., *Molecularly imprinted materials Science and Technology*. Marcel Dekker: New York, 2005.

15. Steed, J. W.; Atwood, J. L., *Supramolecular Chemistry*. Jonh Wiley & Sons, Ltd: Baffins Lane, Chichester, 2000.

16. Sellergren, B., *MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry* Elsevier: Amsterdam, Netherlands, 2003; Vol. 23.

17. Komiyama, M.; Takeuchi, T.; Mukawa, T.; Asanuma, H., *Molecular Imprinting From Fundamentals to Applications*. Wiley-VCH: Weinheim, 2003.

18. Bartsch, R. A.; Maeda, M., *Molecular and Ion Recognition with Imprinted Polymers*. American Chemical Society: Washington, D.C., 1998; Vol. 703.

19. Mafu, L. D.; Msagati, T. A. M.; Mamba, B. B., Ion-imprinted polymers for environmental monitoring of inorganic pollutants: synthesis, characterization and applications. *Environmental Science and Pollution Research* **2013**, 20, (2), 790-802.

20. Cormack, P. A. G.; Zurutuza Elorza, A., Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of Chromatography B* **2004**, 804, (1), 173-182.

21. Polyakov, M. V., Adsorption properties and structure of silica gel. *Zhurnal Fizieskoj Khimii* **1931**, 2, 799-805.

22. Chen, L.; Xu, S.; Li, J., Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. *Chemical Society Reviews* **2011**, 40, (5), 2922-2942.

23. Wulff, G., Sarhan, A., Zabrocki, K., Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates. *Tetrahedron Letters* **1973**, 14, (44), 4329-4332.

24. Wulff, G., The Covalent and Other Stoichiometric Approaches. In *Molecularly Imprinted Materials Science and Technology*, Mingdi, Y.; Ramström, O., Eds. Marcel Dekker: New York, 2005.

25. Arshady, R., Mosbach, K., Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization *Die Makromolekulare Chemie* **1981**, 182, (2), 687-692.

26. Yilmaz, E.; Schmidt, R. H.; Mosbach, K., The Noncovalent Approach. In *Molecularly Imprinted Materials Science and Technology*, Mingdi, Y.; Ramström, O., Eds. Marcel Dekker: New York, 2005.

27. Sellergren, B.; Andersson, L., Molecular recognition in macroporous polymers prepared by a substrate analog imprinting strategy. *The Journal of Organic Chemistry* **1990**, 55, (10), 3381-3383.

28. Kirsch, N.; Whitcombe, M. J., The Semi-Covalent Approach. In *Molecularly Imprinted Materials Science and Technology*, Mingdi, Y.; Ramström, O., Eds. Marcel Dekker: New York, 2005.

29. Whitcombe, M. J.; Rodríguez, M. E.; Villar, P.; Vulfson, E. N., A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol. *Journal of American Chemical Society* **1995**, 117, (27), 7105-7111.

30. Ching-Ching, H.; Wen-Sheng, L., Chromatographic characteristics of cholesterol-imprinted polymers prepared by covalent and non-covalent imprinting methods. *Journal of Chromatography A* **2002**, 962, 69-78.

31. Conrad II, P. G.; Shea, K. J., The Use of Metal Coordination for Controlling the Microenvironment of Imprinted Polymers. In *Molecularly Imprinted Materials Science and Technology*, Mingdi, Y.; Ramström, O., Eds. Marcel Dekker: New York, 2005; pp 123-180.

32. Striegler, S., Designing selective sites in templated polymers utilizing coordinative bonds. *Journal of Chromatography B* **2004**, 804, 183-195.

33. Matsui, J.; Nicholls, I. A.; Takeuchi, T.; Mosbach, K.; Karube, I., Metal ion mediated recognition in molecularly imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta* **1996**, 335, (1-2), 71-77.

34. Sreenivasan, K., The Use of Metal-Containing Monomer in the Preparation of Molecularly Imprinted Polymer to Increase the Adsorption Capacity. *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 80, (14), 2795-2779.

35. Dhal, P. K.; Arnold, F. H., Metal-Coordination Interactions in the Template-Mediated Synthesis of Substrate-Selective Polymers: Recognition of Bis(imidazole) Substrate by Copper(II) Iminodiacetate Containing Polymers. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 25, 7051-7059.

36. Yamazaki, T.; Yilmaz, E.; Mosbach, K.; Sode, K., Towards the use of molecularly imprinted polymers containing imidazoles and bivalent metal complexes for the detection and degradation of organophosphotriester pesticides. *Analytica Chimica Acta* **2001**, 435, (1), 209-214.

37. Lv, Y. K.; Zhang, Q.; Song, Y. L.; Yan, S. L., Preparation and characterization of imprinted polymers based on cobalt(II)-enrofloxacin coordination. *Asian Journal of Chemistry* **2011**, 23, (9), 4037-4041.

38. Papaioannou, E. H.; Liakopoulou-Kyriakides, M.; Papi, R. M.; Kyriakidis, D. A., Artificial repeceptor for peptide recognition in protic media: The role of metal ion coordination. *Material Science and Engineering B* **2008**, 152, (1-3), 28-32.

39. Li, S.; Liao, C.; Li, W.; Chen, Y.; Hao, X., Rationally Designing Molecularly Imprinted Polymer towards Predetermined High Selectivity by Using Metal as Assembled Pivot. *Macromolecular Bioscience* **2007**, *7*, 1112-1120.

40. Hart, B. R.; Shea, K. J., Synthetic peptide receptors: Molecularly imprinted polymers for the recognition of peptides using peptide-metal interactions. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, (9), 2072-2073.

41. Hart, B. R.; Shea, K. J., Molecular Imprinting for the Recognition of N-Terminal Histidine Peptides in Aqueous Solution. *Macromolecules* **2002**, 35, (16), 6192-6201.

42. Chen, G. H.; Guan, Z. B.; Chen, C. T.; Fu, L. T.; Vidyasankar, S.; Arnold, F. H., A glucose-sensing polymer. *Nature Biotechnology* **1997**, 15, 354-357.

43. Dhal, P. K.; Arnold, F. H., Template-Mediated Synthesis of Metal-Complexing Polymers for Molecular Recognition. *Journal of the American Chemical Society* **1991**, 113, 7417-7418.

44. Chaberek, S.; Courtney, R. C.; Martell, A. E., Stability of Metal Chelates. I . Iminodiacetic and Iminodipropionic Acids. *Journal of American Chemical Society* **1952**, 74, (20), 5052-5056.

45. Lu-Bin, N.; Rong-Hua, Z.; Qiong-Xin, L.; Wen-Sheng, X.; Hongxin, W.; Zhao-Hui, Z., pH- and molratio dependent formation of zinc(II) coordination polymers with iminodiacetic acid: Synthesis, spectroscopic, crystal structure and thermal studies. *Journal of Solid State Chemistry* **2009**, 182, 2698-2706.

46. Brandi-Blanco, M. P.; González-Pérez, J. M.; Choquesillo-Lazarte, D.; Carballo, R.; Castiñeiras, A.; Niclós-Gutiérrez, J. N., Two intra-molecular inter-ligand C(aromatic)-H•••O(carboxyl) interactions reinforce the formation of a single Cu(II)-N4(pza) bond in the molecular recognition between pyrazine-2-carboxamide(pza) and the (iminodiacetato)copper(II) chelate. Synthesis, molecular and crystal structure and properties of [Cu(IDA)(pza)(H₂O)]•H₂O. *Inorganic Chemistry Communications* **2003**, 6, (3), 270-273.

47. Li, S.; Tong, K.; Zhang, D.; Huang, X., Rationally Designing Active Molecularly Imprinted Polymer Toward a Highly Specific Catalyst by Using Metal as an Assembled Pivot. *Journal of Inorganic Organometallic Polymer* **2008**, 18, (2), 264-271.

48. Liang, Z.; Qing-Wei, Z.; Yan-Ping, H.; Zhao-Sheng, L., Preparation and characterization of imprinted monolith with metal ion as pivot. *Journal of Chromatography A* **2011**, 1218, (50), 9071-9079.

49. Piletska, E. V.; Guerreiro, A. R.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A., Influence of the polymerization conditions on the Performance of Molecularly Imprinted Polymers. *Macromolecules* **2009**, 42, 4921-4928.

50. Cacho, C.; Turiel, E.; Martín-Esteban, A.; Pérez-Conde, C.; Cámara, C., Characterization and quality assessment of binding sites on a propazine-imprinted polymers prepared by precipitation polymerization. *Journal of Chromatography B* **2004**, 802, (2), 347-353.

51. Benito-Peña, E.; Urraca, J. L.; Sellergren, B.; Moreno-Bondi, M. C., Solid-phase extraction of fluoroquinolones from aqueous samples using a water-compatible stochiometrically imprinted polymer. *Journal of Chromatography A* **2008**, 1208, (1-2), 62-70.

52. Benito-Peña, E.; Martins, S.; Orellana, G.; Moreno-Bondi, M. C., Water-compatible molecularly imprinted polymer for the selective recognition of fluoroquinolone antibiotics in biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, 393, (1), 235-245.

53. Sun, H.; Qiao, F.; Liu, G.; Liang, S., Simultaneous isolation of six fluoroquinolones in serum samples by selective molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion. *Analytica Chimica Acta* **2008**, 625, (2), 154-159.

54. Yan, H.; Row, K. H.; Yang, G., Water-compatible molecularly imprinted polymers for selective extraction of ciprofloxacin from human urine. *Talanta* **2008**, 75, (1), 227-232.

55. Yan, H.; Tian, M.; Row, K. H., Determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in milk using molecularly imprinted solid-phase extraction. *Journal of Separation Science* **2008**, 31, (16-17), 3015-3020.

56. Ye, L.; Weiss, R.; Mosbach, K., Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Microspheres. *Macromolecules* **2000**, 33, 8239-8245.

57. Xiao, P.; Dudal, Y.; Corvini, P. F.-X.; Spahr, P.; Shahgaldian, P., Synthesis and characterization of fluoroquinolone-imprinted polymeric nanoparticles. *Reactive and Functional Polymers* **2012**, 72, 287-293.

58. Karim, K.; Breton, F.; Rouillon, R.; Piletska, E. V.; Guerreiro, A.; Chianella, I.; Piletsky, S. A., How to find effective functional monomers for effective molecularly imprinted polymers? *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, 57, (12), 1795-1808.

59. Wu, X.; Shimizu, K. D., Molecular Imprinting for Sensor Applications. In *Molecular Recognition and Polymers*

Control of Polymer Structure and Self-Assembly, Rotello, V. M.; Thayumanavan, S., Eds. John Wiley and Sons, Inc., Publications: New Jersey, 2008; pp 395-429.

60. Davies, M. P.; De Biasi, V.; Perrett, D., Approaches to the rational design of molecylarly imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta* **2004**, 504, (1), 7-14.

61. Sellergren, B.; Lepistoe, M.; Mosbach, K., Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions. NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *Journal of American Chemical Society* **1988**, 110, (17), 5853-5860.

62. Whitcombe, M. J.; Martin, L.; Vulfson, E. N., Predicting the Selecytivity of Imprinted Polymers. *Chromatographia* **1998**, 47, (7-8), 457-464.

63. Svenson, J.; Karlsson, J. G.; Nicholls, I. A., ¹H Nuclear magnetic resonance study of the molecular imprinting of (-)-nicotine: self-association, a molecular basis for cooperative ligand binding. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1024, (1-2), 39-44.

64. Duffy, D. J.; Das, K.; Hsu, S. L.; Penelle, J.; Rotello, V. M.; Stidham, H. D., Binding Efficiency and Transport Properties of Molecularly Imprinted Polymers Thin Films. *Journal of American Chemical Society* **2002**, 124, (28), 8290-8296.

65. Piletsky, S. A.; Karim, K.; Piletska, E. V.; Day, C. J.; Freebairn, K. W.; Legge, C.; Turner, A. P. F., Recognition of ephedrine enantiomers by molecularly imprinted polymers designed using a computational approach. *The Analyst* **2001**, 126, 1826-1830.

66. Wulff, G.; Vietmeier, J.; Poll, H. G., Enzyme-analogue built polymers, 22. Influence of the nature of the crosslinking agent on the performance of imprinted polymers in racemic resolution. *Die Makromolekulare Chemie* **1987**, 188, (4), 731-740.

67. Simões, M.; Martins, N.; Cabrita, M. J.; Burke, A.; Garcia, R., Tailor-made molecularly imprinted polymers for dimethoate and deltamethrin recognition: synthesis, characterization and chromatographic evaluation. *Journal of Polymer Research* **2014**, 21, (368), 1-13.

68. Holland, N.; Frisby, J.; Owens, E.; Hughes, H.; Duggan, P.; McLoughlin, P., The influence of polymer morphology on the performance of molecularly imprinted polymers. *Polymer* **2010**, 51, (7), 1578-1584.

69. Lanza, F.; Sellergren, B., Method for Synthesis and Screening of Large Groups of Molecularly Imprinted Polymers. *Journal of American Chemical Society* **1999**, 71, (11), 2092-2096.

70. Luliński, P.; Maciejewska, D., Effect of functional monomers and porogens on morphology, structure and recognition properties of 2-(4-methoxyphenyl)ethylamine imprinted polymers. *Materials Science and Engineering C* **2013**, 33, (3), 1162-1169.
71. Piletska, E. V.; Guerreiro, A. R.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A., Influence of the polymerization conditions on the performance of molecularly imprinted polymers. *Macromolecules* **2009**, 42, (14), 4921–4928.

72. Mijangos, I.; Navarro-Villoslada, F.; Guerreiro, A.; Piletska, E.; Chianella, I.; Karim, K.; Turner, A.; Piletsky, S., Influence of initiator and different polymerisation conditions on performance of molecularly imprinted polymers. *Biosensors and Bioelectronics* **2006**, 22, (3), 381-387.

73. Nicholls, I. A., Towards the rational design of molecularly imprinted polymers. *Journal of Molecular Recognition* **1998**, 11, (1-6), 79-82.

74. O'Shannessy, D. J.; Ekberg, B.; Mosbach, K., Molecular imprinting of amino derivatives at low temperature (0°C) using photolytic hemolysis of azobistriles. *Analytical Biochemistry* **1989**, 177, (1), 144-149.

75. Osmani, Q.; Hughes, H.; Flavin, K.; Hedin-Dahlstrom, J.; Allender, C. J.; Frisby J.; McLoughlin, P., The use of FTIR and NMR spectroscopies to study prepolymerisation interactions in nitrogen heterocycles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, 391, (4), 1229-1236.

76. Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J., Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005** 57, (12), 1742–1778.

77. Hosoya, K.; Iwakoshi, Y.; Yoshizako, K.; Kimata, K.; Tanaka, N.; Takehira, H.; Haginaka, J., An Unexpected Molecular Imprinting Effect for a Polyaromatic Hydrocarbon, Anthracen, Using Uniform Size Ethylene Dimethacrylate Particles. *Journal of High Resolution Chromatography* **1999** 22, (5), 256-260.

78. Lu, Y.; Li, C.; Wang, X.; Sun, P.; Xing, X., Influence of polymerization temperature on the molecular recognition of imprinted polymers. *Journal of Chromatography B* **2004**, 804, (1), 53-59.

79. Piletsky, S. A.; Mijangos, I.; Guerreiro, A.; Piletska, E. V.; Chianella, I.; Karim, K.; Turner, A. P. F., Polymer cookery: Influence of polymerization time and different initiation conditions on performance of molecularly imprinted polymers. *Macromolecules* **2005**, 38, (4), 1410-1414.

80. Ball, P., The Quinolones: History and Overview. In *The quinolones*, Andriole, V. T., Ed. Academic Press: San Diego, California, 2000; pp 1-31.

81. Brighty, K. E.; Gootz, T. D., Chemistry and Mechanism of Action of the Quinolone Antibacterials. In *The quinolones*, Andriole, V. T., Ed. Academic Press: San Diego, California, 2000; pp 33-97.

82. Moema, D.; Nindi, M. M.; Dube, S., Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of fluoroquinolones in chicken liver by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* **2012**.

83. Kemper, N., Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators* **2008**, 8, (1), 1-13.

84. Zhao, L.; Huan Dong, Y.; Wang, H., Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinves of China. *Science of The Total Environment* **2010**, 408, (5), 1069-1075.

85. Martínez-Carballo, E.; González-Barreiro, C.; Scharf, S.; Gans, O., Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution* **2007**, 148, (2), 570-579.

86. Lewis, G.; Juhasz, A.; Smith, E., Environmental metabolites of fluoroquinolones:synthesis, fractionation and toxicological assessment of some biologically active metabolites of ciprofloxacin. *Environmental Science and Pollution Research* **2012**, 19, (7), 2697-2707.

87. Golet, E. M.; Alder, A. C.; Giger, W., Environmental Exposure and Risk Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Wastewater and River Water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environmental Science & Technology* **2002**, 36, (17), 3645-3651.

88. Golet, E. M.; Xifra, I.; Siegrist, H.; Alder, A. C.; Giger, W., Environmental Exposure Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents from Sewage to Soil. *Environmental Science & Technology* **2003**, 37, (15), 3243-3249.

89. Hektoen, H.; Berge, J. A.; Hormazabal, V.; Yndestad, M., Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture* **1995**, 133, (3-4), 175-184.

90. Babic, S.; Horvat, A. J. M.; Pavlovic, D. M.; Kastelan-Macan, M., Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. *Trends in Analytical Chemistry* **2007**, 26, (11), 1043-1061.

91. Jiménez-Lozano, E.; Marqués, I.; Barrón, D.; Beltrán, J. L.; Barbosa, J., Determination of pKa values of quinolones from mobility and spectroscopic data obtained by capillary electrophoresis and a diode array detector. *Analytica Chimica Acta* **2002**, 464, (1), 37-45.

92. Qiang, Z.; Adams, C., Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Research* **2004**, 38, (12), 2874-2890.

93. Barrón, D.; Jiménez-Lozano, E.; Cano, J.; Barbosa, J., Determination of residues of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in biological materials by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B* **2001**, 759, (1), 73-79.

94. Rusu, A.; Tóth, G.; Szöcs, L.; Kökösi, J.; Kraszni, M.; Gyéresi, Á.; Noszál, B., Triprotic site-specific acid-base equilibria and related properties of fluoroquinolones antibacterials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2012**, 66, 50-57.

95. Höffken, G.; Borner, K.; Glatzel, P. D.; Koeppe, P.; Lode, H., Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antiacids. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* **1985,** 4, (3), 345.

96. Kara, M.; Hassinoff, B. B.; Mckay, D. N.; Campbell, N. R. C., Clinical and chemical interactions between iron preparations and ciprofloxacin. *British Journal of Clinical Pharmacology* **1991**, 31, (3), 257-261.

97. Polk, R. E.; Healey, D. P.; Sahai, J.; Drwal, L.; Racht, E., Effect of ferrous sulphate and multivitamins with zinc on absorption of ciprofloxacin in normal volunteers. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **1989**, 33, (11), 1841-1844.

98. Zakelj, S.; Berginc, K.; Ursic, D.; Veber, M.; Kristl, A., Metal cation–fluoroquinolone complexes do not permeate through the intestinal absorption barrier. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2010**, 53, (3), 655-659.

99. Sakai, M.; Hara, A.; Anjo, S.; Nakamura, M., Comparison of the complexation of fluoroquinolone antimicrobials with metal ions by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1999**, 18, 1057-1067.

100. Turel, I., The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 232, 27-47.

101. Turel, I.; Bukovec, N., Complex formation between some metals and a quinolone family member (ciprofloxacin). *Polyhedron* **1996**, 15, (2), 269-275.

102. Serafin, A.; Stańczak, A., The complexes of Metal Ions with Fluoroquinolones. *Russian Journal of Coordination Chemistry* **2009**, 35, (2), 81-95.

103. Kumar Saha, D.; Sandbhor, U.; Shirisha, K.; Padhye, S.; Deobagkar, D.; Abson, C. E.; Powell, A. K., A novel mixed-ligand antimycobacterial dimeric copper complex of ciprofloxacin and phenanthroline. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, 3027-3032.

104. Macías, B.; Villa, M. V.; Castiñeiras, A.; Borras, J., Complexes of Co (II) and Zn (II) with ofloxacin. Crystal Structure of [Co(oflo)2(MeOH)2].4MeOH. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2002**, 91, (11), 2416-2423.

105. Macías, B.; Villa, M. V.; Rubio, I.; Castiñeiras, A.; Borrás, J., Complexes of Ni(II) and Cu(II) with ofloxacin Crystal structure of a new Cu(II) ofloxacin complex. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2001**, 84, 163-170.

106. Ruíz, P.; Ortiz, R.; Perelló, L.; Alzuet, G.; González-Álvarez, M.; Liu-González, M.; Sanz-Ruíz, F., Synthesis, structure, and nuclease properties of several binary and ternary complexes of copper(II) with norfloxacin and 1, 10 phenantroline. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2007**, 101, 831-840.

