



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERIA

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y
MATERIALES**

**Síntesis de Ligantes Acíclicos Derivados de Ácidos
Poliaminopolicarboxílicos Funcionalizados con Unidades Pireno o
Antraceno como Potenciales Sensores Fluorescentes de pH.**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS DE MATERIALES

Por:

Refugio Pérez González

Hermosillo, Sonora

Febrero de 2012

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



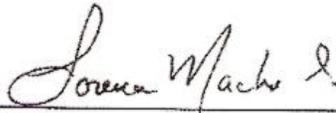
**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN DE TESIS

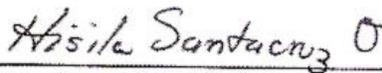
Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de doctorado de REFUGIO PEREZ GONZALEZ han dictaminado que el trabajo cumple satisfactoriamente como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencia de Materiales otorgado por la Universidad de Sonora.



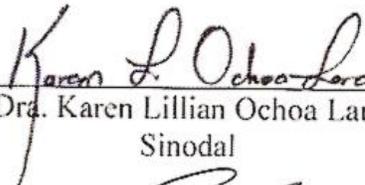
Dra. Lorena Machi Lara
Presidente



Dra. Rosa Elena Navarro Gautrín
Sinodal



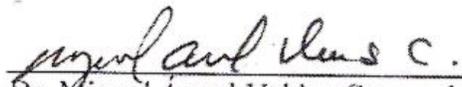
Dra. Hisila Santacruz Ortega
Sinodal



Dra. Karen Lillian Ochoa Lara
Sinodal



Dr. Ignacio Rivero Espéjel
Sinodal Externo



Dr. Miguel Ángel Valdez Covarrubias
Sinodal Suplente

DEDICATORIA

*A mi madre y hermanos
Por su cariño y apoyo*

*A mi esposa: Ángela María
Por estar siempre a mi lado,
por su amor y paciencia*

*A mi hija: Arleth Sofía
Por ser parte de mi vida
y por llenarla de dulzura y amor*

AGRADECIMIENTOS

A la universidad de Sonora y el Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales por permitirme realizar mis estudios.

Agradezco de manera muy especial a la *Dra. Lorena Machi Lara*, por su confianza, paciencia y acertada dirección de esta tesis; así como al *Dr. Motomichi Inoue*, por contribuir enormemente para el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Felipe Medrano (CIQ-UAEM) por su amistad y su colaboración con los estudios potenciométricos; así como a la Dra. Carolina Godoy por facilitar el uso de su laboratorio.

A los miembros del jurado: Dra. Hisila Santacruz, Dra. Rosa E. Navarro, Dra. Karen L. Ochoa, Dr. Ignacio Rivero y Dr. Miguel Valdez por su valiosa contribución para mejorar este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el financiamiento otorgado (proyecto 79272), así como por su apoyo para la realización de mis estudios de Doctorado.

A los estudiantes Blanca A. Durazo, Edel Carrillo, Jesús E. Ávila y Moisés Vera por su colaboración en algunos estudios.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio, por sus consejos y sobre todo su amistad, en especial a Lorena Armenta, Fernando Rocha, Yedith Soberanes y Sheyla D. Yañez .

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS	iviii
LISTA DE TABLAS	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN.....	xi
OBJETIVOS.....	xiv
Objetivo General	xiv
Objetivos Particulares	xiv
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Aspectos Fundamentales.....	1
1.2 Breve historia de los quimiosensores fluorescentes.....	2
1.3 Quimiosensores Fluorescentes.....	3
1.4 Quimiosensores fluorescentes para cationes metálicos.	4
1.5 Quimiosensores fluorescentes para protón.	6
1.6 Quimiosensores Bis-cromofóricos.....	8
1.6.1 Bis-cromofóricos solubles en agua basados en antraceno.	12
1.6.2 Sensores Bis-cromofóricos solubles en agua basados en pireno.	16
2. METODOLOGÍA	21
2.1. Diseño Experimental.....	21
2.2 Síntesis de los Ligantes.....	22
2.2.1. Síntesis de ligantes derivados de pireno.....	24
2.2.1.1. <i>Síntesis del dianhídrido trietilentetraaminohexaacético (ttha-da).</i>	24

2.2.1.2. Síntesis de (ttha1py)H ₄ . 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (3).....	24
2.2.1.3. Síntesis de (edta1mpy)H ₂ . 1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4-diazabutano (4).	25
2.2.1.4. Síntesis de (dtpa1mpy)H ₃ . 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (5).....	26
2.2.1.5. Síntesis de (ttha1mpy)H ₄ . 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (6).	26
2.2.2. Síntesis de ligantes derivados de antraceno.	28
2.2.2.1. Síntesis de (edta1an)H ₂ . 1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4-diazabutano (7).....	28
2.2.2.2. Síntesis de (dtpa1an)H ₃ . 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (8).	28
2.2.2.3. Síntesis de (ttha1an)H ₄ . 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (9).....	29
2.2.2.4. Síntesis de (dtpa2an)H ₃ . 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (11).	30
2.3. Técnicas Utilizadas en la Caracterización de los ligantes.....	31
2.4. Mediciones Potenciométricas y Espectroscópicas	36
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1. Estudios Espectroscópicos de los Ligantes Derivados de Pireno.	40
3.1.1. Relación de pKa y fluorescencia de (edta1mpy)H ₂	40
3.1.2. Relación de pKa y fluorescencia de (dtpa1mpy)H ₃	50
3.1.3. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha1py)H ₄	59
3.1.4. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha1mpy)H ₄	63
3.2. Estudios Espectroscópicos de los Ligantes Derivados de Antraceno	68
3.2.1. Relación de pKa y fluorescencia de (dtpa2an)H ₃	70
3.2.2. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha2an)H ₄	75
4. CONCLUSIONES.....	82
5. BIBLIOGRAFÍA	85
6. ANEXOS.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