107. Ruiz, M.; Perelló, L.; Ortiz, R.; Castiñeiras, A.; Maichle-Mössmer, C.; Cantón, E., Synthesis, Characterization, and Crystal Structure of [Cu(cinoxacinate)₂] 2H₂O Complex: A Square-Planar CuO₄ Chromophore. Antibacterial Studies. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1995**, 59, 801-810.

108. Wallis, S. C.; Gahan, L. R.; Charles, B. G.; Hambley, T. W.; Duckworth, P. A., Copper (II) Complexes of the Fluoroquinolone Antimicrobial Ciprofloxacin. Synthesis, X-Ray Structural Characterization, and Potentiometric Study. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1996**, 62, 1-16.

109. Perez-Guaita, D.; Boudesocque, S.; Sayen, S.; Guillon, E., Cu(II) and Zn (II) complexes with a fluoroquinolone antibiotic: Spectroscopic and X-ray absorption characterization *Polyhedron* **2011**, 30, 438-443.

110. Mendonça Vieira, L. M.; Vieira de Almeida, M.; Avelino de Abreu, H.; Anderson Duarte, H.; Michael Grazul, R.; Soares, F., A.P., Platinum (II) with fluoroquinolones: Synthesis and charactrization of unusual metal-piperazine chelates. *Inorganica Chimica Acta* **2009**, 362, (6), 2060-2064.

111. Zupancic, M.; Turel, I.; Bukovec, P.; White, A. J. P.; Whilliams, D. J., Synthesis and Characterization of Two Novel Zinc (II) Complexes with Ciprofloxacin. Crystal Structure of [C17H19N3O3F]2•[ZnCl4]•2H2O. *Croatica Chemica Acta* **2001**, 74, (1), 64-74.

112. Mendoza-Díaz, G.; Ireta-Moreno, J., Synthesis and Characterization of Zinc Mixed complexes with Nalidixate anion and (N-N) donors. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1994**, 54, 235-246.

113. Mendoza-Díaz, G.; Martínez-Aguilera, L. M. R.; Moreno-Esparza, R.; Pannell, K. H.; Cervantes-Lee, F., Some Mixed-Ligand Complexes of Copper (II) with Drugs of the Quinolone Family and (N-N) Donors. Crystal Structure of [Cu(phen)(Cnx)(H₂O)]NO₃•H₂O. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1993**, 50, (2), 65-78.

114. Drevensek, P.; Leban, I.; Turel, I.; Giester, G.; Tillmanns, E., A novel copper (II) complex with 1,10 phenanthroline and ciprofloxacin. *Acta Crystallographica Section C* **2003**, C59, m376-m378.

115. Efthimiadou, E. K.; Sanakis, Y.; Katsarou, M.; Raptopoulou, C. P.; Karaliota, A.; Katsaros, N.; Psomas, G., Neutral and cationic mononuclear copper (II) complexes with enrofloxacin: Structure and biological activity. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2006**, 100, 1378-1388.

116. Al-Mustafa, J.; Tashtoush, B., Iron (II) and Iron (III) perchlorate complexes of ciprofloxacin and norfloxacin. *Journal of Coordination Chemistry* **2003**, 56, (2), 113-124.

117. Drevensek, P.; Golobic, A.; Turel, I.; Poklar, N.; Sepcic, K., Crystal Structure, Characterisation and Biological Activity of Copper (II))-Ciprofloxacin ionic compound. *Acta Chimica Slovenica* **2002**, 49, 857-870.

118. Zhen-Feng, C.; Liang-Cai, Y.; Ming, Z.; Tao, Y.; Hong, L.; Hoong-Kun, F.; Yong, Z., Synthesis and crystal structure of two samarium (III) complexes with bio-relevant ligands. *Journal of Coordination Chemistry* **2007**, 60, (2), 219-228.

119. Dong-Rong, X.; En-Bo, W.; Hai-Yan, A.; Yang-Guang, L.; Lin, Y., Synthesis and Structures of Three Unprecedented Metal-Ciprofloxacin Complexes with Helical Character. *Crystal Growth & Design* **2007**, 7, (3), 506-512.

120. Kapetanovic, V.; Milovanovic, L.; Erceg, M., Spectrophotometric and polarographic investigation of the ofloxacin-Cu(II) complexes. *Talanta* **1996**, 43, 2123-2139.

121. Turel, I.; Golobic, A.; Klavzar, A.; Pihlar, B.; Buglyo, P.; Tolis, E.; Rehder, D.; Sepcic, K., Interactions of oxovanadium (IV) and the quinolone family member-ciprofloxacin. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2003**, 95, 199-207.

122. Kawai, Y.; Matsubayashi, K.; Hakusui, H., Interaction of Quinolones with Metal Cations in Aqueous Solution. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1996**, 44, (8), 1425-1430.

123. Saha, D. K.; Padhye, S.; Anson, C. E.; Powell, A. K., Hydrothermal synthesis, crystal structure, spectroscopy, electrochemistry and antimicobacterial evalutation of the copper (II) ciprofloxacin complex: [Cu(cf)₂(BF₄)₂] 6H₂O. *Inorganica Chemistry Communications* **2002**, 5, 1022-1027.

124. López-Gresa, M. P.; Ortiz, R.; Perelló, L.; Latorre, J.; Liu-González, M.; García-Granda, S.; Pérez-Priede, M.; Cantón, E., Interactions of metal ions with two quinolone antimicrobial agents (cinoxacin and ciprofloxacin) Spectroscopic and X-ray structural characterization. Antibacterial studies. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2002**, 92, 65-74.

125. Katsarou, M. E.; Efthimiadou, E. K.; Psomas, G.; Karaliota, A.; Vourloumis, D., Novel Copper (II) complex of N-Propyl-norfloxacin and 1,10 Phenanthroline with enhanced antileukemic and DNA Nuclease activities. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51, (3), 470-478.

126. Chattah, A. K.; Garro Linck, Y.; Monti, G. A.; Levstein, P. R.; Breda, S. A.; Manzo, R. H.; Olivera, M. E., NMR and IR characterization of the aluminium complexes of norfloxacin and ciprofloxacin fluoroquinolones. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2007**, 45, 850-859.

127. Sagdinc, S.; Bayari, S., Spectroscopic studies on the interaction of ofloxacin with metals. *Journal of Molecular Structure* **2004**, 691, 107-113.

128. Urbaniak, B.; Kokot, Z. J., Analysis of the factors that significantly influence the stability of fluoroquinolone-metal complexes. *Analytica Chimica Acta* **2009**, 647, 54-59.

129. Gao, F.; Yang, P.; Xie, J.; Wang, H., Synthesis, characterization and antibacterial activity of novel Fe(III), Co(II), and Zn(II) complexes with norfloxacin. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1995**, 60, (1), 61-67.

130. Yong-Xiu, L.; Zhen-Feng, C.; Ren-Gen, X.; Ziling, X.; Huang-Xian, J.; Xiao-Zeng, Y., A mononuclear complex of norfloxacin with silver (I) and its properties. *Inorganica Chemistry Communications* **2003**, 6, (7), 819-822.

131. Refat, M. S., Synthesis and characterization of norfloxacin-transition metal complexes (group 11, IB): Spectroscopic, thermal, kinetic measurements and biological activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2007**, 68, (5), 1393-1405.

132. Badea, M.; Olar, R.; Marinescu, D.; Uivarosi, V.; Iacob, D., Thermal descomposition of some biologically active complexes of ruthenium (III) with quinolone derivates. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2009**, 97, (2), 735-739.

133. Badea, M.; Olar, R.; Marinescu, D.; Uivarosi, V.; Nicolescu, T. O.; Iacob, D., Thermal study of some new quinolone ruthenium (III) complexes with potential cytostatic activity. *Journal of Thermal Analysis Calorimetry* **2010**, 99, (3), 829-834.

134. Ma, H. H. M.; Chiu, F. C. K.; Li, R. C., Mechanistic Investigation of the Reduction in Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin by Metal Cations. *Pharmaceutical Research* **1997**, 14, (3), 366-370.

135. Ross, D. L.; Riley, C. M., Physicochemical properties of the fluoroquinolone antimicrobials V. Effect of fluoroquinolone structure and pH on the complexation of various fluoroquinolones with magnesium and calcium ions. *International Journal of Pharmaceutics* **1993**, 93, (1-3), 121-129.

136. Efthimiadou, E. K.; Katsaros, N.; Karaliota, A.; Psomas, G., Synthesis, characterization, antibacterial activity, and interaction with DNA of the vanadyl-enrofloxacin complex. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, (5), 1238-1242.

137. Efthimiadou, E. K.; Karaliota, A.; Psomas, G., Mononuclear dioxomolybdenum(VI) complexes with the quinolones enrofloxacin and sparfloxacin: Synthesis, structure, antibacterial activity and interaction with DNA. *Polyhedron* **2008**, 27, (1), 349-356.

138. Efthimiadou, E. K.; Karaliota, A.; Psomas, G., Mononuclear metal complexes of the secondgeneration quinolone antibacterial agent enrofloxacin: Synthesis, structure, antibacterial activity and interaction with DNA. *Polyhedron* **2008**, 27, (5), 1729-1738.

139. Saraiva, R.; Lopes, S.; Ferreira, M.; Novais, F.; Pereira, E.; Feio, M. J.; Gameiro, P., Solution and biological behaviour of enrofloxacin metalloantibiotics: A route to counteract bacterial resistance? *Journal of Inorganic Biochemistry* **2010**, 104, (8), 843-850.

140. Ftouni, H.; Sayen, S.; Boudesocque, S.; Dechamps-Oliver, I.; Guillon, E., Structural study of the copper(II)–enrofloxacin metallo-antibiotic. *Inorganica Chimica Acta* **2012**, 382, 186-190.

141. El-Shwiniy, W. H.; Ei-Attar, M. S.; Sadeek, S. A., Metal complexes of enrofloxacin Part I: Preparation, spectroscopic, thermal analysis studies and antimicrobial evaluation. *Journal of the Korean Chemical Society* **2013**, 57, (1), 52-62.

142. Psomas, G.; Kessissoglou, D., Quinolones and non-steroidal anti-inflammatory drugs interacting with copper(II), nickel(II), cobalt(II) and zinc(II): structural features, biologicas evaluation and perspectives. *Dalton Transactions* **2013**, 42, 6252-6276.

143. Bivián-Castro, E. Y.; Cervantes-Lee, F.; Mendoza-Díaz, G., Synthesis characterization and crystal structure of copper (II) ternary complex with cinoxacin and histamine. *Inorganica Chimica Acta* **2004**, 357, 349-353.

144. Gameiro, P.; Rodrigues, C.; Baptista, T.; Sousa, I.; de Castro, B., Solution studies on binary and ternary complexes of copper (II) with some fluoroquinolones and 1,10 phenanthroline: Antimicrobial activity of ternary metalloantibiotics. *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, 334, 129-136.

145. Hernández-Gil, J.; Perelló, L.; Ortiz, R.; Alzuet, G.; González-Álvarez, M.; Liu-González, M., Synthesis, structure and biological properties of several binary and ternary complexes of copper(II) with ciprofloxacin and 1,10 phenanthroline. *Polyhedron* **2009**, 28, (1), 138-144.

146. Fernandes, P.; Sousa, I.; Cunha-Silva, L.; Ferreira, M.; de Castro, B.; Pereira, E. F., Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper (II) lomefloxacin ternary complex. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2014**, 131, 21-29.

147. Tarushi, A.; Lafazanis, K.; Kljun, J.; Turel, I.; Pantazaki, A. A.; Psomas, G.; Kessissoglou, D. P., Firstand second-generation quinolone antibacterial drugs interacting with zinc (II): Structure and biological perspectives. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2013**, 121, 53-65.

148. Recillas-Mota, J. J.; Flores-Alamo, M.; Moreno-Esparza, R.; Gracia-Mora, J., A cooper (II) complex of 1,10-phenanthroline and enrofloxacin. *Acta Crystallographica Section E* **2007**, 63, (12), i192–i204, m2871–m3207, o4501–o4937.

149. Caro, E.; Marcé, R. M.; Cormack, P. A. G.; Sherrington, D. C.; Borrull, F., Novel enrofloxacin imprinted polymer applied to the solid-phase extraction of fluorinated quinolones from urine and tissue samples. *Analytica Chimica Acta* **2006**, 562, (2), 145-151.

150. Caro, E.; Marcé, R. M.; Borrull, F.; Cormack, P. A. G.; Sherrington, D. C., Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of compounds from environmental and biological samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2006**, 25, (2), 143-154.

151. Zheng, M.-M.; Gong, R.; Zhao, X.; Feng, Y.-Q., Selective sample pretreatment by molecularly imprinted polymer monolith for the analysis of fluoroquinolones from milk samples. *Journal of Chromatography A* **2010**, 1217, (14), 2075-2081.

152. Xiao-Xia, L.; Li-Hong, B.; Huan, W.; Jia, W.; Yan-Ping, H.; Zhao-Sheng, L., Preparation and characterization of enrofloxacin-imprinted monolith prepared with crowding agents. *Journal of Chromatography A* **2012**, 1251, 141-147.

153. Lui, H.; Zhuang, X.; Turson, M.; Zhang, M.; Dong, X., Enrofloxacin-imprinted monolithic columns synthesized using reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization. *Journal of Separation Science* **2008**, 31, (10), 1694-1701.

154. Zheng, C.; Yan-Ping, H.; Zhao-Sheng, L., Synthesis and theoretical study of molecularly imprinted monoliths for HPLC. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* **2013**, 405, (7), 2147-2161.

155. Hall, A. J.; Manesiotis, P.; Emgenbroich, M.; Quaglia, M.; De Lorenzi, E.; Sellergren, B., Urea Host Monomers for Stoichiometric Molecular Imprinting of Oxyanions. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, 70, (5), 1732-1736.

156. Turiel, E.; Martín-Esteban, A.; Tadeo, J. L., Molecular imprinting-based separation methods for selective analysis of fluoroquinolones in soils. *Journal of Chromatography A* **2007**, 1172, (2), 97-104.

157. Yan, H.; Qiao, F.; Row, K. H., Molecularly Imprinted-Matrix Solid-Phase Dispersion for Selective Extraction of Five Fluoroquinolones in Eggs and Tissue. *Analytical Chemistry* **2007**, 79, (21), 8242-8248.

158. Qiao, F.; Sun, H., Simultaneous extraction of enrofloxacin and ciprofloxacin from chicken tissue by molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2010**, 53, (3), 795-798.

159. Díaz-Alvarez, M.; Turiel, E.; Martín-Esteban, A., Selective sample preparation for the analysis of (fluoro)quinolones in baby food: Molecularly imprinted polymers versus anion-exchange resins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, 393, (3), 899-905.

160. Sun, H.-w.; Qiao, F.-w., Recognition mechanism of water-compatible molecularly imprinted solid-phase extraction and determination of nine quinolones in urine by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2008**, 1212, (1-2), 1-9.

161. Prieto, A.; Schrader, S.; Bauer, C.; Möder, M., Synthesis of a molecularly imprinted polymer and its application for microextraction by packed sorbent for the determination of fluoroquinolone related compounds in water. *Analytica Chimica Acta* **2011**, 685, (2), 146-152.

162. Ma, Y.; Pan, G.; Zhang, Y.; Guo, X.; Zhang, H., Narrowly Dispersed Hydrophilic Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles for Efficient Molecular Recognition in Real Aqueous Samples Incluiding River Water, Milk, and Bovine Serum. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, 52, (5), 1511-1514.

163. Qu, S.; Wang, X.; Tong, C.; Wu, J., Metal ion mediated molecularly imprinted polymer for selective capturing antibiotics containing beta-diketone structure. *Journal of Chromatography A* **2010**, 1217, (52), 8205-8211.

164. Werner, H.; Vicha, R.; Gissibl, A.; Reiser, O., Improved Synthesis of Aza-bis(oxazoline) Ligands. *Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, (26), 10166-10168.

165. Werner, H.; Herrerías, C. I.; M., G.; Gissibl, A.; Fraile, J. M.; Pérez, I.; Mayoral, J. A.; Reiser, O., Synthesis of Polymer Bound Azabis(oxazoline) Ligands and their Application in Asymmetric Cyclopropanations. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2006**, 348, (1-2), 125-132.

166. Morris, L. R.; Mock, R. A.; Marshall, C. A.; Howe, J. H., Synthesis of some amino acid derivates of styrene. *Journal of American Chemical Society* **1959**, 81, 377-382.

167. Yan, M.; Ramström, O., *Molecularly imprinted materials* Marcel Dekker: New York, 2005.

168. Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C.; Herrera, A.; Martínez, R., *Determinación estructural de compuestos orgánicos*. Masson, S.A.: Barcelona, 2004.

169. Socrates, G. *Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts*, John Wiley & Sons, Itd: Inglaterra, 2001.

170. Alonso, P. J.; Fraile, J. M.; García, J.; García, J. I.; Martinez, J. I.; Mayoral, J. A.; Sánchez, M. C., Spectroscopic study of Structure of Bis(oxazoline) copper Complexes in Solution and Immobilized on Laponite Clay. Influence of the Structure on the Catalytic Performance. *Langmuir* **2000**, 16, (13), 5607-5612.

171. Yungerman, I.; Srebnik, S., Factors Contributing to Binding-Site Imperfections in Imprinted Polymers. *Chemistry of materials* **2006**, 18, (3), 657-663.

172. Spivak, D. A., Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, 57, 1779-1794.

173. Li, Z.; Day, M.; Ding, J.; Faid, K., Synthesis and Characterization of Functional Methacrylate Copolymers and Their Application in Molecular Imprinting. *Macromolecules* **2005**, 38, 2620-2625.

174. Lorenzo, R. A.; Carro, A. M.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A., To remove or not to remove? The challenge of extracting the template to make the cavities available in molecularly imprinted polymers (MIPs). *International Journal of Molecular Sciences* **2011**, 12, (7), 4327-4347.

175. Burguete, M. I.; Fraile, J. M.; García, J. I.; García-Verdugo, E.; Herrerías, C. I.; Luis, S. V.; Mayoral, J. A., Bis(oxazoline) copper Complexes Covalently Bonded to Insoluble Support as Catalysts in Cyclopropanation Reactions. *Journal of Organic Chemistry* **2001**, 66, (26), 8893-8901.

176. Yoshimatsu, K.; Reimhult, K.; Krozer, A.; Mosbach, K.; Sode, K.; Ye, L., Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications. *Analytica Chimica Acta* **2007**, 584, 112-121.

177. Haque, K.; Kawai, Y.; Suzuki, T., Glass transition and enthalpy relaxation of amorphous lactose glass. *Carbohydrate Research* **2006**, 341, 1884-1889.

178. Hyun-Jung, C.; Eun-Jung, L.; Seung-Taik, L., Comparison in glass transition and enthalpy relaxation between native and gelatinized starches. *Carbohydrate Polymers* **2002**, 48, 287-298.

179. Cascaval, C. N.; Hurduc, N.; Poinescu, I. C., Thermal degradation of some polymers based on ethylene glycol dimethacrylate. *Journal of Thermal Analysis* **1988**, 34, 311-317.

180. García-Calzón, J. A.; Diaz-Garcia, M. E., Characterization of binding sites in molecularly imprinted polymers. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2007**, 123, (2), 1180-1194.

Anexo I

Datos cristalográficos y parámetros de refinamiento de la estructura del compuesto $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O]NO_3 \cdot (H_2O)_2$

Fórmula empírica Peso molecular Temperatura Longuitud de onda Sistema cristalino Grupo espacial Dimensiones de la celda unitaria	$C_{31} H_{35} Cu F N_6 O_9$ 718.19 298 K 0.71073 Å Triclínico P-1 a = 10.819 Å b = 12.010 Å	$\alpha = 76.75^{\circ}.$
	c = 12.968 Å	$\beta = 87.91$. $\gamma = 80.37^{\circ}$.
Volumen Z	1618.3 Å ³ 2	
Densidad (calculada)	1.474 Mg/m ³	
Coeficiente de absorción F(000)	0.744 mm ⁻¹ 746	
datos (grados)	1.61 to 29.00°.	
Intervalos de índices Reflexiones colectadas Reflexiones independientes Integridad a θ = 29.00° Máximo y mínimo de transmisión Método de refinamiento F ²	-1<=h<=14, -15<=k< 9765 8483 [R(int) = 0.0462 98.4 % 0.8416 and 0.8244 Mínimos cuadrados	=15, -17<=l<=17 2] en la matriz completa de
Datos / restricciones / parámetros	8483 / 0 / 434	
Bondad de ajuste en F ² Índice R final [I>2sigma(I)] Índice R (Todos los datos)	0.969 R1 = 0.0740, wR2 = R1 = 0.2115, wR2 =	0.1040 0.1413
Máximo y mínimo residuales	0.310 and -0.346 e.Å	,-3

$\begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$						
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		Х	у	Z	U(eq)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(1)	2008(4)	6638(4)	9223(3)	42(1)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(2)	3103(5)	7025(4)	9413(4)	53(1)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(3)	3056(5)	7815(4)	10040(4)	58(1)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(4)	1916(5)	8229(4)	10477(4)	46(1)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(5)	1743(6)	9061(4)	11131(4)	61(2)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(6)	612(6)	9412(4)	11518(4)	61(2)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(7)	-488(5)	8978(4)	11301(4)	48(1)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(8)	-1710(6)	9307(4)	11672(4)	58(2)	
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	C(9)	-2684(6)	8835(5)	11390(4)	64(2)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(10)	-2461(5)	8064(4)	10723(4)	56(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(11)	-346(5)	8164(4)	10648(3)	39(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(12)	856(4)	7793(4)	10231(3)	37(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(13)	-2644(4)	4646(4)	7421(3)	39(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(14)	-2075(4)	5104(3)	8122(3)	34(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(15)	-746(4)	4976(4)	8120(3)	33(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(16)	-76(4)	4355(4)	7369(3)	33(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(17)	-735(4)	3882(3)	6698(3)	32(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(18)	-74(4)	3235(4)	6008(3)	39(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(19)	1224(4)	3052(4)	5973(3)	37(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(20)	1845(4)	3581(4)	6633(4)	43(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(21)	1232(4)	4216(4)	7296(3)	40(1)́	
C(23) $3639(4)$ $2084(4)$ $4084(4)$ $49(1)$ C(24) $2246(5)$ $699(4)$ $4540(4)$ $53(1)$ C(25) $1301(4)$ $1550(4)$ $4970(4)$ $48(1)$ C(26) $3850(5)$ $497(4)$ $3183(4)$ $65(2)$ C(27) $4434(5)$ $1063(5)$ $2166(4)$ $82(2)$ C(28) $-2761(4)$ $3705(4)$ $5946(4)$ $45(1)$ C(29) $-2825(5)$ $2460(4)$ $6044(4)$ $63(2)$ C(30) $-3958(5)$ $3280(5)$ $6265(5)$ $77(2)$ C(31) $-2916(5)$ $5673(4)$ $8861(4)$ $41(1)$ Cu(1) $-794(1)$ $6592(1)$ $9424(1)$ $40(1)$ F(1) $3121(2)$ $3391(3)$ $6634(2)$ $64(1)$ N(1) $904(3)$ $7006(3)$ $9619(3)$ $37(1)$ N(2) $-1329(4)$ $7709(3)$ $10378(3)$ $42(1)$ N(3) $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ N(4) $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	C(22)	2726(5)	2939(4)	4549(4)	49(1)	
C(24) $2246(5)$ $699(4)$ $4540(4)$ $53(1)$ $C(25)$ $1301(4)$ $1550(4)$ $4970(4)$ $48(1)$ $C(26)$ $3850(5)$ $497(4)$ $3183(4)$ $65(2)$ $C(27)$ $4434(5)$ $1063(5)$ $2166(4)$ $82(2)$ $C(28)$ $-2761(4)$ $3705(4)$ $5946(4)$ $45(1)$ $C(29)$ $-2825(5)$ $2460(4)$ $6044(4)$ $63(2)$ $C(30)$ $-3958(5)$ $3280(5)$ $6265(5)$ $77(2)$ $C(31)$ $-2916(5)$ $5673(4)$ $8861(4)$ $41(1)$ $Cu(1)$ $-794(1)$ $6592(1)$ $9424(1)$ $40(1)$ $F(1)$ $3121(2)$ $3391(3)$ $6634(2)$ $64(1)$ $N(1)$ $904(3)$ $7006(3)$ $9619(3)$ $37(1)$ $N(2)$ $-1329(4)$ $7709(3)$ $10378(3)$ $42(1)$ $N(3)$ $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ $N(4)$ $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ $N(5)$ $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ $N(6)$ $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ $O(1)$ $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ $O(2)$ $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	C(23)	3639(4)	2084(4)	4084(4)	49(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(24)	2246(5)	699(4)	4540(4)	53(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(25)	1301(4)	1550(4)	4970(4)	48(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(26)	3850(5)	497(4)	3183(4)	65(2)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(27)	4434(5)	1063(5)	2166(4)	82(2)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(28)	-2761(4)	3705(4)	5946(4)	45(1)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(29)	-2825(5)	2460(4)	6044(4)	63(2)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(30)	-3958(5)	3280(5)	6265(5)	77(2)	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	C(31)	-2916(5)	5673(4)	8861(4)	41(1)́	
F(1) $3121(2)$ $3391(3)$ $6634(2)$ $64(1)$ N(1)904(3)7006(3)9619(3) $37(1)$ N(2) $-1329(4)$ 7709(3) $10378(3)$ $42(1)$ N(3) $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ N(4)1947(3) $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	Cu(1)	-794(1)	6592(1)	9424(1)	40(1)	
N(1) $904(3)$ $7006(3)$ $9619(3)$ $37(1)$ N(2) $-1329(4)$ $7709(3)$ $10378(3)$ $42(1)$ N(3) $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ N(4) $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	F(1)	3121(2)	3391(3)	6634(2)	64(1)	
N(2) $-1329(4)$ $7709(3)$ $10378(3)$ $42(1)$ N(3) $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ N(4) $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	N(1)	904(3)	7006(3)	9619(3)	37(1)	
N(3) $-2046(3)$ $4051(3)$ $6738(3)$ $35(1)$ N(4) $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	N(2)	-1329(4)	7709(3)	10378(3)	42(1)	
N(4) $1947(3)$ $2339(3)$ $5382(3)$ $38(1)$ N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	N(3)	-2046(3)	4051(3)	6738(3)	35(1)	
N(5) $2982(4)$ $1309(3)$ $3667(3)$ $44(1)$ N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	N(4)	1947(3)	2339(3)	5382(3)	38(1)	
N(6) $8155(5)$ $1902(5)$ $3300(3)$ $65(1)$ O(1) $-88(3)$ $5349(2)$ $8732(2)$ $41(1)$ O(2) $-2439(3)$ $6183(3)$ $9487(2)$ $49(1)$	N(5)	2982(4)	1309(3)	3667(3)	44(1)	
$\begin{array}{cccccccc} O(1) & -88(3) & 5349(2) & 8732(2) & 41(1) \\ O(2) & -2439(3) & 6183(3) & 9487(2) & 49(1) \end{array}$	N(6)	8155(5)	1902(5)	3300(3)	65(1)	
O(2) -2439(3) 6183(3) 9487(2) 49(1)	O(1)	-88(3)	5349(2)	8732(2)	41(1)	
	O(2)	-2439(3)	6183(3)	9487(2)	49(1)	

Tabla 1. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico (Å²x 10^3) para compuesto [Cu(Fen)(Enr)(H₂O]NO₃·(H₂O)₂

O(3)	-4056(3)	5647(3)	8854(3)	63(1)
O(4)	8492(4)	2820(4)	3381(4)	103(2)
O(5)	7045(5)	1804(5)	3387(4)	119(2)
O(6)	8971(5)	1112(4)	3136(4)	102(2)
O(7)	5753(4)	5834(3)	1306(3)	85(1)
O(8)	5720(4)	4214(4)	3483(4)	117(2)
O(9)	-1096(3)	7946(3)	7894(2)	62(1)

C(22)-H(22A) C(1)-N(1)1.331(5)0.9700 C(1)-C(2)1.392(6) C(22)-H(22B) 0.9700 C(1)-H(1)0.9300 C(23)-N(5) 1.464(5) C(23)-H(23A) C(2)-C(3)1.378(6) 0.9700 C(23)-H(23B) C(2)-H(2)0.9300 0.9700 C(3)-C(4)C(24)-N(5) 1.401(7) 1.485(5)C(3)-H(3)0.9300 C(24)-C(25)1.507(6) 0.9700 C(4)-C(12)1.412(6) C(24)-H(24A) C(4)-C(5)1.439(6) C(24)-H(24B) 0.9700 C(5)-C(6)1.344(7)C(25)-N(4) 1.468(5) C(5)-H(5) 0.9300 C(25)-H(25A) 0.9700 C(6)-C(7)1.438(7)C(25)-H(25B) 0.9700 C(6)-H(6) 0.9300 C(26)-N(5) 1.470(5) C(7)-C(8)1.415(7) C(26)-C(27)1.507(7)C(7)-C(11)1.421(6) C(26)-H(26A) 0.9700 C(8)-C(9)1.374(7)C(26)-H(26B) 0.9700 C(8)-H(8) 0.9300 C(27)-H(27A) 0.9600 C(9)-C(10)C(27)-H(27B) 1.394(6) 0.9600 C(9)-H(9) 0.9300 C(27)-H(27C) 0.9600 C(10)-N(2)1.325(6) C(28)-N(3) 1.479(5)C(10)-H(10) 0.9300 C(28)-C(30)1.481(6) C(11)-N(2)C(28)-C(29)1.364(6)1.487(6)C(11)-C(12)1.431(6) C(28)-H(28) 0.9800 C(12)-N(1)1.361(5) C(29)-C(30)1.502(7) C(13)-N(3) 1.345(5) C(29)-H(29A) 0.9700 C(29)-H(29B) C(13)-C(14)1.375(5) 0.9700 C(13)-H(13) 0.9300 C(30)-H(30A) 0.9700 C(14)-C(15)1.421(6) C(30)-H(30B) 0.9700 C(14)-C(31)1.498(6) C(31)-O(3) 1.239(5)C(15)-O(1)C(31)-O(2)1.290(5)1.283(5) C(15)-C(16)Cu(1)-O(2)1.460(5)1.918(3)C(16)-C(21)1.399(6)Cu(1)-O(1)1.950(3) C(16)-C(17)1.414(5) Cu(1)-N(1) 2.022(4)Cu(1)-N(2) C(17)-N(3)1.399(5)2.029(4)C(17)-C(18)1.415(5) Cu(1)-O(9)2.254(3)C(18)-C(19)1.385(6) N(6)-O(5) 1.225(6) C(18)-H(18) 0.9300 N(6)-O(6) 1.234(6)C(19)-N(4) 1.403(5)N(6)-O(4) 1.246(6) C(19)-C(20)O(7)-H(7A) 1.421(6) 0.8585 C(20)-C(21)1.361(5) O(7)-H(7B) 0.8449 C(20)-F(1) 1.361(5) O(8)-H(8A) 0.8815 C(21)-H(21) 0.9300 O(8)-H(8B) 0.9103 O(9)-H(9A) C(22)-N(4)1.475(5) 0.8363 C(22)-C(23)1.516(6) O(9)-H(9B) 0.8442

Tabla 2. Distancia de enlace [Å] y ángulos selectos [°] para compuesto $[Cu(Fen)(Enr)(H_2O]NO_3 \cdot (H_2O)_2$

N(1)-C(1)-C(2)	122.5(4)	C(17)-C(16)-C(15) 120.7(
N(1)-C(1)-H(1)	118.7	N(3)-C(17)-C(16) 118.9(
C(2)-C(1)-H(1)	118.7	N(3)-C(17)-C(18) 120.8(
C(3)-C(2)-C(1)	119.4(5)	C(16)-C(17)-C(18) 120.2(
C(3)-C(2)-H(2)	120.3	C(19)-C(18)-C(17) 121.1(
C(1)-C(2)-H(2)	120.3	C(19)-C(18)-H(18) 119.4
C(2)-C(3)-C(4)	120.3(5)	C(17)-C(18)-H(18) 119.4
C(2)-C(3)-H(3)	119.9	C(18)-C(19)-N(4) 124.4(
C(4) - C(3) - H(3)	119.9	C(18)-C(19)-C(20) 116.6
C(3)-C(4)-C(12)	116.2(4)	N(4)-C(19)-C(20) 118.9(
C(3)-C(4)-C(5)	125.6(5)	C(21)-C(20)-F(1) 118.7
C(12)-C(4)-C(5)	118.3(5)	C(21)-C(20)-C(19) 123.4(
C(6)-C(5)-C(4)	121.7(5)	F(1)-C(20)-C(19) 117.8(
C(6)-C(5)-H(5)	119.2	C(20)-C(21)-C(16) 120.0
C(4) - C(5) - H(5)	119.2	C(20)-C(21)-H(21) 120.0
C(5)-C(6)-C(7)	121.9(5)	C(16)-C(21)-H(21) 120.0
C(5)-C(6)-H(6)	119.1	N(4)-C(22)-C(23) 111.3(
C(7)-C(6)-H(6)	119.1	N(4)-C(22)-H(22A) 109.4
C(8) - C(7) - C(11)	117.0(5)	C(23)-C(22)-H(22A) 109.4
C(8) - C(7) - C(6)	125.4(4)	N(4)-C(22)-H(22B) 109.4
C(11)-C(7)-C(6)	117.6(5)	C(23)-C(22)-H(22B) 109.4
C(9)-C(8)-C(7)	119.3(4)	H(22A)-C(22)-H(22B)108.0
C(9)-C(8)-H(8)	120.3	N(5)-C(23)-C(22) 111.2(
C(7)-C(8)-H(8)	120.3	N(5)-C(23)-H(23A) 109.4
C(8)-C(9)-C(10)	119.7(5)	C(22)-C(23)-H(23A) 109.4
C(8)-C(9)-H(9)	120.2	N(5)-C(23)-H(23B) 109.4
C(10)-C(9)-H(9)	120.2	C(22)-C(23)-H(23B) 109.4
N(2)-C(10)-C(9)	123.1(5)	H(23A)-C(23)-H(23B)108.0
N(2)-C(10)-H(10)	118.5	N(5)-C(24)-C(25) 110.9(
C(9)-C(10)-H(10)	118.5	N(5)-C(24)-H(24A) 109.5
N(2)-C(11)-C(7)	122.6(4)	C(25)-C(24)-H(24A) 109.5
N(2)-C(11)-C(12)	116.9(4)	N(5)-C(24)-H(24B) 109.5
C(7)-C(11)-C(12)	120.6(5)	C(25)-C(24)-H(24B) 109.5
N(1)-C(12)-C(4)	123.6(4)	H(24A)-C(24)-H(24B)108.1
N(1)-C(12)-C(11)	116.4(4)	N(4)-C(25)-C(24) 109.8(
C(4)-C(12)-C(11)	120.0(4)	N(4)-C(25)-H(25A) 109.7
N(3)-C(13)-C(14)	125.5(4)	C(24)-C(25)-H(25A) 109.7
N(3)-C(13)-H(13)	117.2	N(4)-C(25)-H(25B) 109.7
C(14)-C(13)-H(13)	117.2	C(24)-C(25)-H(25B) 109.7
C(13)-C(14)-C(15)	118.4(4)	H(25A)-C(25)-H(25B)108.2
C(13)-C(14)-C(31)	116.9(4)	N(5)-C(26)-C(27) 113.9(
C(15)-C(14)-C(31)	124.7(4)	N(5)-C(26)-H(26A) 108.8
O(1)-C(15)-C(14)	125.4(4)	C(27)-C(26)-H(26A) 108.8
O(1)-C(15)-C(16)	117.5(4)	N(5)-C(26)-H(26B) 108.8
C(14)-C(15)-C(16)	117.1(4)	C(27)-C(26)-H(26B) 108.8
C(21)-C(16)-C(17)	118.4(4)	H(26A)-C(26)-H(26B)107.7
C(21)-C(16)-C(15)	120.8(4)	C(26)-C(27)-H(27A) 109.5

120.7(4) 118.9(4) 120.8(4) 120.2(4)

121.1(4)

116.6(4) 118.9(4) 118.7(4) 123.4(4)

117.8(4)

120.0(4)

111.3(4)

111.2(4)

110.9(4)

109.8(4)

113.9(4)

119.4 124.4(4) C(26)-C(27)-H(27B) 109.5 H(27A)-C(27)-H(27B)109.5 C(26)-C(27)-H(27C) 109.5 H(27A)-C(27)-H(27C)109.5 H(27B)-C(27)-H(27C)109.5 N(3)-C(28)-C(30)119.0(4) N(3)-C(28)-C(29) 119.5(4)C(30)-C(28)-C(29)60.8(3) N(3)-C(28)-H(28) 115.5 C(30)-C(28)-H(28) 115.5 C(29)-C(28)-H(28) 115.5 C(28)-C(29)-C(30)59.4(3) C(28)-C(29)-H(29A) 117.8 C(30)-C(29)-H(29A) 117.8 C(28)-C(29)-H(29B) 117.8 C(30)-C(29)-H(29B) 117.8 H(29A)-C(29)-H(29B)115.0 C(28)-C(30)-C(29)59.8(3) C(28)-C(30)-H(30A) 117.8 C(29)-C(30)-H(30A) 117.8 C(28)-C(30)-H(30B) 117.8 C(29)-C(30)-H(30B) 117.8 H(30A)-C(30)-H(30B)114.9 O(3)-C(31)-O(2) 121.5(4) O(3)-C(31)-C(14)119.1(4) O(2)-C(31)-C(14)119.4(4)O(2)-Cu(1)-O(1)92.82(12) O(2)-Cu(1)-N(1)170.42(14) O(1)-Cu(1)-N(1)93.01(13) 91.15(15) O(2)-Cu(1)-N(2)O(1)-Cu(1)-N(2)169.27(15)

N(1)-Cu(1)-N(2)	81.83(15)
O(2)-Cu(1)-O(9)	96.08(14)
O(1)-Cu(1)-O(9)	94.07(12)
N(1)-Cu(1)-O(9)	91.09(14)
N(2)-Cu(1)-O(9)	95.43(14)
C(1)-N(1)-C(12)	118.1(4)
C(1)-N(1)-Cu(1)	129.2(3)
C(12)-N(1)-Cu(1)	112.7(3)
C(10)-N(2)-C(11)	118.3(4)
C(10)-N(2)-Cu(1)	129.6(3)
C(11)-N(2)-Cu(1)	112.1(3)
C(13)-N(3)-C(17)	119.3(3)
C(13)-N(3)-C(28)	120.5(4)
C(17)-N(3)-C(28)	119.8(3)
C(19)-N(4)-C(25)	116.8(3)
C(19)-N(4)-C(22)	115.0(3)
C(25)-N(4)-C(22)	110.5(3)
C(23)-N(5)-C(26)	111.9(4)
C(23)-N(5)-C(24)	108.3(3)
C(26)-N(5)-C(24)	112.1(4)
O(5)-N(6)-O(6)	122.2(6)
O(5)-N(6)-O(4)	120.0(6)
O(6)-N(6)-O(4)	117.9(6)
C(15)-O(1)-Cu(1)	121.9(3)
C(31)-O(2)-Cu(1)	127.5(3)
H(7A)-O(7)-H(7B)	103.9
H(8A)-O(8)-H(8B)	97.8
Cu(1)-O(9)-H(9A)	112.9
Cu(1)-O(9)-H(9B)	127.8
H(9A)-O(9)-H(9B)	107.2

	U11	U22	U33	U23	U13	U12	
C(1)	43(3)	44(3)	40(3)	-12(2)	4(2)	-6(2)	
C(2)	41(3)	53(3)	63(3)	-8(3)	6(3)	-8(3)	
C(3)	48(3)	57(3)	69(4)	-8(3)	-13(3)	-19(3)	
C(4)	46(3)	41(3)	50(3)	-6(2)	-13(3)	-10(3)	
C(5)	79(4)	55(4)	60(4)	-23(3)	-18(3)	-24(3)	
C(6)	91(5)	47(3)	50(3)	-22(3)	-9(3)	-9(3)	
C(7)	73(4)	32(3)	39(3)	-13(2)	-8(3)	-2(3)	
C(8)	82(4)	43(3)	49(3)	-22(3)	5(3)	7(3)	
C(9)	67(4)	62(4)	65(4)	-32(3)	9(3)	8(3)	
C(10)	54(4)	53(3)	63(4)	-22(3)	6(3)	1(3)	
C(11)	48(3)	35(3)	33(3)	-7(2)	-4(2)	0(2)	
C(12)	49(3)	32(3)	30(2)	-6(2)	-3(2)	-7(2)	
C(13)	26(3)	41(3)	51(3)	-13(2)	6(2)	-9(2)	
C(14)	32(3)	32(2)	39(3)	-10(2)	3(2)	-3(2)	
C(15)	39(3)	32(3)	31(2)	-11(2)	0(2)	-5(2)	
C(16)	32(3)	37(3)	32(2)	-9(2)	1(2)	-8(2)	
C(17)	34(3)	28(2)	34(2)	-9(2)	4(2)	-8(2)	
C(18)	41(3)	44(3)	37(3)	-16(2)	-2(2)	-11(2)	
C(19)	41(3)	37(3)	36(3)	-12(2)	3(2)	-8(2)	
C(20)	26(3)	51(3)	55(3)	-21(3)	6(2)	-8(2)	
C(21)	36(3)	48(3)	41(3)	-21(2)	2(2)	-11(2)	
C(22)	54(3)	47(3)	49(3)	-16(3)	15(3)	-13(3)	
C(23)	46(3)	54(3)	50(3)	-17(3)	13(3)	-12(3)	
C(24)	71(4)	38(3)	51(3)	-18(2)	11(3)	-9(3)	
C(25)	53(3)	43(3)	53(3)	-24(2)	12(3)	-12(3)	
C(26)	70(4)	54(3)	73(4)	-33(3)	15(3)	8(3)	
C(27)	76(4)	89(5)	85(4)	-41(4)	35(4)	1(4)	
C(28)	45(3)	55(3)	40(3)	-19(2)	-7(2)	-13(3)	
C(29)	68(4)	61(4)	72(4)	-30(3)	-2(3)	-25(3)	
C(30)	42(3)	120(5)	97(5)	-72(4)	10(3)	-30(4)	
C(31)	39(3)	39(3)	47(3)	-16(2)	-4(2)	-4(2)	
Cu(1)	39(1)	43(1)	44(1)	-23(1)	3(1)	-6(1)	
F(1)	30(2)	102(2)	79(2)	-60(2)	6(2)	-10(2)	
N(1)	39(2)	36(2)	39(2)	-14(2)	-1(2)	-3(2)	
N(2)	41(3)	40(2)	45(2)	-17(2)	5(2)	0(2)	
N(3)	35(2)	38(2)	37(2)	-15(2)	0(2)	-7(2)	
N(4)	41(2)	38(2)	41(2)	-17(2)	8(2)	-12(2)	
N(5)	51(3)	36(2)	46(2)	-16(2)	3(2)	-2(2)	
N(6)	67(4)	73(4)	48(3)	2(3)	0(3)	-15(3)	
O(1)	38(2)	45(2)	47(2)	-26(2)	5(2)	-7(2)	
O(2)	39(2)	61(2)	56(2)	-31(2)	11(2)	-13(2)	
O(3)	33(2)	85(3)	83(3)	-47(2)	11(2)	-11(2)	

Tabla 3. Parámetros de desplazamiento anisotrópico ($Å^2x$ 10³) para compuesto [Cu(Fen)(Enr)(H₂O]NO₃·(H₂O)₂.