dtpa	Ácido dietilentriaminopentaacético
(dtpa1an)H₃	1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4,7 triazaheptano
(dtpa2an)H₃	1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7-triazaheptano
(dtpa1py)H₃	1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(pirenilacetamida)-1,4,7-triazaheptano.
(dtpa1mpy)H₃	1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4,7-triazaheptano.
DMF	N, N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSS	Ácido 4,4-dimetil-4-silapentano-1-sulfónico
edta	Ácido etilendiaminotetraacético
(edta1an)H₂	1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4-diazabutano
(edta2an)H₂	1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4-diazabutano
(edta1mpy)H₂	1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4-diazabutano
(edta1py)H₂	1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(pirenilacetamida)-1,4-diazabutano
Et₃N	Trietilamina
¹H RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
IR	Infrarrojo
MS-ESI	Espectrometría de masas por ionización por electro-spray
Na₂CO₃	Carbonato de Sodio
pK_a	Constante de protonación
TMS	Tetrametilsilano
Ttha	Ácido trietilentetraaminohexaacético
(ttha1an)H₄	1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano
(ttha2an)H₄	1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano
(ttha1mpy)H₄	1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenilmetilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano
(ttha1py)H₄	1,4,7,10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano
Uv-vis	ultravioleta-visible
Φ_f	Rendimiento cuántico de la fluorescencia
λ_{em}, λ_{ex}	Longitud de onda de emisión y excitación

LISTA DE FIGURAS

Fig.		Pág.
1	Estructura de los primeros quimiosensores fluorescentes reportados para cationes metálicos.....	3
2	Representación esquemática de un quimiosensor fluorescente.....	4
3	Estructura de algunos quimiosensores fluorescentes para iones metálicos.....	5
4	Estructura de algunos quimiosensores de pH.....	8
5	Representación esquemática de un quimiosensor bis-cromofórico.....	9
6	Estructuras de dos quimiosensores que operan en acetonitrilo.....	11
7	Estructura de poliaminas bis-funcionalizadas con grupos aromáticos naftaleno (24) y quinolina (25).....	12
8	Comportamiento de la fluorescencia del compuesto 26 en presencia de diferentes cantidades de zinc.....	13
9	A): Espectros de emisión del compuesto 27 a diferentes valores de pH ($\lambda_{exc}=402$ nm). B): Fracción mol de especies de 27 obtenidos por potenciometría (líneas punteadas) y emisión a 416 nm (\circ) y 520 nm (\bullet) en función del pH. La línea sólida corresponde al ajuste teórico.....	14
10	Espectros de emisión de (edtaan)H ₂ en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las intensidades fueron normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. $\lambda_{exc} = 270$ nm; concentración = 1×10^{-6} M.....	15
11	A: Espectros de emisión del compuesto 28 a diferentes valores de pH. B): Fracción mol de especies de 19 obtenidos por potenciometría (líneas punteadas) y emisión de monómero (\circ) a 375 nm y excímero (\bullet) a 480 nm en función del pH. La línea sólida corresponde al ajuste teórico.....	17
12	Espectros de emisión de 1 en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 342 nm, y la concentración es 2×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la gráfica de I_E (u.a.) a 490 nm en función del pH, el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3 (línea sólida).....	19
13	Espectros de emisión 2 en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las	

	intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 342 nm, y la concentración es 1×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la gráfica de I_E (u.a.) a 490 nm en función del pH, y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3 (línea sólida).....	20
14	Espectros de emisión de (edta1mpy) H_2 normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=342$ nm, $[L]= 1 \times 10^{-6}$ M. En el recuadro se observa la relación de intensidades excímero–monómero I_E/I_M en función del pH (cuadros) y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3 (línea sólida).....	43
15	Espectros de excitación de (edta1mpy) H_2 observado para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas continuas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; los valores de pH son 11.5, 11.4, 11.3, 11.0, 10.3, 9.5, 8.19 y 6.2 de arriba hacia abajo para cada grupo de espectros. $[L]= 1 \times 10^{-6}$ M, en cada grupo de espectros, las intensidades están normalizadas al pico más alto del espectro más intenso.....	47
16	Espectros de absorción del ligante (edta1mpy) H_2 a diferentes valores de pH, $[L]=5 \times 10^{-6}$ M.....	48
17	Estructuras optimizadas para las especies L^{2-} de (edta1py) H_2 (izquierda) y (edta1mpy) H_2 (derecha) por el método B3LYP/6-31G(d).....	49
18	Espectros de emisión de (dtpa1mpy) H_3 en solución acuosa, tomados a diferentes valores de pH. Las intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. $\lambda_{exc}=342$ nm, $[L]= 1 \times 10^{-6}$ M.....	52
19	Abajo: Fracción mol de especies de (dtpa1mpy) H_3 obtenidos por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas) y relación I_E/I_M en función del pH (círculos: experimental; línea: ajuste teórico). Arriba: Desplazamientos químicos de protones de (dtpa1mpy) H_3 en función del pD. Ver las etiquetas de los protones en el Esquema I.....	53
20	Intensidad de emisión de excímero I_E (cuadros) de (dtpa1py) H_3 en función del pH y la fracción mol de especies determinadas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de log K_p se muestran en las Tablas 1 y 2....	56
21	Espectros de excitación de (dtpa1mpy) H_3 observado para las bandas de emisión a 375 (líneas punteadas) y 480 nm (líneas continuas) en solución acuosa a diferentes valores de pH. $[L]= 1 \times 10^{-6}$ M.....	57
22	Esquemas de protonación y los cambios conformacionales propuestos para (dtpa1mpy) H_n^{-3+n} . El puente de hidrógeno en la especie (dtpa1mpy) H^{2-} dificulta	

la formación de excímero en el estado excitado.....	58
23 Espectros de emisión de (ttha1py)H ₄ normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=342$ nm, [L]= 1×10^{-6} M.....	60
24 Espectros de Excitación de (ttha1py)H ₄ observados para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas sólidas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; el pH es 11.4, 11.0, 8.5, 10.0, 6.0 and 5.0 de arriba hacia abajo para ambos grupos de espectros. La concentración es 1×10^{-6} M. en cada grupo de espectros, las intensidades estan normalizadas al pico más alto del espectro más Intenso.....	61
25 Fracción molar de especies de (ttha1py)H ₄ obtenidas por potenciometría (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) y relación I_E/I_M en función del pH (círculos). Arriba la dependencia de pD de los desplazamientos químicos de (ttha1py)H ₄ . Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I.....	62
26 Espectros de emisión de (ttha1mpy)H ₄ normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=342$ nm, [L]= 5×10^{-7} M. En el recuadro se observa la relación de intensidades excímero-monómero I_E/I_M en función del pH (cuadros) y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 1 (línea sólida).....	65
27 Distribución de fracción mol de las diferentes especies de (ttha1mpy)H ₄ obtenidas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas) y la relación I_E/I_M en función del pH (cuadros). La línea punteada es el mejor ajuste obtenida con la Ecuación 3. Las líneas punteadas a pH~5 muestra la suma de las fracciones mol de las especies LH ₂ ²⁻ , LH ₃ ⁻ and LH ₄ , debido a que en esa región de pH no hay ningún cambio relacionado al proceso de protonación.....	65
28 Dependencia de pD en los desplazamientos químicos de (ttha1mpy)H ₄ . Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I. Las líneas sólidas son el mejor ajuste con base en la ecuación $\delta_j(pD) = \{\delta_{j0} + \sum_n \delta_{jn} \cdot \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\} / \{1 + \sum_n \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\}$ donde β_{Dn} es la constante de protonación total <i>n</i> th en D ₂ O, y δ_{j0} y δ_{jn} son los valores δ_j de (ttha1mpy) ⁴⁻ y (ttha1mpy)H _{<i>n</i>} ⁽⁴⁻ⁿ⁾⁻ , respectivamente: log K _{D1} =11.4 y log K _{D2} ~7; $\delta_{f0} = 1.9$ y $\delta_{f1} = 0.57$	67
29 Posible cambio conformacional de la cadena de interconexión tras la protonación en (ttha1mpy)H ₄ . Los rectángulos representan los anillos de pireno y X=CH ₂ CO ₂ ⁻	68
30 Espectros de emisión de (dtpa2an)H ₃ tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=330$ nm, [L]= 5×10^{-6} M. Los valores de pH de abajo hacia arriba de la banda en 500 nm son: 7.1, 9.4, 11.0, 4.0, 3.0.....	71

31	Espectros de emisión de (dtpa2an)H ₃ tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=330$ nm, [L]= 5×10^{-6} M. Los valores de pH de abajo hacia arriba de la banda en 500 nm son: 7.1, 9.4, 11.0, 4.0, 3.0.....	72
32	Intensidad de emisión de excímero I _E (cuadros) de (dtpa2an)H ₃ en función del pH y la distribución de especies obtenida por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas segmentadas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de log K _p se muestran en las Tablas 3 y 4...	74
33	Espectro de excitación correspondientes a la emisión de monómero ($\lambda_{emi}=422$ nm, línea sólida) y a la emisión de excímero ($\lambda_{emi}=495$ nm, línea punteada) de (dtpa2an)H ₃ tomados a diferentes valores de pH. [L]= 5×10^{-6} M.....	74
34	Espectros de absorción de (dtpa2an)H ₃ tomados a diferentes valores de pH. [L]= 5×10^{-6} M.....	75
35	Espectros de emisión de (ttha2an)H ₄ en solución acuosa a diferentes valores de pH (de arriba hacia abajo a 525 nm: 11.1, 8.9, 7.1 y 5.5). La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 330 nm, y la concentración es 5×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la relación I _E /I _M en función del pH, y la línea sólida es el ajuste obtenido con base en la Ecuación 1.....	77
36	Relación I _E /I _M (cuadros) de (ttha2an)H ₄ en función del pH y la distribución de especies determinadas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas discontinuas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de log K _p se muestran en las Tablas 3 y 4. Las líneas punteadas a pH~5 muestran la suma de las fracciones mol de las especies LH ₂ ²⁻ y LH ₃ ⁻ , debido a que en esa región de pH no hay ningún cambio relacionado al proceso de protonación.....	77
37	Espectro de excitación de (ttha2an)H ₄ a diferentes valores de pH. $\lambda_{emi}=422$ nm. [L]= 5×10^{-6} M. Los valores de pH de abajo hacia arriba son: 11.5, 10.5, 9.0, 7.5, 4.9.....	79
38	Espectros de absorción del ligante (ttha2an)H ₄ a diferentes valores de pH, [L]= 5×10^{-6} M.....	79
39	Dependencia de pD en los desplazamientos químicos de (ttha2an)H ₄ . Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I. Las líneas sólidas son el mejor ajuste con base en la ecuación $\delta_j(pD) = \{\delta_{j_0} + \sum_n \delta_{jn} \cdot \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\} / \{1 + \sum_n \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\}$ donde β_{Dn} es la constante de protonación total nth en D ₂ O, y δ_{j_0} y δ_{jn} son los valores δ_j de (ttha2an) ⁴⁻ y (ttha2an)H _n ⁽⁴⁻ⁿ⁾⁻ , respectivamente: log K _{D1} =10.8; $\delta_{f_0}=2.71$ y $\delta_{f_1} = 3.23$	80

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág
1	Logaritmos de las constantes de protonación determinadas por fluorescencia (paréntesis) y la intensidad de fluorescencia relativa inherente en cada especie con referencia a la intensidad de las especies LH^a	45
2	Logaritmos de las constantes de protonación de los compuestos derivados de pireno determinadas por potenciometría en solución de NaCl 0.1 M a 298 K.	51
3	Logaritmos de las constantes de protonación determinadas por fluorescencia (paréntesis) y la intensidad de fluorescencia relativa inherente en cada especie con referencia a la intensidad de las especies LH^a	72
4	Logaritmo de las constantes de protonación de compuestos derivados de antraceno obtenidas por potenciometría en solución de NaCl 0.1 M a 298 K.....	78