O(4)	107(4)	78(3)	129(4)	-24(3)	-10(3)	-24(3)	
O(5)	65(3)	157(5)	125(4)	4(4)	-5(3)	-36(3)	
O(6)	102(4)	95(3)	124(4)	-58(3)	23(3)	-13(3)	
O(7)	88(3)	115(3)	69(3)	-41(2)	18(2)	-39(3)	
O(8)	104(4)	114(4)	121(4)	-20(3)	-21(3)	10(3)	
O(9)	57(2)	77(3)	50(2)	-9(2)	-1(2)	-12(2)	

Datos cristalográficos y parámetros de refinamiento de la estructura para compuesto $[Zn_3(Azabox)_5]NO_3$.

Fórmula empírica Peso molecular Temperatura Longuitud de onda Sistema cristalino Grupo espacial	C ₆₇ H ₁₁₂ N ₁₇ O ₁₁ Zn ₃ 1527.85 298(2) K 0.71073 Å Monoclinic C2	
Dimensiones de la celda unitaria	a = 25.6216(17) Å b = 11.3910(8) Å c = 13.9809(9) Å	α= 90°. β= 110.3980(10)°. γ = 90°.
Volumen Z	3824.5(4) Å ³ 2	
Densidad (calculada)	1.327 Mg/m ³	
Coeficiente de absorción F(000)	0.999 mm ⁻¹ 1622	
Tamaño de cristal / forma / color Intervalo de θ para la colección de datos (grados)	0.40 x 0.16 x 0.15 mm / 1.86 to 25.00°	/ Prisma/ incoloro
Difractrometro /modo de adquisición	Bruker Smart APEX	AXS CCD detector de
Intervalos de índices	-30<= h <=3013<= k	<=1316<= <=16
Reflecciones colectadas	15571	
Reflecciones independientes	6714 [R(int) = 0.0454]	
Integridad de $\theta = 25.00^{\circ}$	99.9 %	
Correccion de absorcion	Analytical	
Método de refinamiento F ²	Mínimos cuadrados er	n la matriz completa de
Datos / restricciones / parámetros	6714 / 134 / 503	
Bondad de ajuste en F ² Índices finales de R [I>2sigma(I)] Índices de R (Todos los datos) Parámetro absoluto de estructura	0.886 R1 = 0.0418, wR2 = 0.0 R1 = 0.0536, wR2 = 0.0 -0.002(12))813)847
Máximo y mínimo residuales	0.587 and -0.281 e.Å ⁻³	

Dos grupos isopropilos están distorsionados. El disolvente CH₃CN esta distorsionado y ha sido refinado en dos mayores contriyentes. El disolvente acetona esta en una posición especial y ha sido refinada como un componente.

	Х	У	Z	U(eq)	
Zn(1)	1402(1)	6518(6)	2562(1)	42(1)	
Zn(2)	0	3422(6)	0	41(1)	
O(1)	486(1)	5613(6)	-432(2)	55(1)	
O(2)	721(1)	3178(6)	2205(2)	48(1)	
O(3)	2912(1)	7610(7)	4559(3)	74(1)	
O(4)	1386(2)	9857(6)	3635(3)	81(1)	
O(5)	444(2)	408(7)	-1118(3)	83(1)	
N(1)	1039(1)	6397(7)	1042(2)	42(1)	
N(2)	1106(2)	4940(7)	2714(3)	37(1)	
N(3)	2206(1)	6713(7)	3374(3)	49(1)	
N(4)	1199(2)	8055(7)	2964(3)	49(1)	
N(5)	619(1)	4492(7)	947(3)	38(1)	
N(6)	2125(2)	8650(7)	3997(4)	68(1)	
N(7)	332(2)	2221(7)	-631(3)	46(1)	
N(8)	0	521(8)	0	72(2)	
C(1)	1038(2)	7286(7)	280(4)	62(2)	
C(2)	621(3)	6757(8)	-702(4)	84(2)	
C(3)	733(2)	5517(7)	588(3)	41(1)	
C(4)	828(2)	4278(7)	1957(3)	37(1)	
C(5)	1017(2)	3044(7)	3291(3)	50(1)	
C(6)	1189(2)	4302(7)	3670(3)	43(1)	
C(7)	2667(2)	5832(7)	3669(4)	54(1)	
C(8)	3159(2)	6636(8)	4294(4)	74(2)	
C(9)	2373(2)	7655(7)	3925(4)	54(1)	
C(10)	1582(2)	8778(7)	3518(4)	62(2)	
C(11)	806(2)	9895(7)	3012(5)	72(2)	
C(12)	654(2)	8611(7)	2751(4)	52(1)	
C(13)	1609(3)	7556(8)	257(5)	103(2)	
C(14)	1806(4)	6440(13)	-101(13)	117(4)	
C(15)	1663(4)	8546(11)	-363(7)	114(4)	
C(14A)	2027(8)	6740(20)	170(30)	130(6)	
C(15A)	1840(7)	8530(15)	976(12)	111(6)	
C(16)	853(2)	4862(7)	4270(4)	53(1)	
C(17)	227(2)	4799(7)	3712(5)	75(2)	
C(18)	1002(3)	4331(8)	5322(4)	85(2)	
C(19)	2780(2)	5232(8)	2786(4)	67(2)	
C(20)	2316(2)	4418(8)	2210(5)	100(2)	
C(21)	3321(2)	4534(9)	3180(5)	109(2)	
C(22)	328(2)	8027(7)	3348(4)	51(1)	
C(23)	632(2)	8081(8)	4498(4)	78(2)	
C(24)	-259(2)	8500(7)	3064(4)	61(1)	

Tabla 1 Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico (Å²x 10^3) para compuesto [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	5)	641(2)	2389(8)	-1333(4)	64(2)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	6)	675(3)	1137(8)	-1694(5)	95(2)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	7)	241(2)	1111(8)	-547(4)	56(2)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	8)	1198(3)	3022(7)	-837(5)	104(2)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	9)	1453(5)	3217(11)	-1678(11)	133(4)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0)	1591(4)	2309(16)	71(9)	145(4)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	9A)	1660(20)	3640(50)	-1120(70)	121(8)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0A)	1440(20)	2080(60)	0(60)	114(9)
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	2)	2385(9)	6220(30)	-3555(16)	179(8)
$\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$	1)	1984(10)	6370(20)	-3006(13)	167(6)
$\begin{array}{cccccccc} C(32A) & 2238(11) & 6290(30) & -3925(15) & 128(2) \\ C(31A) & 2386(12) & 5940(30) & -2812(18) & 182(2) \\ N(9A) & 2277(12) & 5830(20) & -2058(18) & 219(2) \\ C(33) & -35(5) & 1419(9) & 5014(10) & 52(2) \\ O(6) & -289(4) & 1522(11) & 5501(8) & 89(2) \\ C(34) & & 197(7) & 1708(12) & 4068(8) & 86(2) \\ \end{array}$)	1633(6)	6396(17)	-2659(10)	188(6)
$\begin{array}{ccccccc} C(31A) & 2386(12) & 5940(30) & -2812(18) & 182(3) \\ N(9A) & 2277(12) & 5830(20) & -2058(18) & 219(3) \\ C(33) & -35(5) & 1419(9) & 5014(10) & 52(3) \\ O(6) & -289(4) & 1522(11) & 5501(8) & 89(3) \\ C(24) & & 197(7) & 1708(12) & 4068(8) & 86(3) \\ \end{array}$	2A)	2238(11)	6290(30)	-3925(15)	128(8)
N(9A)2277(12)5830(20)-2058(18)219(C(33)-35(5)1419(9)5014(10)52(3)O(6)-289(4)1522(11)5501(8)89(3)C(34)197(7)1708(12)4068(8)86(3)	1A)	2386(12)	5940(30)	-2812(18)	182(8)
C(33)-35(5)1419(9)5014(10)52(2)O(6)-289(4)1522(11)5501(8)89(2)C(24)197(7)1708(12)4068(8)86(2)	A)	2277(12)	5830(20)	-2058(18)	219(10)
O(6) -289(4) 1522(11) 5501(8) 89(2 O(24) 107(7) 1708(12) 4068(8) 86(2)	3)	-35(5)	1419(9)	5014(10)	52(2)
C(24) 107(7) 1709(12) 4069(9) 96(4))	-289(4)	1522(11)	5501(8)	89(2)
C(34) -137(7) 1700(13) 4000(8) 60(3)	4)	-197(7)	1708(13)	4068(8)	86(3)
C(35) 494(4) 1220(12) 5368(13) 84(4	5)	494(4)	1220(12)	5368(13)	84(4)

Zn(1)-N(4)	1.964(4)	C(13)-C(15A)	1.476(9)
Zn(1)-N(3)	1.989(3)	C(13)-C(14)	1.516(9)
Zn(1)-N(2)	1.991(4)	C(16)-C(18)	1.512(7)
Zn(1)-N(1)	2.005(3)	C(16)-C(17)	1.523(7)
Zn(2)-N(7)#1	1.973(4)	C(19)-C(20)	1.501(7)
Zn(2)-N(7)	1.973(4)	C(19)-C(21)	1.526(7)
Zn(2)-N(5)	2.071(3)	C(22)-C(24)	1.514(6)
Zn(2)-N(5)#1	2.071(3)	C(22)-C(23)	1.525(7)
O(1) - C(3)	1.348(5)	C(25)-C(26)	1.526(8)
O(1) - C(2)	1.432(6)	C(25)-C(28)	1.534(8)
O(2) - C(4)	1.354(5)	C(28)-C(30)	1.546(6)
O(2) - C(5)	1.450(5)	C(28)-C(29A)	1.546(6)
O(3)-C(9)	1.357(5)	C(28)-C(29)	1.546(6)
O(3)-C(8)	1.390(6)	C(28)-C(30A)	1.546(6)
O(4) - C(10)	1.360(6)	C(32)-C(31)	1.492(17)
O(4)-C(11)	1.436(6)	C(31)-N(9)	1.161(17)
O(5)-C(27)	1.356(6)	C(32A)-C(31A)	1.520(18)
O(5)-C(26)	1.421(7)	C(31A)-N(9A)	1.19(2)
N(1)-C(3)	1.295(6)	C(33)-O(6)	1.101(9)
N(1)-C(1)	1.468(6)	C(33)-C(34)	1.283(10)
N(2)-C(4)	1.292(5)	C(33)-C(35)	1.289(10)
N(2)-C(6)	1.469(5)	N(4)-Zn(1)-N(3)	93.51(16)
N(3)-C(9)	1.303(6)	N(4)-Zn(1)-N(2)	128.77(14)
N(3)-C(7)	1.495(6)	N(3)-Zn(1)-N(2)	113.43(15)
N(4)-C(10)	1.308(6)	N(4)-Zn(1)-N(1)	107.08(17)
N(4)-C(12)	1.466(6)	N(3)-Zn(1)-N(1)	128.12(14)
N(5)-C(3)	1.344(6)	N(2)-Zn(1)-N(1)	89.92(15)
N(5)-C(4)	1.347(5)	N(7)#1-Zn(2)-N(7)	92.3(2)
N(6)-C(9)	1.319(6)	N(7)#1-Zn(2)-N(5)	118.38(15)
N(6)-C(10)	1.325(6)	N(7)-Zn(2)-N(5)	109.90(15)
N(7)-C(27)	1.299(6)	N(7)#1-Zn(2)-N(5)#1	109.90(15)
N(7)-C(25)	1.471(6)	N(7)-Zn(2)-N(5)#1	118.38(15)
N(8)-C(27)#1	1.322(6)	N(5)-Zn(2)-N(5)#1	107.85(19)
N(8)-C(27)	1.322(6)	C(3)-O(1)-C(2)	106.5(4)
C(1)-C(13)	1.505(8)	C(4)-O(2)-C(5)	106.6(3)
C(1)-C(2)	1.538(7)	C(9)-O(3)-C(8)	108.1(4)
C(5)-C(6)	1.538(6)	C(10)-O(4)-C(11)	107.6(4)
C(6)-C(16)	1.534(6)	C(27)-O(5)-C(26)	108.0(5)
C(7)-C(19)	1.523(7)	C(3)-N(1)-C(1)	109.2(4)
C(7)-C(8)	1.556(7)	C(3)-N(1)-Zn(1)	123.4(3)
C(11)-C(12)	1.525(7)	C(1)-N(1)-Zn(1)	127.2(3)
C(12)-C(22)	1.524(7)	C(4)-N(2)-C(6)	108.7(4)
C(13)-C(14A)	1.458(10)	C(4)-N(2)-Zn(1)	124.1(3)
C(13)-C(15)	1.458(8)	C(6)-N(2)-Zn(1)	127.1(3)

Tabla 2. Distancia de enlace [Å] y ángulos selectos [°] para compuesto $[Zn_3(Azabox)_5]NO_3$

C(9)-N(3)-C(7)	108.9(4)	O(4)-C(11)-C(12)	103.9(4)
C(9)-N(3)-Zn(1)	119.4(3)	N(4)-C(12)-C(22)	111.4(4)
C(7)-N(3)-Zn(1)	130.2(3)	N(4)-C(12)-C(11)	102.7(4)
C(10)-N(4)-C(12)	108.3(4)	C(22)-C(12)-C(11)	115.5(4)
C(10)-N(4)-Zn(1)	120.8(3)	C(14A)-C(13)-C(15A)	113.8(11)
C(12)-N(4)-Zn(1)	130.9(3)	C(14A)-C(13)-C(1)	128.2(11)
C(3)-N(5)-C(4)	119.3(4)	C(15)-C(13)-C(1)	117.7(7)
C(3)-N(5)-Zn(2)	119.4(3)	C(15A)-C(13)-C(1)	107.6(8)
C(4)-N(5)-Zn(2)	120.0(3)	C(15)-C(13)-C(14)	109.9(9)
C(9)-N(6)-C(10)	120.3(4)	C(1)-C(13)-C(14)	106.0(6)
C(27)-N(7)-C(25)	109.9(5)	C(18)-C(16)-C(17)	110.0(5)
C(27)-N(7)-Zn(2)	121.0(4)	C(18)-C(16)-C(6)	111.6(4)
C(25)-N(7)-Zn(2)	128.6(3)	C(17)-C(16)-C(6)	113.1(4)
C(27)#1-N(8)-C(27)	119.0(7)	C(20)-C(19)-C(7)	112.0(5)
N(1)-C(1)-C(13)	113.6(5)	C(20)-C(19)-C(21)	108.8(5)
N(1)-C(1)-C(2)	101.7(4)	C(7)-C(19)-C(21)	110.3(5)
C(13)-C(1)-C(2)	116.0(5)	C(24)-C(22)-C(12)	112.6(4)
O(1)-C(2)-C(1)	106.1(4)	C(24)-C(22)-C(23)	110.9(4)
N(1)-C(3)-N(5)	131.6(4)	C(12)-C(22)-C(23)	112.5(4)
N(1)-C(3)-O(1)	115.9(4)	N(7)-C(25)-C(26)	101.9(5)
N(5)-C(3)-O(1)	112.5(4)	N(7)-C(25)-C(28)	113.1(4)
N(2)-C(4)-N(5)	131.2(4)	C(26)-C(25)-C(28)	116.0(5)
N(2)-C(4)-O(2)	115.7(4)	O(5)-C(26)-C(25)	106.0(5)
N(5)-C(4)-O(2)	113.2(4)	N(7)-C(27)-N(8)	132.9(6)
O(2)-C(5)-C(6)	104.2(3)	N(7)-C(27)-O(5)	113.9(5)
N(2)-C(6)-C(16)	111.1(4)	N(8)-C(27)-O(5)	113.2(5)
N(2)-C(6)-C(5)	102.4(3)	C(25)-C(28)-C(30)	111.1(6)
C(16)-C(6)-C(5)	115.3(4)	C(25)-C(28)-C(29A)	141(3)
N(3)-C(7)-C(19)	115.6(4)	C(25)-C(28)-C(29)	107.3(7)
N(3)-C(7)-C(8)	99.6(4)	C(30)-C(28)-C(29)	111.9(7)
C(19)-C(7)-C(8)	112.0(4)	C(25)-C(28)-C(30A)	94(3)
O(3)-C(8)-C(7)	105.4(4)	C(29A)-C(28)-C(30A)	111.9(7)
N(3)-C(9)-N(6)	133.2(5)	N(9)-C(31)-C(32)	172(2)
N(3)-C(9)-O(3)	113.9(5)	N(9A)-C(31A)-C(32A)	152(3)
N(6)-C(9)-O(3)	112.9(4)	O(6)-C(33)-C(34)	124.2(12)
N(4)-C(10)-N(6)	132.0(5)	O(6)-C(33)-C(35)	123.4(13)
N(4)-C(10)-O(4)	114.0(5)	C(34)-C(33)-C(35)	111.1(11)
N(6)-C(10)-O(4)	114.0(5)		

Operación de simetría empleada para generar los átomos: #1 -x,y,-z

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂	
Zn(1)	40(1)	40(1)	44(1)	-6(1)	12(1)	-6(1)	
Zn(2)	39(1)	41(1)	38(1)	Ô	6(1)	0	
O(1)	63(2)	60(2)	37(2)	10(2)	8(2)	-12(2)	
O(2)	61(2)	38(2)	37(2)	5(2)	4(2)	-5(2)	
O(3)	48(2)	84(3)	76(3)	-29(2)	2(2)	-6(2)	
O(4)	71(3)	46(2)	118(3)	-28(2)	25(2)	-7(2)	
O(5)	97(3)	56(3)	109(4)	-26(3)	54(3)	-10(2)	
N(1)	45(2)	38(2)	42(2)	0(2)	15(2)	-8(2)	
N(2)	38(2)	39(2)	32(2)	1(2)	8(2)	-5(2)	
N(3)	37(2)	54(3)	50(2)	-5(2)	8(2)	-2(2)	
N(4)	44(3)	38(3)	67(3)	-13(2)	21(2)	-4(2)	
N(5)	36(2)	39(2)	34(2)	4(2)	7(2)	-2(2)	
N(6)	48(3)	57(3)	91(3)	-24(3)	14(2)	-12(2)	
N(7)	43(3)	51(3)	41(2)	-1(2)	10(2)	2(2)	
N(8)	80(5)	41(4)	101(5)	0	41(4)	0	
C(1)	75(4)	49(3)	61(4)	6(3)	24(3)	-13(3)	
C(2)	103(5)	79(5)	60(4)	30(4)	17(3)	-25(4)	
C(3)	35(3)	50(3)	36(3)	3(2)	8(2)	1(2)	
C(4)	29(2)	37(3)	42(3)	0(2)	8(2)	3(2)	
C(5)	63(3)	40(3)	40(3)	8(2)	9(3)	6(2)	
C(6)	43(3)	47(3)	35(3)	4(2)	8(2)	-2(2)	
C(7)	45(3)	55(3)	56(3)	4(3)	11(3)	2(3)	
C(8)	49(3)	77(4)	74(4)	-17(4)	-6(3)	4(4)	
C(9)	40(3)	53(3)	62(3)	-16(3)	8(3)	-14(3)	
C(10)	60(4)	42(3)	82(4)	-17(3)	22(3)	-9(3)	
C(11)	62(4)	52(4)	103(5)	-14(3)	28(4)	2(3)	
C(12)	50(3)	44(3)	55(3)	-5(3)	11(2)	2(2)	
C(13)	99(5)	132(6)	88(5)	1(4)	46(4)	-57(4)	
C(14)	59(7)	163(7)	141(10)	24(8)	50(7)	-19(8)	
C(15)	83(6)	148(7)	109(8)	45(7)	33(6)	-28(7)	
C(14A) 62(12)	193(13)	146(14)	14(12)	53(12)	-49(9)	
C(15A) 92(12)	134(12)	90(12)	21(8)	9(9)	-92(9)	
C(16)	60(3)	55(3)	48(3)	2(3)	24(3)	1(3)	
C(17)	69(4)	74(4)	97(5)	15(4)	47(4)	13(3)	
C(18)	105(5)	98(5)	65(4)	1(4)	46(4)	16(4)	
C(19)	53(3)	72(4)	69(4)	-12(3)	11(3)	14(3)	
C(20)	66(4)	105(5)	115(5)	-44(5)	12(4)	9(4)	
C(21)	58(4)	140(7)	114(5)	-21(5)	12(4)	26(4)	
C(22)	52(3)	53(3)	48(3)	-7(2)	16(3)	5(2)	
C(23)	66(4)	99(5)	62(4)	-14(3)	16(3)	13(3)	
C(24)	53(3)	64(3)	64(3)	-6(3)	18(3)	10(3)	