RESUMEN

En este trabajo de tesis se sintetizaron y caracterizaron seis nuevos compuestos acíclicos bis-cromofóricos solubles en agua, derivados de los ácidos poliamino policarboxílicos edta, dtpa y ttha, de los cuales cuatro están funcionalizados con 1-pireno (1py) o con 1-metilpireno (1mpy): (edta1mpy)H₂, (dtpa1mpy)H₃, (ttha1py)H₄ y (ttha1mpy)H₄ y dos con unidades 2-antraceno (2an): (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄. Las propiedades de los nuevos derivados de pireno se correlacionaron con las de (edta1py)H₂ y (dtpa1py)H₃ previamente reportados por nuestro grupo y se encontró que la inserción del grupo –CH₂– confiere mayor flexibilidad a las moléculas e induce perfiles novedosos de intensidad de fluorescencia con respecto al pH. Se encontró también que la longitud y naturaleza de la cadena de interconexión, así como el estado de protonación de los grupos amina presentes en ella, determinan las conformaciones en solución y por consiguiente el modo de respuesta fluorescente de las moléculas. En el caso de (ttha1mpy)H₄, los estudios de RMN de ¹H vs pD revelaron que la especie monoprotónada (ttha1mpy)H³⁻ adquiere una conformación enrollada que suprime la aproximación de los pirenos y cancela en más de 80% la emisión de excímero. Los derivados (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄ presentaron emisión de fluorescencia a 422 nm y 500 nm correspondientes a monómero y excímero, respectivamente a diferencia del compuesto (edta2an)H₂ previamente reportado por nuestro grupo. Los perfiles de intensidad muestran comportamientos tipo “encendido-apagado” en intervalos específicos de la ventana de pH, lo cual sugiere el potencial de estos compuestos para ser aplicados como sensores fluorescentes de pH a nivel biológico o mediambiental.

ABSTRACT

Six new acyclic bichromophoric water-soluble compounds, derivatives from the polyaminopolycarboxylic acids edta, dtpa and ttha functionalized with 1-pyrene (1py) or 1-methylpyrene (1mpy): (edta1mpy) H_2 , (dtpa1mpy) H_3 , (ttha1py) H_4 y (ttha1mpy) H_4 and 2-anthracene (2an): (dtpa2an) H_3 y (ttha2an) H_4 were synthesized and characterized herein.

The properties of the novel derivatives of pyrene were correlated with the (edta1py) H_2 y (dtpa1py) H_3 developed previously by our group. The insertion of the CH_2 group confers greater flexibility to molecules and induces novel fluorescence intensity profiles relative to pH. It was also found that the length and nature of the interlinking chain, as well as the protonation state of the amine groups present therein, determine the conformations in solution and consequently the fluorescent response mode of the molecules. The 1H NMR vs pD study in (ttha1mpy) H_4 revealed that the monoprotonated specie (ttha1mpy) H^{3-} acquires a rolled up conformation that suppresses the proximity of the pyrene groups and cancels more than 80% the excimer emission.

On the other hand, unlike the (edta2an) H_2 compound developed previously by our group, the (dtpa2an) H_3 and (ttha2an) H_4 derivatives exhibited emission bands characteristics of monomer and excimer of anthracene, at 422 nm and 500 nm respectively. The intensity shows “on-off” profiles at specific pH ranges, which suggests the potential of these compounds for application as fluorescent pH sensors at the biological or environmental level.

INTRODUCCIÓN

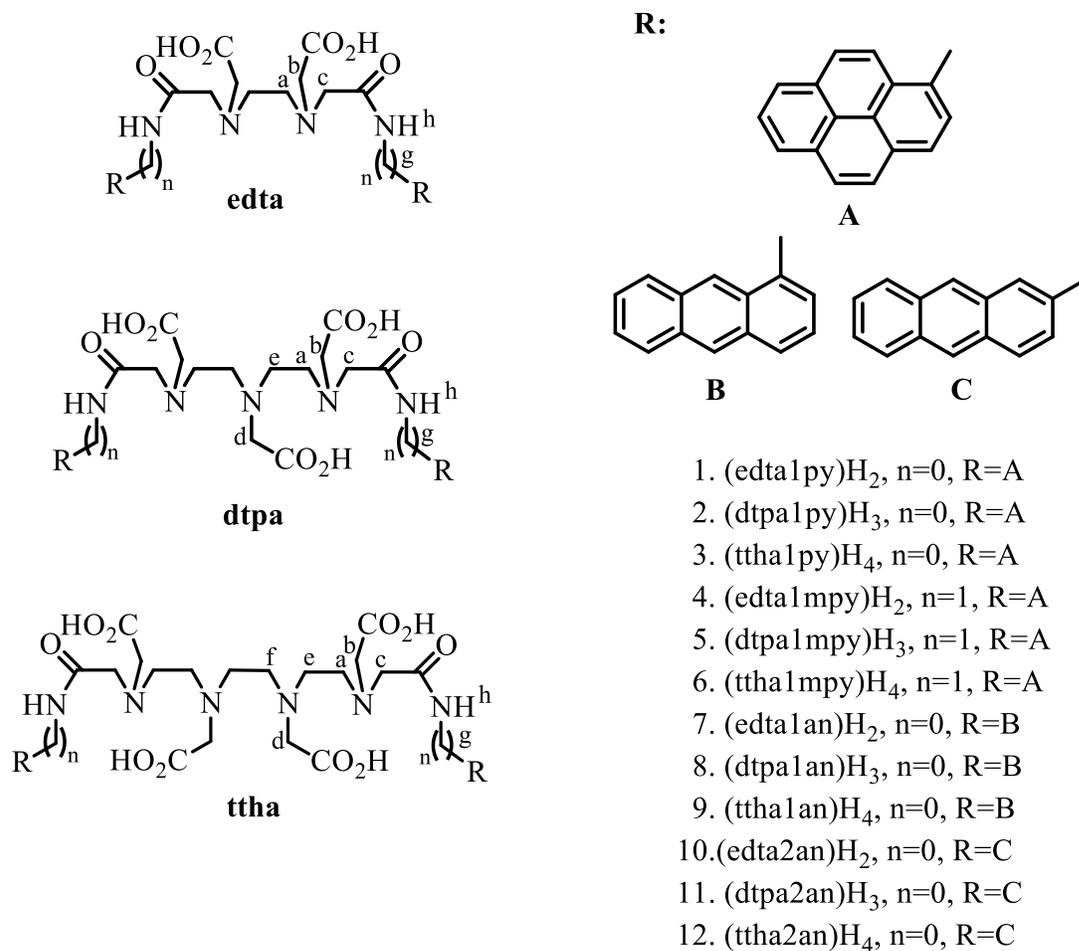
Existen numerosos métodos experimentales para la detección de analitos, tales como espectrometría de absorción atómica, cromatografía y análisis por microprueba electrónica. Estos métodos son caros y por lo tanto muchas veces no permiten un monitoreo continuo. Por otro lado se encuentran los métodos basados en espectroscopia de fluorescencia y absorción que ofrecen distintas ventajas en cuanto a selectividad, sensibilidad, respuesta en tiempo real y bajo costo. Es por ello que durante las últimas décadas el diseño de los quimiosensores ha sido extensivo. Los quimiosensores son moléculas capaces de enlazar selectiva y reversiblemente a un analito y de presentar simultáneamente un cambio en alguna de sus propiedades químicas y/o físicas tales como potenciales redox, espectros de absorción y fluorescencia. En este contexto, se ha puesto especial interés en el diseño de sensores bis-cromofóricos, unidos por cadenas quelantes. Entre los fluoróforos más utilizados para la construcción de quimiosensores fluorescentes se encuentran el naftaleno, antraceno y pireno. El antraceno ha sido muy utilizado en este ámbito, de hecho es de las primeras moléculas usadas para la construcción de sensores¹ y a pesar de ello, existen pocos compuestos bis-cromofóricos derivados de antraceno que presenten excímero (dímero en el estado excitado) y que operen en medio acuoso. En el caso del pireno, este compuesto presenta interesantes propiedades fotofísicas tales como alto rendimiento cuántico, tiempo de vida larga en el estado excitado y la capacidad para formar excímero. Existen reportes de compuestos bis-cromofóricos derivados de pireno donde la mayoría de ellos operan en medios orgánicos o mezcla orgánico/acuoso y solo algunos operan en medio acuoso.

En nuestro departamento se han preparado varios sensores bis-cromofóricos utilizando cadenas de interconexión tipo edta y dtpa y unidades aromáticas naftaleno, antraceno y pireno, los cuales son solubles en agua y presentan muy buenas respuestas fluorescentes al pH y a cationes metálicos (ejemplos: **1-2**² y **10**,³ **Esquema I**). La solubilidad en agua, la sensibilidad a la variación del pH y la capacidad de coordinación a metales de estos compuestos se deben a la presencia de los grupos funcionales carboxilato, amina y amida en las estructuras.

Con base en lo anteriormente expuesto y con el propósito de obtener sensores moleculares fluorescentes que muestren alta sensibilidad tanto para el reconocimiento de cationes metálicos como de ión hidrógeno, en este trabajo se sintetizaron una serie de nuevos compuestos derivados de los ácidos poliaminopolicarboxílicos edta, dtpa y ttha funcionalizados con grupos aromáticos antraceno o pireno en los extremos de la cadena. Las estructuras se muestran en el Esquema I, **3-9** y **11-12**.

En el caso de los derivados de pireno, para variar la longitud de la cadena se siguieron dos estrategias sintéticas. En la primera de ellas se mantuvieron las unidades 1-pirenilacetamida y se cambió la cadena de interconexión a una tipo trietilentetraminohexaacético (ttha) para obtener el derivado (ttha1py)H₄. En la segunda se cambiaron los grupos 1-pirenilacetamida por grupos 1-pirenilmetilacetamida y se unieron con los tres tipos de unidades de interconexión planteadas para obtener los derivados (edta1mpy)H₂, (dtpa1mpy)H₃ y (ttha1mpy)H₄. En estos derivados se observó un rendimiento cuántico fluorescente (Φ_F) más alto que en los compuestos análogos derivados de 1-aminopireno por la presencia del puente metileno entre el grupo aromático y el grupo amida, tal como ocurrió con los ligantes (edta1mnap)H₂ y (edta2mnap)H₂.⁴ Para ver el efecto de la

unidad aromática en las propiedades de las cadenas de interconexión, se sustituyó al pireno por 2-aminoantraceno para dar los compuestos (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄.



Esquema I.

OBJETIVOS

Objetivo General

El objetivo general del presente proyecto es la obtención de ligantes bicromofóricos de cadena abierta que actúen como sensores fluorescentes de ion hidrógeno.

Objetivos Particulares

- Sintetizar nueve nuevos ligantes bicromofóricos de cadena abierta derivados de los ácidos poliamino policarboxílicos edta, dtpa y ttha, que incorporen en su estructura grupos aromáticos fluorescentes terminales antraceno o pireno.
- Llevar a cabo la caracterización completa de los derivados mediante análisis elemental y las técnicas espectroscópicas convencionales (RMN de ^1H , UV-Vis, Fluorescencia, IR y Masas).
- Obtener los espectros electrónicos (UV-Vis y fluorescencia) de los compuestos a diferente pH y determinar las constantes de protonación.
- Determinar las constantes de protonación de los compuestos por RMN de ^1H y potenciometría.
- Con base en los resultados, establecer el potencial de aplicación de los compuestos como sensores fluorescentes de pH.

1. ANTECEDENTES

1.1 Aspectos Fundamentales.

Uno de los principales retos que se enfrentan actualmente en el área de *química supramolecular* es el desarrollo de sistemas moleculares con capacidad de enlazarse a sustratos específicos con alto grado de selectividad y especificidad. Este proceso de unión selectiva entre un receptor y un sustrato se denomina *reconocimiento molecular* y es la base del funcionamiento de la mayoría de los procesos biológicos.⁵

Existen numerosos métodos experimentales para la detección de analitos, como son la espectrometría de absorción atómica, la cromatografía, etc. Estas técnicas son caras y generalmente es difícil un monitoreo continuo. En contraste, los métodos basados en fluorescencia ofrecen distintas ventajas en selectividad, sensibilidad, respuesta en tiempo real y bajo costo.⁶

Por otra parte, una de las líneas de investigación en química supramolecular se centra en el diseño y síntesis de receptores moleculares capaces de unirse selectivamente hacia algún analito de interés (molécula, catión o anión), con base en características químicas y estructurales adecuadas. La selección de moléculas receptoras con capacidad de indicar su enlace con el sustrato mediante la transmisión de algún tipo de señal ha conducido a la obtención de los denominados *sensores moleculares* o *quimiosensores*.