Tabla 3. Parámetros de desplazamiento anisotrópico ($Å^2x \ 10^3$) para compuesto [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

C(25)	60(4)	70(4)	64(4)	3(3)	27(3)	11(3)
C(26)	100(5)	95(6)	104(5)	-46(4)	53(4)	-15(4)
C(27)	50(3)	52(4)	65(4)	-10(3)	18(3)	5(3)
C(28)	92(5)	85(5)	172(6)	-38(4)	90(4)	-19(4)
C(29)	131(7)	91(7)	235(9)	-32(7)	137(7)	-36(6)
C(30)	49(6)	229(11)	137(6)	-59(6)	8(5)	-21(6)
C(29A)	107(13)	90(15)	213(16)	-52(13)	115(13)	-27(12)
C(30A)	55(16)	149(15)	144(15)	-28(10)	40(13)	-35(13)
C(33)	62(5)	32(4)	67(4)	-18(8)	31(4)	22(8)
O(6)	102(6)	76(6)	111(6)	8(7)	66(5)	19(7)
C(34)	121(9)	59(8)	66(5)	-12(6)	17(5)	1(8)
C(35)	58(5)	48(8)	135(10)	5(7)	21(6)	9(6)

	х	У	Z	U(eq)
H(1)	879	8012	437	74
H(2A)	289	7240	-953	100
H(2B)	786	6703	-1227	100
H(5A)	1342	2547	3418	60
H(5B)	778	2706	3625	60
H(6)	1586	4313	4089	52
H(7)	2598	5239	4118	65
H(8A)	3398	6233	4900	89
H(8B)	3380	6867	3886	89
H(11Á)	749	10354	2400	87
H(11B)	586	10230	3385	87
H(12)	441	8546	2020	62
H(13)	1854	7703	960	124
H(13A)	1512	7967	-397	124
H(14A)	1792	5801	336	176
H(14B)	2182	6543	-79	176
H(14C)	1570	6269	-788	176
H(15A)	1547	9252	-121	170
H(15B)	1433	8415	-1062	170
H(15C)	2044	8621	-315	170
H(14D)	1852	6154	-334	195
H(14E)	2205	6357	820	195
H(14F)	2301	7154	-18	195
H(15D)	1546	9059	965	167
H(15E)	2113	8944	778	167
H(15F)	2012	8222	1653	167
H(16)	955	5695	4359	63
H(17A)	135	5155	3051	113
H(17B)	39	5209	4099	113
H(17C)	110	3992	3634	113
H(18A)	874	3533	5264	127
H(18B)	827	4774	5712	127
H(18C)	1398	4350	5660	127
H(19)	2817	5837	2316	81
H(20A)	2225	3920	2683	150
H(20B)	2432	3946	1752	150
H(20C)	1994	4870	1828	150
H(21A)	3627	5061	3483	163
H(21B)	3377	4126	2622	163
H(21C)	3301	3977	3681	163

Tabla 4 Coordenadas de átomos de hidrógeno (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico (Å²x 10^3) para compuesto [Zn₃(Azabox)₅]NO₃

H(22)	294	7194	3159	61
H(23A)	1012	7843	4654	116
H(23B)	454	7565	4832	116
H(23C)	622	8870	4732	116
H(24A)	-247	9271	3349	91
H(24B)	-474	7989	3329	91
H(24C)	-427	8541	2335	91
H(25)	410	2855	-1917	76
H(26A)	464	1063	-2418	114
H(26B)	1059	921	-1574	114
H(28)	1128	3788	-586	125
H(29A)	1803	3616	-1393	199
H(29B)	1203	3685	-2215	199
H(29C)	1509	2473	-1948	199
H(30A)	1935	2726	369	217
H(30B)	1663	1557	-167	217
H(30C)	1418	2202	573	217
H(29D)	1991	3706	-523	181
H(29E)	1538	4413	-1379	181
H(29F)	1743	3194	-1631	181
H(30D)	1836	2122	251	172
H(30E)	1321	1316	-286	172
H(30F)	1301	2217	548	172
H(32A)	2758	6194	-3070	269
H(32B)	2350	6872	-4010	269
H(32C)	2305	5504	-3939	269
H(32D)	2560	6210	-4120	191
H(32E)	2113	7090	-4014	191
H(32F)	1946	5788	-4343	191
H(34A)	-592	1829	3818	129
H(34B)	-105	1091	3685	129
H(34C)	-13	2419	3994	129
H(35A)	604	1009	6076	126
H(35B)	690	1914	5299	126
H(35C)	580	588	4994	126

Reactive & Functional Polymers 73 (2013) 1078-1085

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Reactive & Functional Polymers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/react



Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers with metallic zinc center for enrofloxacin recognition



J.J. Recillas Mota^a, M.J. Bernad Bernad^b, J.A. Mayoral-Murillo^c, J. Gracia Mora^{a,*}

^a Depto. Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, México DF 04510, Mexico ^b Depto. Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, México DF 04510, Mexico

^c Instituto de Síntesis Química y Catálisis Homogénea, Dept. Química Orgánica, CSIC-Universidad de Zaragoza, Calle Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza, Spain

ARTICLE INFO

Article history: Received 27 September 2012 Received in revised form 11 January 2013 Accepted 13 April 2013 Available online 22 April 2013

Keywords: Enrofloxacin Molecular imprinting polymer Azabis(oxazoline) Metal complex

ABSTRACT

A molecularly imprinted polymer with a metallic center (MIPc) was prepared and characterized. The template molecule for MIPc was a complex $[Zn(Aza-f)(Enr)]NO_3 H_2O$, Com, based on the ligands: enrofloxacin (Enr) and azabis(oxazoline) functionalized with styrene. Com was characterized before preparing MIPc. Moreover, the polymer prepared *via* non-covalent (MIPe) was prepared using Enr as the template molecule while no template molecules were used to prepare the non-imprinted polymer (NIP).

MIPc was characterized using different spectroscopic techniques. In addition, the polymer molecular recognition capacity was studied by using rebinding kinetic studies. The kinetics shows that MIPc reach the equilibrium before the MIPe and NIP and the amount of Enr adsorbed is approximately 5 times higher that MIPe and NIP.

Scatchard plots analysis for NIP, MIPe and MIPc shows $K_d = 0.4768$, 0.020, 0.0067 (mmol L⁻¹) respectively. In comparison with the MIPe the binding affinity is nearly 100 times higher taking into account the high affinity sites. The selectivity of MIPc for Enr was higher than that for ofloxacin or flumequin, isotherms were fit to the Langmuir–Freundlich model, and the Enr showed a value of $K_o = 21.38 \text{ mM}^{-1}$, while the ofloxacin had a value of $2.2 \times 10^{-8} \text{ mM}^{-1}$ and the flumequin of $1.6 \times 10^{-5} \text{ mM}^{-1}$.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In recent years, the contamination by antibiotic residues in animal meat for human consumption [1], has become a serious health concern. Quinolones (Qs) are a widely used broad-spectrum antibiotic family in order to prevent and treat a wide variety of diseases in both human and veterinary medicine. The majority of Qs for clinical use belongs to the fluoroquinolone group [2] (FQ).

In addition, the interest in the determination of antibiotic, in particular FQs [3], residues in the environment arises from the fact that they are suspected of being responsible for the appearance of antibiotic-resistant bacterial strains [4–6]. There is also concern that FQs may inhibit photosynthesis in plants [7].

The FQs and their metabolites [8] have already been identified as risky and persistent pollutants in water, sludge, soils and sediments [9–11]. FQs have been found in hospital wastewaters [12] (at concentrations ranging from approximately 60–120,000 ng/L), in wastewater treatment plant effluents (\sim 2–580 ng/L) and in surface waters (\sim 5–1300 ng/L) throughout the world. The persistence [13] of the antibacterial agents like enrofloxacin (ENR), flumequine (FLU), sarafloxacin (SAR), could be a serious problem, for instance,

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223637.

E-mail address: jgracia@unam.mx (J. Gracia Mora).

in marine sediments where the initial concentrations of these compounds remain almost intact after 180 days, whereas the residues in the top layer of the sediment depurated more rapidly.

For these reasons, it is important to develop analytical methods for detecting these drugs. However, most of the analytical methods established for the FQ detection or separation are not efficient at directly detecting or removing the trace drug amount. Current methods for the FQ analysis in biological matrices are based on liquid chromatography; mainly ultraviolet (LC-UV) [14], fluorescence (LC-FD) [15], or mass spectrometry (MS) [16,17].

Molecular imprinting [18] allows the formation of specific recognition sites in synthetic polymers through the use of templates. The template molecule organizes functional and cross-linking polymerizable monomers during the polymerization. Subsequently it is extracted from the insoluble network. Then, domains of complementary size, shape, and functional group orientation are created. On the other hand, the most widely used technique for preparing MIPs is the non-covalent, in which template and functional monomer form a pre-organized structure through weak interactions [19]. This method is used with aprotic and low polarity organic solvents; however, this causes a poor level of recognition of the template in aqueous environments. The polar solvents, especially water, could destroy the imprinted recognition

^{1381-5148/\$ -} see front matter © 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved. http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.04.002

site, which obviously should limit their further application in environmental and biological fields. To improve the affinity of MIP in aqueous environment, porogenic solvent such as CH₃OH was recommended in MIP preparation [20].

The formation of a template-monomer complex under aqueous conditions is not efficient enough, owing to the fact that the hydrogen-bonding interactions between template and monomers can be interrupted by the polar solvent. In order to avoid the disturbance, the metal ion was introduced as a mediator during the pre-polymerization to form the complex of template-metal ion-monomer. In fact, coordination interaction is a strong interaction and metal ion MIP has been demonstrated to have high selectivity and used in several types of selective recognition systems [21–23].

Several studies of MIPs for FQ have been reported, however most of them were focused on non-covalent MIPs [5,24–30]. The affinity in polar solvents could be increased by introducing stronger interactions, such as those exhibited by metal coordination centers. For instance, Hart and Shea [31] reported synthetic peptide receptors based on imprinted Ni(II)-nitrilotriacetic acid complexes, which have affinity to N-terminal histidine (His) residues. Subat et al. [32] reported imprinting of zinc (II) cyclen complexes yielding MIPs with affinity for imides in aqueous solution.

It is important to highlight the work of Lv et al. [33], who studied the synthesis of imprinted polymers (MIP1) templated with Enr. The recognition between MIP and Enr occurs by means of a coordination bond in a protic solvent. The MIP was developed by copolymerization of Co(II)-Enr complex that was formed *in situ* with 4-vinylpyridne (4-Vpy) and EDGMA.

The binding studies were performed, and the binding parameters were obtained through Scatchard plots suggesting that the binding sites in MIP1 are heterogeneous with respect to the affinity for [(Co)-Enr]²⁺. The MIP1 has two kinds of sites with specific binding properties. K_d and Q_{max} of higher affinity binding sites can be calculated to be 0.770 µmol mL⁻¹ and 102.762 µmol g⁻¹. K_d and Q_{max} of lower affinity binding sites were 0.295 µmol mL⁻¹ and 65.225 µmol g⁻¹, respectively.

In this paper, we report the synthesis and characterization of Enr imprinted polymers by using the coordination interaction for recognition of Enr in protic solvents. The MIPc was synthesized using a mixed complex of zinc (II), Com. as a template molecule. The template molecule was synthesized and characterized before preparing polymers in order to have homogeneous recognition sites, which should lead to materials with improved binding and specificity characteristics.

2. Experimental

2.1. Materials

Enrofloxacin, $C_{19}H_{22}FN_3O_3$, (1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid), (Enr, 98%); was bought of Fluka. $Zn(NO_3)_2$ ·6H₂O (98%); CH₃CN (98%); allyl alcohol (AA; 98.5%), ethylene glycol dimethacrylate (EDGMA, 98%); CH₃OH and CH₂Cl₂ were purchased from Aldrich. 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile, (AIBN, 98%) was kindly donated by AKZO NOBEL. Water was purified by Milli-Q system. On the other hand, azabis(oxazoline) was functionalized C₂₁H₂₉N₃O₂, ((4S)-4isopropyl-N-[(4R)-4-isopropyl-4,5-dihydro-1,3-oxazol-2-yl]-N-(4vinylbenzyl)-4,5-dihydro-1,3-oxazol-2-amine) (Aza-f, 85% w:v), was synthetized in accordance with reports by Reiser et al. [34–36].

2.2. Synthesis of [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O

The complex $[Zn(Aza-f)(Enr)]NO_3 H_2O$ was synthesized based the following procedure: 200 µL of Enr (0.2028 mmol, 74.4 mg) solution is prepared by using NaOH 1 M as solvent (solution A). After, a solution of Aza-f (0.2028 mmol, 85 mg) in 10 mL of CH_{3-} CN/H₂O (70:30, v:v) is prepared (solution B) and then, solution B was added on solution A, mixing during 5 min. Subsequently, a solution of $Zn(NO_3)_2$ ·6H₂O (0.2028 mmol, 61 mg) was added to the last mixture. Finally a white powder was obtained.

2.3. Characterization of [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O

IR spectra were recorded with a Perkin Elmer spectrophotometer. Solid ¹³C high performance decoupling magic angle spinning nuclear magnetic resonance (HPDEC MAS NMR) was carried out with NMR Brucker Avance-II 300 spectrometer operating at 75.46 MHz. The characterization of the Com solution was done using a Varian NMR, 300 MHz in CH₃OH-d₄ solution. The elemental analysis of the Com was done using Fisons EA1108.

2.4. Preparation of molecularly imprinted polymer with metallic center (MIPc), and Enr (MIPe) and non-imprinted polymer (NIP)

The procedure for the preparation of MIPs or NIP was adapted from the method of precipitation polymerization reported by Ye et al. [37]. AA (0.81 mmol, 48 mg), EGDMA (4.056 mmol, 820 mg) and AIBN (0.21 mmol, 35 mg) were mixed together in 12 mL of CH₃OH. The template molecule was different for each polymer; MIPc, (Com, 232.7 mg, 0.2028 mmol); MIPe, (Enr, 74.4 mg, 0.2028 mmol); and, NIP, without template molecule.

The reaction mixture was purged with N₂ and sonicated for 10 min in a sealed glass tube. Then, the tube was placed in a 10 °C water bath. The polymerization reaction was initiated with a mercury lamp at λ = 365 nm, and maintained for 24 h. Afterwards, all the polymers were washed in a Soxhlet apparatus with two solvents: CH₃OH and CH₂Cl₂ for 12 h with each solvent.

Additionally, 4.0 g of MIPc was washed with 50 mL of 0.2 M NaCN solution for 12 h, and then rinsed with water and EtOH several times. Finally, the metallic center was regenerated with 25 mL of aqueous solution 0.06 M $Zn(NO_3)_2$, $6H_2O$. The synthesis scheme is illustrated in Fig. 1.

2.5. Characterization of the MIPc, MIPe and NIP

IR spectra were recorded with a Perkin Elmer spectrophotometer. Solid ¹³C high performance decoupling magic angle spinning nuclear magnetic resonance (HPDEC MAS NMR) was carried out with NMR Brucker Avance-II 300 spectrometer operating at 75.46 MHz. The polymer morphology was studied by using a JEOL-5900LV scanning electron microscope. The samples of polymers were Au sputter-coated for 40 s at 20 mA. The SEM micrographs were acquired with a SEI (detector of secondary electrons) using an acceleration voltage of 20 kV or 10 kV. The elemental analysis of polymers was done using a Fisons EA1108.

2.6. Evaluation of binding properties of the polymers

Kinetic studies were performed to determine the time to attain the binding equilibrium. 10 mg of polymer was added to 1.125 mL CH₃OH solution of Enr (3.7×10^{-4} M). The vial was sealed and maintained at 25 °C in a controlled water bath. The drug adsorption at different times (0–300 min) was determined by UV-spectrophotometry at 280 nm.

In order to determine the binding capacity of MIPs in protic solvents, equilibrium measurement were made using UV-spectroscopy. The experiment was carried out by adding 10 mg of MIPs or NIP in a glass tube containing 1.125 mL of Enr solution with



Fig. 1. Preparation of MIPc for Enr (a), washing (b), regeneration metallic center of polymer using Zn(NO₃)₂ (c) and Enr recognition of MIPc (d).

concentrations varying from 0.0176 to 12 mmol L^{-1} which was prepared in 70:30 v:v CH₃OH/H₂O. The solutions were placed in the dark for 15 min at 25 °C, then centrifuged, filtered and measured by UV spectrophotometry at 280 nm.

To estimate the binding properties of the polymers and Enr, a static adsorption experiment was conducted. The obtained data were processed by Scatchard analysis according to Eq. (1) [38]. Then binding parameters were calculated, shown in Table 4.

Scatchard equation :
$$Q/[Enr] = (Q_{max} - Q)/K_d$$
 (1)

where *Q* is the Enr bound to the polymers at equilibrium, Q_{max} is the maximum binding capacity, [Enr] is the free Enr concentration and K_d is the dissociation constant. The values of K_d and the Q_{max} can be calculated from the slope and the intercept of the linear fitting in Q/ [Enr] vs. *Q*, respectively.

2.7. Evaluation of selectivity properties of the polymers

The experiment was carried out by adding 10 mg of MIPc in a glass tube containing 1.125 mL of Enr, Flume or Oflo stock solution with concentrations varying from 0.02 to 0.65 mmol L^{-1} which was prepared in 70:30 v:v CH₃OH/H₂O. The solutions were placed in the dark for 15 min at 25 °C, then centrifuged, filtered and measured by UV spectrophotometry at 280 nm for Enr, 338 nm for Flume and 298 nm for Oflo.

3. Results and discussion

3.1. Preparation and characterization of Com

Com was synthesized with good yield (75%) by the reaction of equimolar quantities of Zn^{2+} , Aza-f ligand and Enr. The product resulted in a white solid powder, soluble in a CH₃OH/H₂O mixture and DMF. The elemental analysis data were as follows: found (%): C = 58.05, H = 6.37, N = 11.09; and calculated (%): C = 58.85, H = 6.79, N = 10.31. These are in agreement with a general formula [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O.

The IR spectrum of Enr shows the carboxylate stretch at 1736 cm^{-1} while the pyridine carbonyl can be seen at 1628 cm^{-1} . Upon zinc complexation Com the former is split into a doublet at 1619 cm^{-1} and 1415 cm^{-1} , suggesting the carboxylic group deprotonation and its participation in the metal coordination bond, while the latter is shifted to lower wavenumber 1581 cm^{-1} . These trends are similar to those reported for complexes with other FQs [39–42]. On the other hand, Mendoza-Díaz et al. [43,44] have studied mixed ligand complexes of the type Cu(Zn)-nal-phen(bipy). The solid-state IR spectra showed bands corresponding to both ligands. The bands of 4-oxo and 3-carboxyl appeared in the $1800-1300 \text{ cm}^{-1}$ region.

Furthermore, the most significant band of the Aza-f ligand is the C=N stretch, which appears at $1690-1640 \text{ cm}^{-1}$. The same band is observed in the spectra of the complex at 1686 cm^{-1} . Similar



Fig. 2. Enr and Aza-f structures showing ¹³C NMR peak assignments.

 Table 1

 ¹³C NMR shifts for the zinc complex.

# Carbon	Enr	Aza-f	[Zn(Aza-f)(Enr)]NO3·H2O
1	147.56	-	151.11
2	108.20	-	_
3	177.23	-	177.98
2a	167.25	-	171.90
4	139.31	-	_
i		59.67	59.61
j		166.74	169.98
k		66.75	65.33
1		69.81	68.42
m		32.29	33.93
n		18.67	19.15

behavior was observed in the copper complexes with analogous ligand, bis(oxazoline) [45].

The ¹³C-NMR spectra of the pure Enr, Aza-f and of the Com were recorded. The data and their assignments are summarized in Fig. 2 and Table 1, indicating that the most important signals, respect to the coordination effect, of both ligands were observed. In addition the complex has similar signals to the other related mixed complexes [44].

The signals of Enr, C-2 and C-4 disappear in the complex spectra due to the effect of coordination with Zn²⁺. In addition, the C-1 and C-3 show common displacements in comparison with other complexes of FQs [44].