Típicamente los quimiosensores son moléculas de origen abiótico que son capaces de enlazar selectiva y reversiblemente a un analito de interés con un cambio concomitante en alguna de las propiedades del sistema, tales como potencial redox, espectros de absorción o

fluorescencia, entre otras.⁷ Hay dos procesos básicos que ocurren en la detección del analito: el reconocimiento molecular y la transducción de la señal. Para llevar a cabo de manera eficiente estos dos procesos, los quimiosensores normalmente están constituidos de tres componentes: un *receptor* (para enlazar a un analito específico), una *unidad indicadora* (encargada de dar la respuesta) y un *espaciador* (que cambia la geometría del sistema y modula la interacción electrónica entre las dos unidades).^{7, 8} Por sus propiedades, los quimiosensores ofrecen interesantes y atractivas posibilidades de aplicación en el campo de la analítica; de hecho, nos permiten llevar a cabo mediciones en tiempo y espacio real cuando se utilizan inmovilizados en superficies o incluso libres en solución.⁹

1.2 Breve historia de los quimiosensores fluorescentes.

El concepto de quimiosensor fluorescente fue introducido por primera vez por L. R. Sousa en 1977.¹⁰ Este autor describió el efecto que causa la coordinación de metales alcalinos en las propiedades fluorescentes de los éteres corona **13** y **14** de la Figura 1. En 1986, A. P. Silva¹¹, aplicó el concepto de “switch on” (término que en el área de quimiosensores fluorescentes generalmente se refiere al incremento de la intensidad de emisión) para caracterizar el gran efecto causado por la adición de iones Na⁺ y K⁺ a una solución en etanol del compuesto **15** de la Figura 1. Este compuesto en su forma libre no presenta fluorescencia debido a un mecanismo de transferencia electrónica fotoinducida (PET, *Photoinduced Electronic Transfer*) desde el átomo de nitrógeno hacia el antraceno. La coordinación a los metales alcalinos cancela el mecanismo PET e incrementa la fluorescencia.

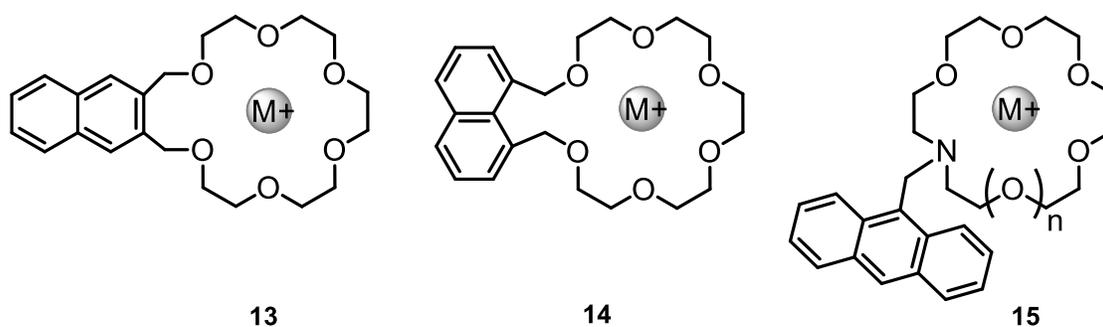


Figura 1. Estructura de los primeros quimiosensores fluorescentes reportados para cationes metálicos. Ref.^{10, 11}

1.3 Quimiosensores Fluorescentes.

El diseño clásico de un quimiosensor fluorescente consta de dos entidades moleculares interconectadas: 1) un receptor responsable del reconocimiento del analito y 2) un fluoróforo capaz de señalar el evento de reconocimiento (Figura 2). En este arreglo, las unidades receptora e indicadora son electrónicamente independientes. Sin embargo, debido a la proximidad de las unidades, la interacción del analito con el receptor induce un cambio en los alrededores del fluoróforo y por lo tanto cambios en su fluorescencia. A este tipo de quimiosensores se les denomina *sondas fluorescentes extrínsecas o conjugadas*.

Además de la anterior, existen dos estrategias básicas adicionales para el diseño de quimiosensores fluorescentes para el sensado químico en solución: 1) *sondas fluorescentes intrínsecas*, las cuales son moléculas fluorescentes donde el mecanismo para la transducción de la señal involucra la interacción del analito con un ligante que es parte del sistema π del fluoróforo y 2) *quimiosensores ensamblados*, este tipo de sondas se basa en un ensayo

competitivo en el cual el ensamblaje receptor-fluoróforo se disocia selectivamente por la adición de un analito competitivo capaz de interactuar eficientemente con el receptor dando como resultado una respuesta del fluoróforo. ¹²

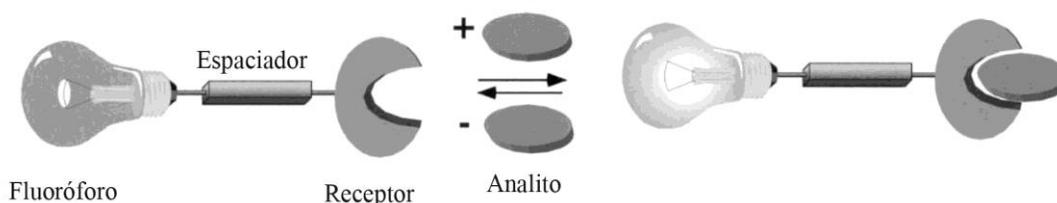


Figura 2. Representación esquemática de un quimiosensor fluorescente. Ref. ⁷

1.4 Quimiosensores fluorescentes para cationes metálicos.

La detección de cationes metálicos es de gran importancia dentro de diferentes áreas como son la química, biología, bioquímica clínica y medioambiental. Los iones sodio, potasio, magnesio y calcio están involucrados en importantes procesos biológicos como son la transmisión de impulsos nerviosos, contracción muscular, regulación de la actividad celular, etc. El zinc, por otro lado, es un componente esencial de muchas enzimas (por ejemplo, anhidrasa carbónica) y juega un papel importante en la regulación enzimática, expresión de genes, neurotransmisión, etc.

Con respecto a la toxicidad de muchos iones metálicos, es bien conocido que el mercurio, plomo y cadmio son tóxicos para el organismo y su detección oportuna en el medio ambiente es de suma importancia. ⁶

El descubrimiento de los éteres corona y criptandos a finales de los años 60's abrió nuevas posibilidades para el reconocimiento de cationes con mejoras en la selectividad, especialmente para metales alcalinos para los cuales actualmente hay muchos agentes quelantes selectivos. Es por ello, que la idea de acoplar estos ionóforos a cromóforos o fluoróforos, condujo a los conocidos cromoionóforos y fluoroionóforos respectivamente.

Al diseñar un fluoroionóforo, se debe poner especial cuidado en las características de la unidad ionófora y a los cambios esperados en la fluorescencia del fluoróforo tras la coordinación. Es importante mencionar que la estabilidad de un complejo depende de muchos factores: la naturaleza del catión, la naturaleza del disolvente, temperatura, fuerza iónica y pH en algunos casos.