The mass spectrum FAB⁺ of Com shows intense peaks centered at 100% at m/z 777, also the isotopic abundance corresponds to the [Zn(Aza-f)(Enr)]⁺ ion, Fig. 3.

The entire characterization data of the metal complex suggest that the compound has the formula $[Zn(Aza-f)(Enr)]NO_3 \cdot H_2O$, and the structure could be similar to that illustrated in Fig. 1.

3.2. Characterization of the polymers

3.2.1. Spectroscopic characterization

The IR spectra of all washed polymers (MIPs and NIP) were recorded. MIPe and NIP do not show significant differences. The signals are representative of the copolymer AA-EGDMA. However, the polymer MIPc spectra show bands which can be assigned to the ligand Aza-f, namely at 1630 cm⁻¹, 1512 cm⁻¹ and 1470 cm⁻¹, all belonging to the C=N bond. These bands are smaller than those of the copolymer AA-EGDMA due to the stoichiometric ratio of the monomers.

Additionally, the ¹³C CP-MAS NMR spectra were recorded. The shifts related to Aza-f in MIPc were as follows: C = 127.25 ppm and 128.53 ppm (–CH–, benzene ring of styrene); C = 133.73 ppm (–C–, benzene ring); C = 158.90 ppm (–N–C=N



Fig. 3. Mass spectra FAB⁺ of complex [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O.

Table ¹³ C Cl	2 P-MAS	assignations	of ligand	Aza-f in M	IPc.

# Carbon	Aza-f
d, e	128.53
f, g	127.25
h	133.73
j	158.90

Table 3

Data from polymer elemental analysis.

Polymer	% N calculated polymer without wash	% N calculated polymer with wash	% N experimental polymer with wash
NIP	0	0	0
MIPe	1.05	0	0.1985
MIPc	2.09	1.04	1.0174

in the ring of oxazoline group), Fig. 2. This indicates that Aza-f ligand is covalently bonded to the polymer (Table 2).

3.2.2. Elemental analysis

To evaluate the degree of Aza-f incorporation, the elemental analysis of washed imprinted polymers was performed and the results are shown in Table 3 [46].

The experimental data were compared to the theoretical data for the nitrogen content based on nitrogen stoichiometry. In the case of the NIP and MIPe, i.e., the polymers synthesized through non-covalent interactions and later washed, the results were in accordance with expectations, since the value of % N in NIP was 0% N, due to that it has not any source of nitrogen. Although for washed MIPe, a similar behavior was expected, because the interactions of the Enr with the matrix polymer are non-covalent, 0.1985% N was experimentally observed. It is probably due to the fact that Enr was entrapped in the polymer matrix in locations inaccessible to the solvent molecules. On the other hand, the MIPc polymer has two sources of nitrogen, Enr and Aza-f, and a theoretical value of % N of 1.04% was estimated, based only on the ligand Aza-f N content. The experimental value was 98% with respect to the theoretical value. This result suggests that all Enr was removed from the polymer. In conclusion, the result indicates that the Aza-f ligand is attached to the polymer matrix and the solvent has good access to the recognition center.

Table 4	4
---------	---

Calculated Scatchard parameters.

Binding sites	Scatchard equations	r	K_d (mmol L ⁻¹)	$Q_{max} (mmol g^{-1})$
NIP Non specific sites	Q/[Enr] = -2.097Q + 50.011	0.9891	0.4768	0.02384
<i>MIPe</i> High affinity sites Low affinity sites	Q/[Enr] = -49.3601Q + 258.37 Q/[Enr] = -0.28856Q + 39.951	0.9901 0.9667	0.020 3.4654	0.005 0.1384
<i>MIPc</i> High affinity sites Low affinity sites	Q/[Enr] = -149.36Q + 5039.34 Q/[Enr] = -0.2123Q + 75.30	0.999 0.9059	0.0067 4.7103	0.03374 0.3547



Fig. 4. SEM micrographs of (a) NIP, (b) MIPe and (c) MIPc. Scale bars: 500 nm.

3.2.3. SEM

The morphology of the produced polymers has been studied using scanning electron microscopy. From these images shown in Fig. 4, some relevant differences among MIPc, MIPe and NIP could be clearly identified in terms of size and morphology.

In reports previously published [47–49], for the polymers with methacrylic acid, MAA, as a functional monomer the presence of template molecule caused the reduction of the particle growth during the polymerization and precipitation. In the pre-polymerization solution of non-imprinted system, MAA can form hydrogen-bonded dimers. Therefore, the pre-polymerization solution may contain both species: free MAA and MAA dimers. On the other hand, in the imprinted system, the presence of the template molecule contributed an additional intermolecular interaction between MAA and the template, which might somehow affect the growth of the cross-linked polymer nuclei to result in smaller polymer particles.

The polymers NIP, MIPe and MIPc studied in this work were compared to the polymers reported in the literature [47–49] and the following conclusions were reached. In the case of MIPc, aggregates can be observed with smaller particle size than those seen in NIP and MIPe, this result being consistent with other reports in the literature. However, it was observed that the particles of NIP as compared with MIPe were smaller in size. This result is not consistent with other reports, but might be caused by the interaction between AA and MeOH, which does not promote dimer formation. This could explain the smaller particle size.

3.3. Binding study

3.3.1. Adsorption kinetics

The results of Enr adsorption kinetics studies of all washed polymers are shown in Fig. 5 where the amount of free Enr is plotted vs. time. As can be seen, all polymers reach the adsorption equilibrium at around 60 min, with MIPc being the first one to reach the equilibrium.



Fig. 5. Binding kinetics for Enr and the different polymers.

The amount of Enr adsorbed is higher for the MIPc, the polymer which is expected to have more and stronger binding sites. The MIPc takes up approximately 5 times more Enr than NIP and 2.5 times more than MIPe. This result suggests the amount of strong binding sites is in proportion with the strength of binding force. Therefore, the metallic binding site is stronger than those due to non-covalent interactions.

3.3.2. Affinity and selectivity studies

Adsorption isotherms, Fig. 6, shows that MIPc had a higher number of sites for Enr with respect to MIPe or NIP.

The obtained data were plotted using the Scatchard analysis to estimate the binding parameters of MIPc, MIPe and NIP. The results are shown in Fig. 7. It is clear that the binding behavior of the Enr with the polymers is different in each case. The NIP, Fig. 7a, shows only one type of binding sites corresponding to non-specific sites,



Fig. 6. Adsorption isotherms of Enr on MIPc ([Zn(Aza-f)(Enr)]NO_3 $\cdot H_20$), MIPe and corresponding NIP.

and the amount of Enr attached to the NIP is the lowest, which is typical for non-imprinted polymers. On the other hand, MIPe synthesized *via* a non-covalent procedure, Fig. 7b, shows two different sites, one of low affinity and another of higher affinity. The low affinity sites are similar as compared to those in NIP, corresponding

probably to the non-specific polymer structure for the Enr. The high affinity sites show K_d that is 25 times lower than that of the NIP. This result indicates that the polymer was effectively imprinted. This result is similar to other MIP systems synthesized with FQ without the metallic center [27–30].

MIPc also has two binding sites, of low and high affinity, Fig. 7c. The high affinity polymer sites in MIPc show 71 times lower K_d than the non-specific polymer sites. This result is due to the formation of a coordination bond between Enr and Zn^{2+} in the polymer, the high coordination bond energy <u>drive</u> to a polymer with stronger binding sites.

The values of K_d and Q_{max} of 4.7103 mmol L⁻¹ and 0.3547 mmol g⁻¹, respectively, correspond to the low affinity or non-specific sites. On the other hand, the values for high affinity sites were K_d and Q_{max} of 0.0067 mmol L⁻¹ and 0.03374 mmol g⁻¹, respectively.

The results for MIPc are compared with those reported by Lv et al. [33] for MIP1, since these two polymers are similar in behavior, and have two kinds of binding sites, the lower and higher affinity sites. However, the values of K_d and Q_{max} for the high affinity sites in MIPc are 115 and 3 times lower than those observed for MIP1. These results show that MIPc has a higher affinity for Enr in comparison with MIP1. This difference could be attributed to the specific method of generating the recognition sites in the polymers. During the synthesis of MIP1, the metal complex of Co(II) is formed *in situ* in the pre-polymerization solution and apparently



Fig. 7. Scatchard analysis curve of NIP(a), Enr (b) and MIPc (c).

the structure of the preorganization complex is not well defined. In the case of MIPc, the complex synthesized before the polymerization process has a well-defined structure for obtaining a MIP with better recognition sites.

The work reported by Qu et al. [50] also studied the influence of the metal center on the molecular recognition of FQs for the synthesis of a MIP using ciprofloxacin (CIP) and itaconic acid (ITA), which are the template and functional monomer, respectively. They used Fe³⁺ as for a metal center in order to synthesize the mixed complex, Fe³⁺-ITA-CIP. For this MIP they conducted studies of binding capacity in water to determine the final concentration of CIP in contact with the MIP. Through these values, obtained using the Scatchard analysis, they obtained the values of K_d for the high recognition site. Comparing these values with the value of K_d of MIPc, it was observed that the value of K_d on MIPc was 18 times lower than the value of K_d for MIP reported by Qu et al. [50]. This result suggests that MIPc is a material that functions in polar environments and shows that MIPc has a higher affinity for FQ which is structurally similar with Enr.

There are other published reports about MIPs targeting to FQs obtained via bulk polymerization [27–30]. For this MIP the value of K_d reported for the strong recognition sites was approximately 5 times greater as compared to MIPe. This result suggest the advantage of not using the polymerization bulk method due to fact that in the MIPe prepared by precipitation polymerization method, the disadvantages reported in the literature were reduced [37].

With regard to the number of recognition sites present in the polymers, the amount of Enr bound to the polymers was very different in each case, with NIP showing the lowest capacity. If we compare the total number of sites, MIPc has 16 times as many sites as either NIP or MIPe. This means that greater number of sites can be related to higher bond strength of these sites. These results are in agreement with studies that indicate that the amount of Enr remaining in inaccessible sites is higher in a non-covalent polymer than in a coordination polymer.

The selective bonding of the MIPc was evaluated with three FQs: Enr, Oflo and Flume. Enr and Oflo were structurally analogous. On the other hand, Flume was used to probe a ligand without the piperazine ring.

Fig. 8 shows the binding isotherms of MIPc with three different FQs, i.e., Enr, Oflo and Flume. MIPc shows very good selectivity for Enr, while the other two ligand interact weakly with the polymer and do not fit the Scatchard model. The isotherms were fit to the Langmuir–Freundlich model, and the Enr showed a value of $K_o = 21.38 \text{ mM}^{-1}$, while the Oflo had a value of $2.2 \times 10^{-8} \text{ mM}^{-1}$



Fig. 8. Adsorption isotherms of Enr, ofloxacin and flumequin on MIPc.

and the Flume of $1.6\times 10^{-5}\,\text{mM}^{-1}.$ It is evident that the affinity for Enr is much higher.

4. Conclusions

Mixed ligand metallic complex, as a template, was synthesized and characterized before the polymerization step in order to generate improved recognition sites in the polymer. The MIP with and without the metal center in the recognition sites and NIP have been prepared and characterized. Studies employing MIPc suggested that the recognition sites in the polymer matrix are in accord with the proposal structure. Scatchard plot analysis revealed two different binding sites in the imprinted polymers, while a unique type of site is observed for NIP. The results show that MIPs have a higher association constant than the non-specific sites, and that MIPc shows higher interaction and higher site number than MIPe. The MIPc has a high affinity for Enr with respect to another FQ in a CH₃OH/H₂O system, this affinity provided by metallic centers as the recognition sites.

Mixed ligand metallic complex [Zn(Aza-f)(Enr)]NO₃·H₂O, was synthesized and characterized, and used as a template, before the polymerization step in order to generate improved recognition sites in the imprinted polymer. The MIP with and without the metal center in the recognition sites and NIP have been prepared and characterized. Studies of NMR, elemental analysis, IR, MIPc suggested that the recognition sites in the polymer matrix are in accord with the proposal structure.

The kinetics rebinding studies shows that MIPc reaches the equilibrium before the MIPe and NIP and the amount of Enr adsorbed is 5 time higher that MIPe and NIP.

Scatchard plot analysis revealed two different binding sites in the imprinted polymers, while a unique type of site is observed for NIP. It was found that NIP shows $K_d = 0.4768$, MIPe $K_d = 0.020$, and MIPc $K_d = 0.0067$ (mmol L⁻¹). In comparison with the MIPe the binding affinity is nearly 100 times higher taking into account the high affinity sites.

The selectivity of MIPc for Enr was higher than for ofloxacin or flumequin, isotherms were fit to the Langmuir–Freundlich model, and the Enr showed a value of $K_o = 21.38 \text{ mM}^{-1}$, while the ofloxacin had a value of $2.2 \times 10^{-8} \text{ mM}^{-1}$ and the flumequin of 1.6×10^{-5} . The MIPc has a high affinity for Enr with respect to another FQ in a CH₃OH/H₂O system, this affinity provided by metallic centers as the recognition sites.

Acknowledgment

Thanks are due to the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) for support via Project PAPIIT-IN112805. JRM thanks Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for a PhD scholarchip (No. 173224), PASPA UNAM and Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) for the scholarship (No. 08BTD0007).

References

- A. Speltini, M. Sturini, F. Maraschi, A. Profumo, A. Albini, TrAC Trends Anal. Chem. 30 (2011) 1337–1350.
- [2] K. Kümmerer, Chemosphere 75 (2009) 417–434.
- [3] P. Sukul, M. Spiteller, In: D.M. Whitacre (Ed.) Fluoroquinolone antibiotics in the environment Springer (2007) 131–162.
- 4] D.I. Andersson, D. Hughes, Drug Resist. Update. 15 (2012) 162-172.
- [5] E. Benito-Peña, J.L. Urraca, B. Sellergren, M.C. Moreno-Bondi, J. Chromatogr. 1208 (2008) 62–70.
- 6] X. Liu, D.M. Boothe, K. Thungrat, S. Aly, Vet. Microbiol. 161 (2012) 159-168.
- 7] L. Aristilde, A. Melis, G. Sposito, Environ. Sci. Technol. 44 (2010) 1444-1450.
- [8] G. Lewis, A. Juhasz, E. Smith, Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 19 (2011) 2697–2707.
- [9] A.B.A. Boxall, L.A. Fogg, P.A. Blackwell, P. Kay, E.J. Pemberton, A. Croxford, Rev. Environ. Contam. Toxicol. 180 (2004) 1–91.
- [10] E.M. Golet, A.C. Alder, W. Giger, Environ. Sci. Technol. 36 (2002) 3645-3651.

- [11] E.M. Golet, I. Xifra, H. Siegrist, A.C. Alder, W. Giger, Environ. Sci. Technol. 37 (2003) 3243–3249.
- [12] A. Hartmann, A.C. Alder, T. Koller, R.M. Widmer, Environ. Toxicol. Chem. 17 (1998) 377–382.
- [13] H. Hektoen, J.A. Berge, V. Hormazabal, M. Yndestad, Aquaculture 133 (1995) 175–184.
- [14] H. Yan, H. Wang, X. Qin, B. Liu, J. Du, J. Pharm. Biomed. Anal. 54 (2011) 53-57.
- [15] E. Rodriguez, M.C. Moreno-Bondi, M.D. Marazuela, Food Chem. 127 (2011) 1354–1360.
- [16] H. Yu, Y. Tao, D. Chen, Y. Pan, Z. Liu, Y. Wang, L. Huang, M. Dai, D. Peng, X. Wang, Z. Yuan, J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. (2012).
- [17] Q. Tuc Dinh, F. Alliot, E. Moreau-Guigon, J. Eurin, M. Chevreuil, P. Labadie, Talanta 85 (2011) 1238–1245.
- [18] Y.a.R.O. Mingdi (Ed.), Molecularly imprinted materials Science and Technology, Marcel Dekker, New York, 2005.
- [19] B. Sellergren, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2003.
- [20] E. Turiel, A. Martín-Esteban, J.L. Tadeo, J. Chromatogr. 1172 (2007) 97-104.
- [21] S. Striegler, J. Chromatogr. B 804 (2004) 183-195.
- [22] P.K. Dhal, F.H. Arnold, J. Am. Chem. Soc. 25 (1992) 7051–7059.
- [23] E.H. Papaioannou, M. Liakopoulou-Kyriakides, R.M. Papi, D.A. Kyriakidis, Mater. Sci. Eng. B 152 (2008) 28–32.
- [24] E. Caro, R.M. Marcé, P.À.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, J. Sep. Sci. 29 (2006) 1230–1236.
- [25] E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, Anal. Chim. Acta 562 (2006) 145–151.
- [26] E. Benito-Peña, S. Martins, G. Orellana, M.C. Moreno-Bondi, Anal. Bioanal. Chem. 393 (2009) 235-245.
- [27] H. Yan, F. Qiao, H.R. Kyung, Anal. Chem. 79 (2007) 8242-8248.
- [28] H. Sun, F. Qiao, G. Liu, S. Liang, Anal. Chim. Acta 625 (2008) 154-159.
- [29] H.w. Sun, F.x. Qiao, J. Chromatogr. 1212 (2008) 1-9.

- [30] H. Yan, K.H. Row, G. Yang, Talanta 75 (2008) 227-232.
- [31] B.R. Hart, K.J. Shea, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 2072-2073.
- [32] M. Subat, A.S. Borovik, B. Konig, J. Am. Chem. Soc. 126 (2004) 3185-3190.
- [33] Y.K. Lv, Q. Zhang, Y.L. Song, S.L. Yan, Asian J. Chem. 23 (2011) 4037-4041.
- [34] M. Glos, O. Reiser, Org. Lett. 2 (2000) 2045-2048.
- [35] H. Werner, R. Vicha, A. Gissibl, O. Reiser, J. Org. Chem. 68 (2003) 10166–10168.
 [36] H. Werner, C.I. Herrerías, M. Glos, A. Gissibl, J.M. Fraile, I. Pérez, J.A. Mayoral, O.
- Reiser, Adv. Synth. Catal. 348 (2006) 125–132. [37] L. Ye, R. Weiss, K. Mosbach, Macromolecules 33 (2000) 8239–8245.
- [38] J.A. García-Calzón, M.E. Diaz-Garcia, Sensor Actuator B-Chem. 123 (2007)
- 1180–1194.
- [39] D. Perez-Guaita, S. Boudesocque, S. Sayen, E. Guillon, Polyhedron 30 (2011) 438-443.
- [40] A. Serafin, A. Stańczak, Russ. J. Coord. Chem. 35 (2009) 81-95.
- [41] I. Turel, Coord. Chem. Rev. 232 (2002) 27-47.
- [42] J. Recillas-Mota, M. Flores-Alamo, R. Moreno-Esparza, J. Gracia-Mora, Acta Crystallogr. Sect. E 63 (2007). i192-i204, m2871-m3207, o4501-o4937.
- [43] G. Mendoza-Díaz, Luz Maria R. Martínez-Aguilera, Rafael Moreno-Esparza, Keith H. Pannell, Francisco Cervantes-Lee, J. Inorg. Biochem. 50 (1993) 65–78.
- [44] J. Ireta-Moreno, G. Mendoza-Díaz, J. Inorg. Biochem. 54 (1994) 235-246.
- [45] P.J. Alonso, J.M. Fraile, J. García, J.I. García, J.I. Martinez, J.A. Mayoral, M.C. Sánchez, Langmuir 16 (2000) 5607–5612.
- [46] R.A. Lorenzo, A.M. Carro, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, Int. J. Mol. Sci. 12 (2011) 4327–4347.
- [47] C. Cacho, E. Turiel, A. Martín-Esteban, C. Pérez-Conde, C. Cámara, J. Chromatogr. B 802 (2004) 347–353.
- [48] K. Yoshimatsu, K. Reimhult, A. Krozer, K. Mosbach, K. Sode, L. Ye, Anal. Chim. Acta 584 (2007) 112–121.
- [49] P. Xiao, Y. Dudal, P.F.-X. Corvini, P. Spahr, P. Shahgaldian, React. Funct. Polym. 72 (2012) 287–293.
- [50] S. Qu, X. Wang, C. Tong, J. Wu, J. Chromatogr. 1217 (2010) 8205-8211.

metal-organic compounds

Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online

ISSN 1600-5368

A copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and enrofloxacin

Jesús Recillas-Mota,^a Marcos Flores-Alamo,^b Rafael Moreno-Esparza^a and Jesús Gracia-Mora^a*

^aFacultad de Química, Departamento de Química Inorgánica, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, 04510, Mexico, and ^bFacultad de Química, Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, 04510, Mexico

Correspondence e-mail: jgracia@servidor.unam.mx

Received 16 October 2007; accepted 10 November 2007

Key indicators: single-crystal X-ray study; T = 298 K; mean σ (C–C) = 0.008 Å; R factor = 0.061; wR factor = 0.129; data-to-parameter ratio = 13.2.