Fabbrizzi *et al.*¹³ mostró que la dioxotetramina **16** (Figura 3), que contiene una unidad antraceno, es un buen sensor para iones Ni^{2+} y Cu^{2+} . El compuesto **17** reportado por Ma *et al.*,¹⁴ mostró alta sensibilidad y una respuesta dual hacia iones Pb^{2+} en una mezcla de disolventes agua/DMSO. Dong y col.¹⁵ reportaron la sonda fluorescente **18** basada en una naftalimida y un alquino que actúa con respuesta radiométrica para iones Hg^{2+} y Au^{3+} en solución acuosa.

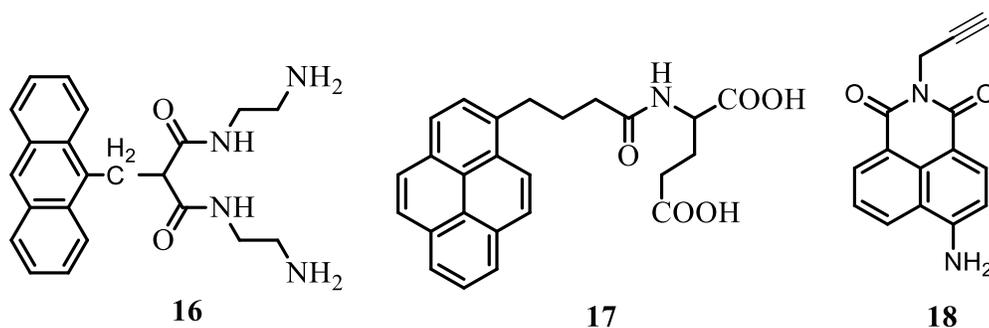


Figura 3. Estructura de algunos quimiosensores fluorescentes para iones metálicos. Ref. ¹³⁻¹⁵

1.5 Quimiosensores fluorescentes para protón.

La determinación precisa de la concentración de iones H^+ en diversos sistemas es de gran importancia en los laboratorios de industrias y clínicas debido a que muchos procesos químicos y bioquímicos dependen del pH. El pH juega un papel crítico dentro de las células ya que de este parámetro dependen funciones tan importantes como la actividad de las enzimas, proliferación, apoptosis, transporte iónico, endocitosis, etc. Valores anormales de pH están asociados con un mal funcionamiento celular, incluyendo crecimiento y división, y son observados en algunos tipos de enfermedades comunes como el cáncer y Alzheimer. Por otro lado, la actividad de los tejidos y la contracción muscular también dependen del pH. Comparada con otros métodos para medir el pH intracelular, como microelectrodos, UV-Vis, la espectroscopia de fluorescencia tiene ventajas con respecto a observación espacial y temporal de los cambios de pH. Además, las técnicas de fluorescencia en muchos casos no son destructivas para las células. Se pueden hacer mediciones cualitativas del pH intracelular usando indicadores fluorescentes que en un intervalo muy corto de pH muestren un efecto “apagado-encendido” o viceversa. Sin embargo, tales mediciones pueden ser influenciadas por factores como la longitud del camino óptico, cambios de temperatura, intensidades de excitación alteradas, etc. Una alternativa es el uso de detección radiométrica. Métodos espectroscópicos radiométricos requieren sensores fluorescentes que sean diferencialmente sensibles al analito en al menos dos longitudes de onda de excitación o emisión.¹⁶

La técnica más común para medir el pH es el uso de electrodo de membrana de vidrio. Sin embargo, este tipo de electrodos presentan muchas desventajas, como es el hecho de que

son caros, muy frágiles y normalmente no son adecuados para medir valores de pH muy bajos o muy altos.

Por otro lado, los tradicionales colorantes para la tinción de tejidos orgánicos se han quedado cortos. El avance en el estudio del metabolismo celular requiere herramientas superiores. Es necesario ver cosas más pequeñas y a concentraciones más bajas, y una de esas cosas es el grado de acidez o pH intracelular. Cualquier organismo trabaja a niveles de pH cercanos al del agua, pero existen procesos biológicos que están asociados a la presencia de zonas anormalmente ácidas. Hasta ahora esos procesos no se habían podido estudiar plenamente por la falta de instrumentos óptimos para medir la acidez, algo que comienza a cambiar.¹⁶

En este sentido, los quimiosensores de pH presentan interesantes propiedades, muy superiores a los dispositivos convencionales, tales como alta precisión, reversibilidad, estabilidad con el tiempo, biocompatibilidad y la posibilidad de ser aplicados para análisis in vivo. En particular, sistemas moleculares que se comportan como indicadores fluorescentes del pH han atraído mucha atención, debido a que la medición de la concentración de H^+ es simple y fácilmente determinable.^{17, 18}

En la Figura 4 se muestran las estructuras de quimiosensores fluorescentes de pH reportados recientemente en la literatura. El compuesto **19** basado en una escuarina, reportado por Isgor *et al.*,¹⁸ mostró un incremento de 14 veces la intensidad de emisión en el rango de pH de 10 a 7. El compuesto **20** reportado por Wen *et al.* tiene la capacidad de funcionar a valores de pH bajos y altos a diferentes longitudes de onda. En medio ácido la fluorescencia de este sensor se incrementa dramáticamente a longitudes de onda corta ($\lambda_{em} = 380$ nm, $\Phi_f = 0.08$), mientras que en medio básico aumenta a longitudes de onda larga ($\lambda_{em} = 500$ nm,

$\Phi_f = 0.02$).¹⁹ Sin embargo, estos compuestos, al igual que muchos de los sensores fluorescentes de pH propuestos hasta hoy muestran una respuesta simple encendido/apagado (*on-off*) o viceversa (*off-on*) en los perfiles de intensidades de fluorescencia contra el pH. Para la creación de dispositivos más sofisticados, es necesario diseñar indicadores de pH capaces de detectar cambios muy pequeños de pH. Por lo tanto, el reciente interés se enfoca en sistemas más integrados capaces de mostrar perfiles múltiples de fluorescencia en función del pH (*on-off-on*, *off-on-off*, etc). Un ejemplo de este comportamiento es el compuesto **21** reportado por de Silva *et al.*²⁰