The asymmetric unit of the title complex, aqua[1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylato](1,10-phenanthroline)copper(II) nitrate $[Cu(C_{19}H_{21}FN_{3}O_{3})(C_{12}H_{8}N_{2})(H_{2}O)]NO_{3}\cdot 2H_{2}O,$ dihvdrate, contains one $[Cu(erx)(phen)(H_2O)]^+$ cation, one NO₃⁻ anion and two solvent water molecules (erx is enrofloxacin and phen is 1,10-phenanthroline). The Cu^{II} ion adopts a slightly distorted square-pyramidal geometry, coordinated by two O atoms of the erx ligand and two N atoms of the phen ligand in the basal plane, and by a water molecule in the apical position. The Cu^{II} ion deviates from the basal plane by 0.1439 (7) Å. The piperazine ring belonging to erx has a slightly twisted chair conformation. Coordinated and uncoordinated water molecules participate in a hydrogen-bonding network including both cations and anions, to produce a threedimensional supramolecular structure.

Related literature

A similar arrangement to that of the title compound has been observed in [Cu(erx)(phen)Cl] (Efthimiadou *et al.*, 2006), where erx and phen occupy the four positions in the basal plane, while the Cl atom is in the apical position. Metal-to-ligand distances are also similar to those found in related compounds with cinoxacin (Mendoza-Díaz *et al.*, 1987) and ciprofloxacin (Saha *et al.*, 2005; Drevenšek *et al.*, 2003). A trigonality index may by computed for Cu^{II} (Addison *et al.*, 1984). Quinolone–metal complexes have been studied in relation to their biological activity and structural properties (Mendoza-Díaz & Ireta-Moreno, 1994; Turel *et al.*, 1997; Wallis *et al.*, 1996).



 $\beta = 87.91 \ (3)^{\circ}$ $\gamma = 80.37 \ (2)^{\circ}$

Z = 2

 $V = 1618.3 (12) \text{ Å}^3$

Mo $K\alpha$ radiation $\mu = 0.74 \text{ mm}^{-1}$ T = 298 (2) K

 $R_{\rm int} = 0.035$

434 parameters

 $\Delta \rho_{\text{max}} = 0.29 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$ $\Delta \rho_{\text{min}} = -0.30 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$

 $0.27 \times 0.24 \times 0.22$ mm

3 standard reflections

every 97 reflections

intensity decay: 3.6%

H-atom parameters constrained

3170 reflections with $I > 2\sigma(I)$

Experimental

Crystal data

$Cu(C_{19}H_{21}FN_{3}O_{3})(C_{12}H_{8}N_{2})$ -
$(H_2O)]NO_3 \cdot 2H_2O$
$M_r = 718.2$
Triclinic, P1
a = 10.819 (4) Å
b = 12.019(5) Å
c = 12.968 (6) Å
$\alpha = 76.75 \ (3)^{\circ}$

Data collection

Siemens P4 diffractometer Absorption correction: ψ scan (XSCANS; Siemens, 1993) $T_{\min} = 0.824, T_{\max} = 0.853$ 6697 measured reflections

5711 independent reflections

Refinement

 $R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.061$ $wR(F^2) = 0.129$ S = 1.035711 reflections

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D - H \cdots A$	D-H	$H \cdot \cdot \cdot A$	$D \cdots A$	$D - \mathbf{H} \cdots A$
O1W-H1DO03	0.84	2.10	2.879 (7)	155
$O2W - H2C \cdot \cdot \cdot O01$	0.88	2.37	3.194 (7)	157
$O2W - H2C \cdots O02$	0.88	2.28	3.031 (8)	144
$O2W - H2D \cdots O3W$	0.88	2.26	3.066 (7)	152
$O3W - H3C \cdot \cdot \cdot O2^{i}$	0.86	2.17	3.005 (5)	166
$O3W-H3D\cdots O3^{ii}$	0.85	2.00	2.845 (6)	179

Symmetry codes: (i) -x + 1, -y + 2, -z + 1; (ii) x - 1, y, z.

Data collection: *XSCANS* (Siemens, 1993); cell refinement: *XSCANS*; data reduction: *XSCANS*; program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 1997); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 1997); molecular graphics: *ORTEP-3 for Windows* (Farrugia, 1997); software used to prepare material for publication: *WinGX* (Farrugia, 1999).

Thanks are due to the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA–UNAM) for support *via* project PAPIIT-IN112805. JRM thanks Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for a PhD scholarship (No. 173224).

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: BH2143).

References

- Addison, A. W., Rao, T. N., Reedijk, J., van Rijn, J. & Verschoor, G. C. (1984). J. Chem. Soc. Dalton Trans. pp. 1349–1356.
- Drevenšek, P., Leban, I., Turel, I., Giester, G. & Tillmanns, E. (2003). Acta Cryst. C59, m376-m378.
- Efthimiadou, E. K., Sanakis, Y., Katsarou, M., Raptopoulou, C. P., Karaliota, A., Katsaros, N. & Psomas, G. (2006). J. Inorg. Biochem. 100, 1378–1388.

Farrugia, L. J. (1997). J. Appl. Cryst. 30, 565.

Farrugia, L. J. (1999). J. Appl. Cryst. 32, 837-838.

- Mendoza-Díaz, G. & Ireta-Moreno, J. (1994). J. Inorg. Biochem. 54, 235–246. Mendoza-Díaz, G., Martinez-Aguilera, L. M. R., Perez-Alonso, R., Solans, X.
- & Moreno-Esparza, R. (1987). *Inorg. Chim. Acta*, 138, 41–47.
 Saha, D. K., Patitungkho, S., Padhye, S., Deobagkar, D. N., Ozarkar, A.,
- Bhadbhade, M. M. & Gonnade, R. G. (2005). *Transition Met. Chem.* **30**, 334–340.
- Sheldrick, G. M. (1997). SHELXS97 and SHELXL97. University of Göttingen, Germany.
- Siemens (1993). XSCANS. Version 2.1. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Turel, I., Leban, I., Klintschar, G., Bukovec, N. & Zalar, S. (1997). J. Inorg. Biochem. 66, 77–82.
- Wallis, S. C., Gahan, L. R., Charles, B. G., Hambley, T. W. & Duckworth, P. A. (1996). J. Inorg. Biochem. 62, 1–16.

supplementary materials
Acta Cryst. (2007). E63, m3030-m3031 [doi:10.1107/S1600536807057649]

A copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and enrofloxacin

J. Recillas-Mota, M. Flores-Alamo, R. Moreno-Esparza and J. Gracia-Mora

Comment

The quinolones complexation with metal ions is known to enhance biological activities of the quinolone antibiotics, probably because of the higher liposolubility leading to greater intracellular accumulation (Mendoza-Díaz & Ireta-Moreno, 1994). The study of mixed-ligands coordination compounds with enrofloxacin is thus relevant, in order to improve the activity of this antibiotic used in veterinary medicine. Several fluoroquinolones-metal complexes have been isolated and their crystal structures reported (Mendoza-Díaz *et al.*, 1987; Wallis *et al.*, 1996; Turel *et al.*, 1997), most of them with ciprofloxacin. As part of our studies on different bioactive antibiotics, the title compound, (I), is a mixed-ligands metal complex, which, besides enrofloxacin (erx), includes the *N*,*N'*-bidentate ligand 1,10-phenanthroline (phen). It could contribute to the development of a new type of drug with biological activity.

The asymmetric unit of (I) consists of one $[Cu(erx)(phen)(H_2O)]^+$ cation, one NO₃⁻ anion and two lattice water molecules (Fig. 1). The Cu^{II} ion is coordinated by two enrofloxacin O atoms and two N atoms of 1,10 phenanthroline in the basal plane, and by a H₂O molecule in the axial position. It adopts a slightly distorted square-pyramidal geometry [trigonality index (Addison *et al.*, 1984): $\tau = 0.02$] with an O1—Cu—O2 angle of 92.94 (14)° and a N1—Cu—N2 angle of 82.08 (17)°. The Cu^{II} ion deviates from the basal plane by 0.1439 (7) Å. The apical site is occupied by a water molecule, with a bond length Cu1—O1w of 2.253 (4) Å and an angle of 89.69 (12)° with the best plane of four atoms at the base of the pyramid. The uncoordinated carboxylate atom O3 [Cu1···O3 = 4.020 (4) Å] lies above the basal plane of the pyramid. The *trans* atom system of the basal plane gives angles O1—Cu—N1 = 169.36 (16)° and O2—Cu—N2 = 170.46 (16)°.

An arrangement similar to that of (I) has been observed in [Cu(erx)(phen)Cl] (Efthimiadou *et al.*, 2006), where the enrofloxacin and the phenanthroline occupy the four positions in the basal plane, while the apical position is occupied by a Cl⁻ ion. Metal-to-ligand distances in (I) are also similar to those found in related compounds with cinoxacin [1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo-1,3-dioxolo[4,5g]cinnoline-3-carboxylic acid, cnx], namely $[Cu(phen)(cnx)(H_2O)]NO_3 H_2O$ (Mend-oza-Díaz *et al.*, 1987), or ciprofloxacin [1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinoline carboxylic acid, *cf*[H] (Saha *et al.*, 2005; Drevenšek *et al.*, 2003) all of them presenting small trigonality indexes.

The crystal structure of (I) is dominated by layered structures. All units are connected *via* O—H···O hydrogen bonds (Table 1), forming an infinite one-dimensional chain along [001]. Additionally, complex cations are also connected through weak π - π interactions, completing the three-dimensional supramolecular arrangement.

Experimental

Enrofloxacin (360 mg, 1 mmol) was dissolved in CH₃CN—H₂O (3:2, 15 ml) and NaOH (40 mg, 1 mmol) was added. After 20 min. of stirring, Cu(NO₃)₂·5H₂O (240 mg, 1 mmol) in CH₃CN—H₂O (20 ml) and phen (180 mg, 1 mmol) in CH₃CN—H₂O (10 ml) were added dropwise. The reaction mixture was stirred for 50 min. The green solution was reduced

in volume and left for slow evaporation. Green crystals of (I) deposited over a few days. Yield: 646 mg, 90%. A suitable green single-crystal was carefully selected out of the mother liquor and mounted with mineral oil in a glass capillary for subsequent data collection. The crystals decompose rapidly by contact with air, with probable release of water.

Refinement

H atoms bonded to O atoms were found in a difference map and their coordinates refined with O—H bond lengths constrained to 0.84–0.88 Å and $U_{iso} = 1.5U_{eq}$ (carrier O). H atoms attached to C atoms were placed in geometrically idealized positions, and refined as riding on their parent atoms, with C—H distances fixed to 0.93 (aromatic CH), 0.96 (methyl CH₃), 0.97 (methylene CH₂) or 0.98 Å (methine CH), and with $U_{iso} = 1.5U_{eq}$ (C) for the methyl group and U_{iso} (H) = $1.2U_{eq}$ (C) otherwise.

Figures



Fig. 1. The molecular structure of (I), with atom labels and 50% probability displacement ellipsoids for non-H atoms. The anion and solvent molecules were omitted for clarity.

aqua[1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4- dihydroquinoline-3-carboxylato](1,10-phenanthroline)copper(II) nitrate dihydrate

Crystal data

[Cu(C ₁₉ H ₂₁ FN ₃ O ₃)(C ₁₂ H ₈ N ₂)(H ₂ O ₁)]NO ₃ ·2H ₂ O	Z = 2
$M_r = 718.2$	$F_{000} = 746$
Triclinic, PT	$D_{\rm x} = 1.474 {\rm ~Mg~m}^{-3}$
a = 10.819 (4) Å	Mo $K\alpha$ radiation $\lambda = 0.71073$ Å
b = 12.019 (5) Å	Cell parameters from 50 reflections
c = 12.968 (6) Å	$\theta = 3.8 - 23.9^{\circ}$
$\alpha = 76.75 \ (3)^{\circ}$	$\mu = 0.74 \text{ mm}^{-1}$
$\beta = 87.91 \ (3)^{\circ}$	T = 298 (2) K
$\gamma = 80.37 \ (2)^{\circ}$	Block, green
$V = 1618.3 (12) \text{ Å}^3$	$0.27 \times 0.24 \times 0.22 \text{ mm}$

Data collection

Siemens P4 diffractometer	$R_{\rm int} = 0.035$
Radiation source: fine-focus sealed tube	$\theta_{max} = 25.1^{\circ}$
Monochromator: graphite	$\theta_{\min} = 1.6^{\circ}$
T = 298(2) K	$h = -1 \rightarrow 12$
$2\theta/\omega$ scans	$k = -14 \rightarrow 14$
Absorption correction: ψ scan (XSCANS; Siemens, 1993)	$l = -15 \rightarrow 15$

$T_{\min} = 0.824, \ T_{\max} = 0.853$	3 standard reflections
6697 measured reflections	every 97 reflections
5711 independent reflections	intensity decay: 3.6%
3170 reflections with $I > 2\sigma(I)$	

Refinement

Refinement on F^2	Secondary atom site location: difference Fourier map
Least-squares matrix: full	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.061$	H-atom parameters constrained
$wR(F^2) = 0.129$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0373P)^2 + 0.4734P]$ where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
<i>S</i> = 1.03	$(\Delta/\sigma)_{\rm max} < 0.001$
5711 reflections	$\Delta \rho_{max} = 0.29 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$
434 parameters	$\Delta \rho_{min} = -0.30 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$
Drimory store site losstion: structure inversiont direct	

Primary atom site location: structure-invariant direct methods Extinction correction: none

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (A^2)

	x	у	Ζ	$U_{\rm iso}*/U_{\rm eq}$
C1	0.7460 (6)	0.6938 (5)	0.4278 (4)	0.0567 (16)
H1	0.8137	0.7218	0.449	0.068*
C2	0.7685 (6)	0.6165 (5)	0.3609 (5)	0.0646 (18)
H2	0.8489	0.597	0.3356	0.078*
C3	0.6713 (6)	0.5696 (5)	0.3330 (4)	0.0597 (17)
H3	0.6855	0.5166	0.29	0.072*
C4	0.5490 (6)	0.6022 (4)	0.3700 (4)	0.0492 (15)
C5	0.4388 (7)	0.5585 (5)	0.3482 (5)	0.0618 (18)
Н5	0.4461	0.5044	0.3064	0.074*
C6	0.3262 (6)	0.5939 (5)	0.3867 (5)	0.0626 (18)
Н6	0.2574	0.5639	0.3704	0.075*
C7	0.3083 (5)	0.6771 (5)	0.4525 (4)	0.0470 (14)
C8	0.1942 (6)	0.7186 (5)	0.4960 (5)	0.0583 (16)
H8	0.1214	0.6926	0.4827	0.07*
С9	0.1895 (5)	0.7977 (5)	0.5584 (4)	0.0537 (15)
Н9	0.1139	0.8252	0.5873	0.064*
C10	0.2993 (5)	0.8361 (4)	0.5778 (4)	0.0437 (13)
H10	0.2951	0.8894	0.6202	0.052*
C11	0.4145 (5)	0.7207 (4)	0.4766 (4)	0.0383 (13)
C12	0.5349 (5)	0.6835 (4)	0.4353 (4)	0.0399 (13)
C13	0.7644 (5)	1.0355 (4)	0.7580 (4)	0.0390 (13)
H13	0.8515	1.0247	0.758	0.047*
C14	0.7075 (5)	0.9895 (4)	0.6880 (4)	0.0351 (12)
C15	0.5749 (5)	1.0025 (4)	0.6883 (4)	0.0345 (12)
C16	0.5078 (4)	1.0642 (4)	0.7631 (4)	0.0329 (11)
C17	0.5737 (5)	1.1117 (4)	0.8305 (4)	0.0329 (12)

C18	0.5072 (5)	1.1760 (4)	0.8994 (4)	0.0394 (13)
H18	0.5515	1.2064	0.9435	0.047*
C19	0.3777 (5)	1.1947 (4)	0.9025 (4)	0.0376 (12)
C20	0.3156 (5)	1.1416 (4)	0.8364 (4)	0.0423 (13)
C21	0.3771 (5)	1.0788 (4)	0.7702 (4)	0.0403 (13)
H21	0.3321	1.0452	0.7293	0.048*
C22	0.7761 (5)	1.1298 (5)	0.9055 (4)	0.0459 (14)
H22	0.7736	1.0835	0.9781	0.055*
C23	0.7825 (6)	1.2536 (5)	0.8956 (5)	0.0641 (17)
H23A	0.782	1.2813	0.9603	0.077*
H23B	0.7402	1.309	0.8358	0.077*
C24	0.8955 (6)	1.1718 (6)	0.8735 (5)	0.077 (2)
H24A	0.9216	1.1779	0.8004	0.093*
H24B	0.9633	1.1502	0.9248	0.093*
C25	0.7914 (5)	0.9325 (4)	0.6140 (4)	0.0411 (13)
C26	0.3700 (5)	1.3449 (4)	1.0030 (4)	0.0481 (14)
H26A	0.4181	1.3862	0.9468	0.058*
H26B	0.4276	1.3007	1.0589	0.058*
C27	0.2754 (5)	1.4304 (4)	1.0459 (4)	0.0531 (15)
H27A	0.3186	1.4831	1.0718	0.064*
H27B	0.2191	1.4757	0.9895	0.064*
C28	0.1357 (5)	1.2918 (5)	1.0910 (4)	0.0499 (14)
H28A	0.0774	1.3376	1.0364	0.06*
H28B	0.088	1.2501	1.1472	0.06*
C29	0.2275 (5)	1.2062 (4)	1.0451 (4)	0.0491 (15)
H29A	0.2812	1.1562	1.1011	0.059*
H29B	0.1816	1.158	1.0155	0.059*
C30	0.1149 (6)	1.4505 (5)	1.1817 (5)	0.0653 (18)
H30A	0.0488	1.4898	1.1313	0.078*
H30B	0.16	1.5088	1.1959	0.078*
C31	0.0562 (6)	1.3940 (6)	1.2832 (5)	0.082 (2)
H31A	-0.0021	1.348	1.2677	0.123*
H31B	0.0129	1.4527	1.3168	0.123*
H31C	0.1204	1.3454	1.3297	0.123*
Cu1	0.57945 (6)	0.84081 (6)	0.55762 (5)	0.0410(2)
F1	0.1881 (3)	1.1611 (3)	0.8365 (2)	0.0651 (10)
N01	0.3156 (6)	0.6901 (5)	0.8300 (4)	0.0649 (14)
N1	0.6331 (4)	0.7290 (3)	0.4623 (3)	0.0416 (11)
N2	0.4095 (4)	0.7998 (3)	0.5383 (3)	0.0380 (11)
N3	0.7045 (4)	1.0947 (3)	0.8261 (3)	0.0356 (10)
N4	0.3054 (4)	1.2660 (3)	0.9618 (3)	0.0397 (10)
N5	0.2019 (4)	1.3690 (3)	1.1333 (3)	0.0453 (11)
O01	0.3491 (5)	0.7816 (5)	0.8383 (4)	0.1054 (18)
01	0.5090 (3)	0.9650 (3)	0.6268 (3)	0.0418 (9)
O2	0.7439 (3)	0.8813 (3)	0.5512 (3)	0.0485 (10)
O02	0.2046 (5)	0.6808 (5)	0.8384 (5)	0.121 (2)
O1W	0.6097 (4)	0.7053 (3)	0.7104 (3)	0.0628 (11)
H1C	0.6676	0.6892	0.7558	0.094*
H1D	0.5437	0.6983	0.7454	0.094*

O03	0.3973 (5)	0.6117 (5)	0.8137 (4)	0.1022 (17)
O3	0.9053 (3)	0.9349 (3)	0.6145 (3)	0.0630 (11)
O2W	0.0721 (5)	0.9211 (4)	0.8484 (4)	0.1185 (19)
H2C	0.1372	0.8658	0.8557	0.178*
H2D	0.0777	0.9454	0.7795	0.178*
O3W	0.0751 (4)	1.0871 (4)	0.6304 (3)	0.0894 (15)
H3C	0.1166	1.0938	0.5724	0.134*
H3D	0.0237	1.0423	0.6254	0.134*

Atomic displacement parameters (\AA^2)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
C1	0.056 (4)	0.052 (4)	0.064 (4)	0.000 (3)	0.006 (3)	-0.024 (3)
C2	0.068 (5)	0.060 (4)	0.067 (4)	0.006 (4)	0.010 (4)	-0.029 (4)
C3	0.085 (5)	0.042 (3)	0.050 (4)	0.007 (4)	0.005 (4)	-0.021 (3)
C4	0.073 (4)	0.033 (3)	0.041 (3)	-0.001 (3)	-0.007 (3)	-0.013 (3)
C5	0.090 (5)	0.047 (4)	0.055 (4)	-0.009 (4)	-0.008 (4)	-0.025 (3)
C6	0.082 (5)	0.054 (4)	0.062 (4)	-0.026 (4)	-0.020 (4)	-0.021 (3)
C7	0.047 (4)	0.042 (3)	0.051 (3)	-0.008 (3)	-0.013 (3)	-0.006 (3)
C8	0.050 (4)	0.056 (4)	0.070 (4)	-0.021 (3)	-0.013 (3)	-0.006 (3)
С9	0.042 (4)	0.052 (4)	0.065 (4)	-0.008 (3)	0.008 (3)	-0.011 (3)
C10	0.044 (3)	0.045 (3)	0.043 (3)	-0.008 (3)	0.004 (3)	-0.014 (3)
C11	0.051 (4)	0.032 (3)	0.032 (3)	-0.006 (3)	-0.005 (3)	-0.007 (2)
C12	0.051 (4)	0.033 (3)	0.034 (3)	-0.001 (3)	-0.005 (3)	-0.007 (2)
C13	0.028 (3)	0.041 (3)	0.050 (3)	-0.010 (2)	0.005 (3)	-0.014 (3)
C14	0.034 (3)	0.031 (3)	0.041 (3)	-0.005 (2)	0.003 (2)	-0.011 (2)
C15	0.042 (3)	0.033 (3)	0.030 (3)	-0.007 (3)	-0.003 (2)	-0.011 (2)
C16	0.033 (3)	0.036 (3)	0.032 (3)	-0.009 (2)	0.000 (2)	-0.009(2)
C17	0.037 (3)	0.029 (3)	0.034 (3)	-0.009 (2)	0.004 (2)	-0.008 (2)
C18	0.043 (3)	0.043 (3)	0.038 (3)	-0.012 (3)	-0.002 (3)	-0.018 (3)
C19	0.042 (3)	0.038 (3)	0.035 (3)	-0.008 (3)	0.003 (2)	-0.012 (2)
C20	0.028 (3)	0.049 (3)	0.056 (3)	-0.010 (3)	0.006 (3)	-0.022 (3)
C21	0.039 (3)	0.049 (3)	0.041 (3)	-0.012 (3)	0.000 (3)	-0.020(3)
C22	0.047 (4)	0.055 (4)	0.042 (3)	-0.013 (3)	-0.006 (3)	-0.020(3)
C23	0.070 (4)	0.061 (4)	0.073 (4)	-0.026 (4)	-0.002 (4)	-0.028 (3)
C24	0.045 (4)	0.118 (6)	0.097 (5)	-0.029 (4)	0.010 (4)	-0.071 (5)
C25	0.040 (4)	0.038 (3)	0.048 (3)	-0.005 (3)	-0.004 (3)	-0.015 (3)
C26	0.056 (4)	0.045 (3)	0.052 (3)	-0.015 (3)	0.012 (3)	-0.025 (3)
C27	0.074 (4)	0.038 (3)	0.051 (3)	-0.011 (3)	0.013 (3)	-0.018 (3)
C28	0.048 (4)	0.054 (4)	0.052 (3)	-0.014 (3)	0.011 (3)	-0.019 (3)
C29	0.058 (4)	0.046 (3)	0.048 (3)	-0.016 (3)	0.015 (3)	-0.016 (3)
C30	0.071 (4)	0.055 (4)	0.073 (4)	0.006 (3)	0.015 (4)	-0.033 (3)
C31	0.080 (5)	0.087 (5)	0.084 (5)	-0.003 (4)	0.035 (4)	-0.042 (4)
Cu1	0.0408 (4)	0.0434 (4)	0.0450 (4)	-0.0071 (3)	0.0033 (3)	-0.0229 (3)
F1	0.0330 (18)	0.102 (3)	0.080 (2)	-0.0126 (18)	0.0059 (16)	-0.060(2)
N01	0.069 (4)	0.072 (4)	0.048 (3)	-0.015 (4)	0.002 (3)	0.002 (3)
N1	0.043 (3)	0.040 (3)	0.044 (3)	-0.003 (2)	0.004 (2)	-0.018 (2)
N2	0.042 (3)	0.036 (3)	0.037 (2)	-0.003 (2)	0.000 (2)	-0.012 (2)

N3	0.036 (3)	0.037 (2)	0.037 (2)	-0.008 (2)	0.001 (2)	-0.016 (2)
N4	0.044 (3)	0.039 (2)	0.043 (3)	-0.013 (2)	0.008 (2)	-0.019 (2)
N5	0.053 (3)	0.037 (3)	0.047 (3)	-0.002 (2)	0.004 (2)	-0.017 (2)
O01	0.111 (4)	0.079 (4)	0.131 (5)	-0.027 (3)	-0.010 (3)	-0.024 (3)
O1	0.040 (2)	0.045 (2)	0.047 (2)	-0.0076 (17)	0.0045 (17)	-0.0246 (18)
O2	0.039 (2)	0.061 (2)	0.056 (2)	-0.0132 (19)	0.0109 (18)	-0.032 (2)
O02	0.067 (4)	0.158 (6)	0.128 (5)	-0.039 (4)	-0.004 (3)	0.004 (4)
O1W	0.061 (3)	0.075 (3)	0.050 (2)	-0.012 (2)	-0.002 (2)	-0.009 (2)
O03	0.106 (4)	0.093 (4)	0.121 (4)	-0.016 (3)	0.025 (3)	-0.055 (3)
O3	0.035 (2)	0.083 (3)	0.085 (3)	-0.012 (2)	0.010(2)	-0.048 (2)
O2W	0.106 (4)	0.116 (4)	0.122 (4)	0.009 (4)	-0.020 (3)	-0.021 (4)
O3W	0.094 (4)	0.128 (4)	0.070 (3)	-0.058 (3)	0.019 (3)	-0.044 (3)

Geometric parameters (Å, °)

C1—N1	1.321 (6)	C23—C24	1.498 (8)
C1—C2	1.398 (7)	C23—H23A	0.97
C1—H1	0.93	С23—Н23В	0.97
C2—C3	1.369 (8)	C24—H24A	0.97
С2—Н2	0.93	C24—H24B	0.97
C3—C4	1.413 (8)	C25—O3	1.238 (6)
С3—Н3	0.93	C25—O2	1.293 (5)
C4—C12	1.420 (6)	C26—N4	1.468 (6)
C4—C5	1.442 (8)	C26—C27	1.511 (6)
C5—C6	1.339 (8)	C26—H26A	0.97
С5—Н5	0.93	C26—H26B	0.97
C6—C7	1.442 (7)	C27—N5	1.487 (6)
С6—Н6	0.93	C27—H27A	0.97
С7—С8	1.400 (7)	С27—Н27В	0.97
C7—C11	1.413 (7)	C28—N5	1.469 (6)
C8—C9	1.376 (7)	C28—C29	1.516 (6)
С8—Н8	0.93	C28—H28A	0.97
C9—C10	1.395 (7)	C28—H28B	0.97
С9—Н9	0.93	C29—N4	1.474 (6)
C10—N2	1.325 (6)	С29—Н29А	0.97
C10—H10	0.93	С29—Н29В	0.97
C11—N2	1.368 (6)	C30—N5	1.473 (6)
C11—C12	1.432 (7)	C30—C31	1.507 (8)
C12—N1	1.364 (6)	С30—Н30А	0.97
C13—N3	1.341 (5)	С30—Н30В	0.97
C13—C14	1.376 (6)	C31—H31A	0.96
С13—Н13	0.93	C31—H31B	0.96
C14—C15	1.418 (6)	C31—H31C	0.96
C14—C25	1.498 (6)	Cu1—O2	1.915 (3)
C15—O1	1.290 (5)	Cu1—O1	1.949 (3)
C15—C16	1.454 (6)	Cu1—N2	2.021 (4)
C16—C21	1.397 (6)	Cu1—N1	2.029 (4)
C16—C17	1.417 (6)	Cu1—O1W	2.253 (4)
C17—N3	1.397 (6)	N01—O02	1.223 (6)

C17—C18	1.413 (6)	N01—O02	1.223 (6)
C18—C19	1.382 (7)	N01—O03	1.230 (6)
C18—H18	0.93	N01—O03	1.230 (6)
C19—N4	1.404 (5)	N01—O01	1.242 (6)
C19—C20	1.425 (6)	N01—O01	1.242 (6)
C20—C21	1.356 (6)	O1W—H1C	0.8422
C20—F1	1.360 (5)	O1W—H1D	0.8373
C21—H21	0.93	O2W—H2C	0.8754
C22—C24	1.476 (7)	O2W—H2D	0.8768
C22—C23	1.477 (7)	O3W—H3C	0.8564
C22—N3	1.484 (6)	O3W—H3D	0.8496
C22—H22	0.98		
N1—C1—C2	123.1 (6)	O3—C25—C14	119.2 (4)
N1—C1—H1	118.4	O2—C25—C14	119.6 (5)
C2—C1—H1	118.4	N4—C26—C27	109.9 (4)
C3 - C2 - C1	119.4 (6)	N4—C26—H26A	109.7
C3—C2—H2	120.3	C27—C26—H26A	109.7
C1—C2—H2	120.3	N4—C26—H26B	109.7
$C^2 - C^3 - C^4$	119.7 (5)	C27—C26—H26B	109.7
С2—С3—Н3	120.2	$H_{26A} = C_{26} = H_{26B}$	108.2
C4—C3—H3	120.2	N5-C27-C26	110.6(4)
C_{3}^{-} C_{4}^{-} C_{12}^{-}	116.8 (5)	N5-C27-H27A	109.5
C_{3} C_{4} C_{5}	125 5 (5)	C_{26} C_{27} H_{27A}	109.5
$C_{12} - C_{4} - C_{5}$	125.5(5)	N5_C27_H27B	109.5
C6 - C5 - C4	121.7 (5)	C26_C27_H27B	109.5
C6_C5_H5	110.2	$H_{20} = C_{27} = H_{27B}$	109.5
C_{4} C_{5} H_{5}	119.2	N5 C28 C29	110.8 (4)
$C_{1} = C_{2} = C_{1}$	119.2	N5 C28 H28A	100.5
C_{5}	122.1 (0)	13 - 23 - 1128 A	109.5
C7 C6 H6	119	N5 C29 H29D	109.5
$C^{2} = C^{2} = C^{11}$	119	$N_{3} = C_{20} = H_{20} B$	109.5
	110.4 (3)	C_{29} C_{20} C	109.5
$C_{0} = C_{0} = C_{0}$	123.8 (3)	$n_{20}A - C_{20} - n_{20}B$	100.1
	117.8 (5)	N4-C29-C28	111.5 (4)
$C_9 = C_8 = C_7$	120.2 (5)	N4-C29-H29A	109.4
C9—C8—H8	119.9	C28—C29—H29A	109.4
C7—C8—H8	119.9	N4—C29—H29B	109.4
C8—C9—C10	119.4 (5)	C28—C29—H29B	109.4
С8—С9—Н9	120.3	H29A—C29—H29B	108
C10—C9—H9	120.3	N5-C30-C31	113.9 (5)
N2—C10—C9	122.7 (5)	N5-C30-H30A	108.8
N2—C10—H10	118.6	C31—C30—H30A	108.8
C9—C10—H10	118.6	N5—C30—H30B	108.8
N2—C11—C7	123.3 (5)	С31—С30—Н30В	108.8
N2—C11—C12	116.5 (5)	H30A—C30—H30B	107.7
C7—C11—C12	120.3 (5)	С30—С31—Н31А	109.5
N1—C12—C4	122.7 (5)	С30—С31—Н31В	109.5
N1—C12—C11	116.9 (4)	H31A—C31—H31B	109.5
C4—C12—C11	120.4 (5)	C30—C31—H31C	109.5
N3—C13—C14	125.4 (5)	H31A—C31—H31C	109.5

N3—C13—H13	117.3	H31B—C31—H31C	109.5
С14—С13—Н13	117.3	O2—Cu1—O1	92.94 (14)
C13—C14—C15	118.2 (4)	O2—Cu1—N2	170.46 (16)
C13—C14—C25	117.0 (4)	O1—Cu1—N2	92.85 (15)
C15—C14—C25	124.8 (4)	O2—Cu1—N1	90.95 (16)
O1—C15—C14	125.1 (4)	O1—Cu1—N1	169.36 (16)
O1—C15—C16	117.4 (4)	N2—Cu1—N1	82.08 (17)
C14—C15—C16	117.5 (4)	O2—Cu1—O1W	96.03 (15)
C21—C16—C17	118.3 (4)	O1—Cu1—O1W	94.13 (14)
C21—C16—C15	121.2 (4)	N2—Cu1—O1W	91.11 (15)
C17—C16—C15	120.6 (4)	N1—Cu1—O1W	95.31 (15)
N3—C17—C18	121.2 (4)	O02—N01—O03	122.7 (7)
N3—C17—C16	118.7 (4)	O02—N01—O03	122.7 (7)
C18—C17—C16	120.1 (4)	O02—N01—O03	122.7 (7)
C19—C18—C17	121.4 (4)	O02—N01—O03	122.7 (7)
C19-C18-H18	119.3	O02—N01—O01	119.7 (7)
C17-C18-H18	119.3	O02—N01—O01	119.7 (7)
C18—C19—N4	124.4 (4)	O03—N01—O01	117.6 (6)
C18—C19—C20	116.6 (4)	O03—N01—O01	117.6 (6)
N4	118.9 (4)	O02—N01—O01	119.7 (7)
C21—C20—F1	119.2 (4)	O02—N01—O01	119.7 (7)
C21—C20—C19	123.2 (5)	O03—N01—O01	117.6 (6)
F1—C20—C19	117.5 (4)	O03—N01—O01	117.6 (6)
C20—C21—C16	120.4 (4)	C1—N1—C12	118.3 (4)
C20-C21-H21	119.8	C1—N1—Cu1	129.6 (4)
C16—C21—H21	119.8	C12—N1—Cu1	112.1 (3)
C24—C22—C23	61.0 (4)	C10—N2—C11	118.0 (4)
C24—C22—N3	118.9 (5)	C10—N2—Cu1	129.5 (3)
C23—C22—N3	119.6 (5)	C11—N2—Cu1	112.4 (3)
С24—С22—Н22	115.5	C13—N3—C17	119.6 (4)
C23—C22—H22	115.5	C13—N3—C22	120.4 (4)
N3—C22—H22	115.5	C17—N3—C22	119.6 (4)
C22—C23—C24	59.5 (4)	C19—N4—C26	116.7 (4)
С22—С23—Н23А	117.8	C19—N4—C29	115.1 (4)
С24—С23—Н23А	117.8	C26—N4—C29	110.4 (4)
С22—С23—Н23В	117.8	C28—N5—C30	111.8 (4)
C24—C23—H23B	117.8	C28—N5—C27	108.2 (4)
H23A—C23—H23B	115	C30—N5—C27	111.8 (4)
C22—C24—C23	59.5 (3)	C15—O1—Cu1	122.0 (3)
C22—C24—H24A	117.8	C25—O2—Cu1	127.3 (3)
C23—C24—H24A	117.8	Cu1—O1W—H1C	131.2
C22—C24—H24B	117.8	Cu1—O1W—H1D	113
C23—C24—H24B	117.8	H1C—O1W—H1D	105.3
H24A—C24—H24B	115	H2C—O2W—H2D	96.6
O3—C25—O2	121.2 (5)	H3C—O3W—H3D	104.8
N1—C1—C2—C3	-3.3 (9)	O2—Cu1—N1—C1	8.1 (5)
C1—C2—C3—C4	1.6 (9)	O1—Cu1—N1—C1	119.6 (9)
C2—C3—C4—C5	-179.0 (6)	N2—Cu1—N1—C1	-178.4 (5)
C3—C4—C5—C6	179.8 (6)	O1W—Cu1—N1—C1	-88.0 (5)

C5—C6—C7—C8	-179.9 (6)	O2—Cu1—N1—C12	-174.2 (3)
C6—C7—C8—C9	179.6 (5)	O1—Cu1—N1—C12	-62.7 (10)
C6—C7—C11—N2	-179.9 (4)	N2—Cu1—N1—C12	-0.7 (3)
C8—C7—C11—C12	-179.8 (5)	O1W—Cu1—N1—C12	89.7 (3)
C5-C4-C12-N1	178.9 (5)	C9-C10-N2-C11	-0.4 (7)
C3—C4—C12—C11	-179.6 (5)	C9—C10—N2—Cu1	-178.8 (4)
C5-C4-C12-C11	-0.6 (7)	C7-C11-N2-C10	0.6 (7)
N2-C11-C12-N1	0.8 (7)	C12-C11-N2-C10	180.0 (4)
C7—C11—C12—N1	-179.7 (5)	C7—C11—N2—Cu1	179.2 (4)
N2-C11-C12-C4	-179.6 (4)	C12—C11—N2—Cu1	-1.4 (5)
C7—C11—C12—C4	-0.2 (7)	O1-Cu1-N2-C10	-9.8 (4)
N3—C13—C14—C15	-1.5 (7)	N1—Cu1—N2—C10	179.6 (5)
N3-C13-C14-C25	176.4 (4)	O1W—Cu1—N2—C10	84.3 (4)
C13-C14-C15-O1	179.3 (4)	O1—Cu1—N2—C11	171.7 (3)
C25-C14-C15-O1	1.6 (8)	N1—Cu1—N2—C11	1.1 (3)
C13-C14-C15-C16	0.1 (7)	O1W—Cu1—N2—C11	-94.1 (3)
C25-C14-C15-C16	-177.7 (4)	C14—C13—N3—C17	1.1 (7)
O1-C15-C16-C21	2.0 (7)	C14—C13—N3—C22	173.7 (5)
C14-C15-C16-C21	-178.7 (5)	C18—C17—N3—C13	-178.4 (4)
O1-C15-C16-C17	-177.6 (4)	C16—C17—N3—C13	0.8 (7)
C14—C15—C16—C17	1.7 (7)	C18—C17—N3—C22	8.9 (7)
C21-C16-C17-N3	178.2 (4)	C16—C17—N3—C22	-171.8 (4)
C15-C16-C17-N3	-2.2 (7)	C24—C22—N3—C13	40.1 (7)
C21-C16-C17-C18	-2.6 (7)	C23—C22—N3—C13	111.2 (6)
C15-C16-C17-C18	177.1 (4)	C24—C22—N3—C17	-147.3 (5)
N3-C17-C18-C19	178.8 (5)	C23—C22—N3—C17	-76.2 (6)
C16—C17—C18—C19	-0.4 (7)	C18-C19-N4-C26	14.4 (7)
C17-C18-C19-N4	-174.1 (4)	C20-C19-N4-C26	-162.4 (5)
C17—C18—C19—C20	2.7 (7)	C18—C19—N4—C29	-117.5 (5)
C18-C19-C20-C21	-2.2 (8)	C20-C19-N4-C29	65.7 (6)
N4-C19-C20-C21	174.8 (5)	C27—C26—N4—C19	169.1 (4)
C18-C19-C20-F1	-178.5 (5)	C27—C26—N4—C29	-56.9 (5)
N4-C19-C20-F1	-1.5 (7)	C28—C29—N4—C19	-169.6 (4)
F1-C20-C21-C16	175.5 (5)	C28-C29-N4-C26	55.6 (6)
C19—C20—C21—C16	-0.7 (8)	C29-C28-N5-C30	-178.1 (4)
C17—C16—C21—C20	3.1 (7)	C29—C28—N5—C27	58.3 (5)
C15-C16-C21-C20	-176.6 (5)	C31-C30-N5-C28	69.4 (6)
N3—C22—C23—C24	-108.7 (6)	C31—C30—N5—C27	-169.0 (5)
N3—C22—C24—C23	109.8 (6)	C26—C27—N5—C28	-60.4 (5)
C13—C14—C25—O3	-4.0 (7)	C26-C27-N5-C30	176.0 (5)
C15—C14—C25—O3	173.8 (5)	C14—C15—O1—Cu1	21.5 (7)
C13—C14—C25—O2	175.6 (5)	C16—C15—O1—Cu1	-159.3 (3)
C15—C14—C25—O2	-6.7 (8)	O2—Cu1—O1—C15	-30.0 (4)
N4—C26—C27—N5	60.1 (6)	N2—Cu1—O1—C15	157.6 (4)
N5-C28-C29-N4	-57.1 (6)	N1—Cu1—O1—C15	-141.3 (8)
C2-C1-N1-C12	3.1 (8)	O1W—Cu1—O1—C15	66.2 (4)
C2-C1-N1-Cu1	-179.3 (4)	O3—C25—O2—Cu1	166.3 (4)
C4-C12-N1-C1	-1.4 (8)	C14—C25—O2—Cu1	-13.3 (7)
C11—C12—N1—C1	178.1 (5)	O1—Cu1—O2—C25	26.9 (4)

C4—C12—N1—Cu1 C11—C12—N1—Cu1	-179.4 (4) 0.2 (5)	N1—Cu1—O2—C25 O1W—Cu1—O2—C25		-163.0 (4) -67.6 (4)
Hydrogen-bond geometry (Å, °)				
D—H···A	<i>D</i> —Н	$H \cdots A$	$D \cdots A$	D—H···A
O1W—H1D…O03	0.84	2.10	2.879 (7)	155
O2W—H2C…O01	0.88	2.37	3.194 (7)	157
O2W—H2C…O02	0.88	2.28	3.031 (8)	144
O2W—H2D···O3W	0.88	2.26	3.066 (7)	152
O3W—H3C···O2 ⁱ	0.86	2.17	3.005 (5)	166
O3W—H3D····O3 ⁱⁱ	0.85	2.00	2.845 (6)	179
Symmetry codes: (i) – <i>x</i> +1, – <i>y</i> +2, – <i>z</i> +1;	(ii) <i>x</i> -1, <i>y</i> , <i>z</i> .			



Fig. 1