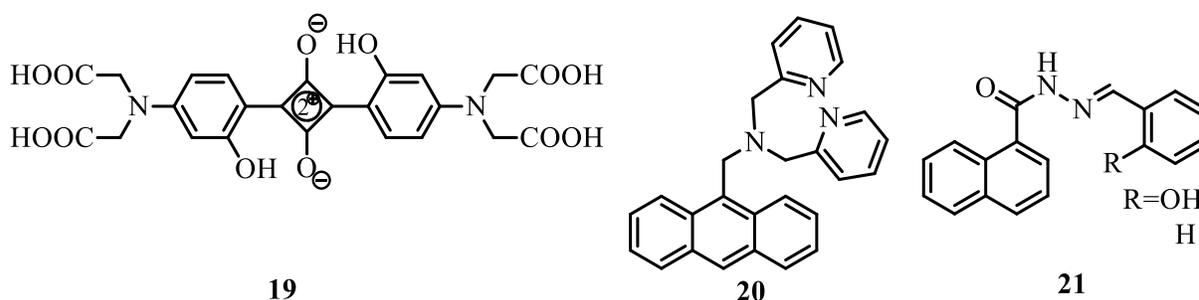


Figura 4. Estructura de algunos quimiosensores de pH. Ref. ¹⁸⁻²⁰

1.6 Quimiosensores Bis-cromofóricos.

La mayoría de los quimiosensores fluorescentes reportados en la literatura presentan la estructura clásica descrita en la sección 1.3 de este trabajo. Sin embargo, una estrategia novedosa en el diseño de sensores fluorescentes es la unión de dos fluoróforos idénticos a través de una cadena de interconexión con propiedades quelantes. En este tipo de compuestos, denominados ligantes bis-cromofóricos, la complejación puede inducir cambios conformacionales que favorezcan el acercamiento de los grupos fluoróforos y la formación de

excímeros (Figura 5). Estas especies originan bandas de emisión a longitudes de onda mayor que la emisión normal de monómero y suelen ser más anchas, por lo que son fácilmente distinguibles en el espectro. En un compuesto bis-cromofórico adecuadamente diseñado la unión con el analito provoca que la emisión de monómero disminuya de intensidad en la medida que la emisión de excímero aumenta, o viceversa. Esta respuesta se conoce como radiométrica y puede ser expresada en términos de la concentración del analito enlazado en función de la relación de intensidades (por ejemplo variación en la razón I_E/I_M). Debido a que en este caso existe una calibración interna a nivel molecular, esta respuesta no depende de factores instrumentales, ni del tamaño del sensor.

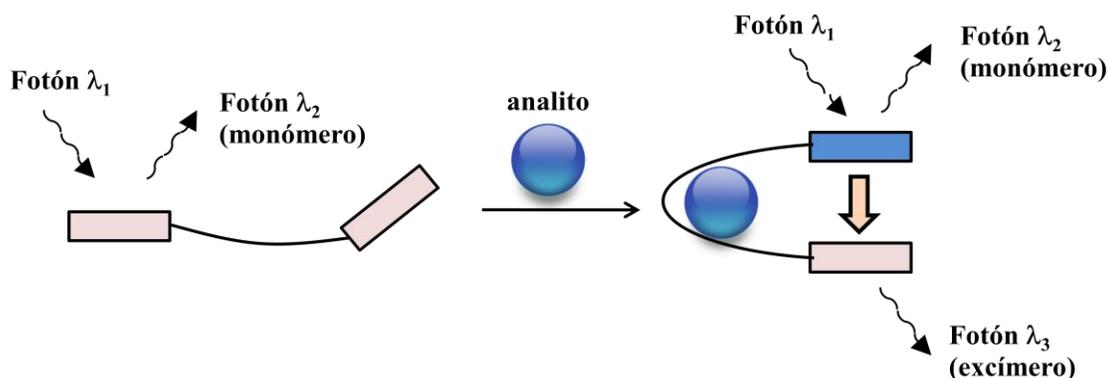


Figura 5. Representación esquemática de un quimiosensor bis-cromofórico.

A la fecha se han reportado una variedad de compuestos bis-cromofóricos con cadenas de interconexión de diferente naturaleza (poliéteres, poliaminas, etc.) y varios tipos de unidades indicadoras. Sin embargo, la mayoría de ellos solo operan en medios orgánicos²¹ o mezcla acuoso-orgánico²²⁻²⁴ lo que limita sus posibles aplicaciones a nivel biológico. En la

Figura 6, se muestran las estructuras de dos compuestos biscromofóricos reportados recientemente que operan en medio orgánico. El compuesto **22** reportado por Hung et al.²⁵ muestra una respuesta radiométrica hacia los iones Cd^{2+} y Zn^{2+} , mientras que con los iones Pb^{2+} y Ni^{2+} , la intensidad de monómero y la de excímero disminuyen. Los autores explicaron estas diferencias con base en cambios conformacionales inducidos por diferentes maneras de coordinación de estos metales. Kakizawa y colaboradores²⁶ reportaron la síntesis y complejación del bis-antril poliéter **23** con metales alcalinos y alcalinotérreos, resultando selectivo para el ion Ca^{2+} . En el espectro de emisión, la adición de este ion provoca la desaparición de la banda de monómero de antraceno y la aparición de la banda de excímero de antraceno. Este es otro ejemplo de un quimiosensor con respuesta radiométrica.

Por otro lado, importantes grupos de investigación alrededor del mundo, entre los que se encuentran los de Y. Shiraishi, S. A Van Arman y E. García-España han reportado una serie de compuestos bis-cromofóricos basados en poliaminas funcionalizadas con grupos naftaleno²⁷,²⁸, antraceno^{29,30}, quinolina³¹ y pireno.^{32,33} Estos compuestos son solubles en agua y presentan buenos perfiles de intensidad con respecto al pH y a la concentración de cationes metálicos (Figura 7).

Las poliaminas **24** con grupos naftil en los extremos, tienen la capacidad de formar excímeros y pueden funcionar como sensores de pH.²⁷ El compuesto **25** en su forma libre o no coordinada no muestra fluorescencia en el rango de pH de 2 a 12. Sin embargo, la adición de Zn^{2+} produce una fuerte fluorescencia en el rango de pH de 5-12.³¹

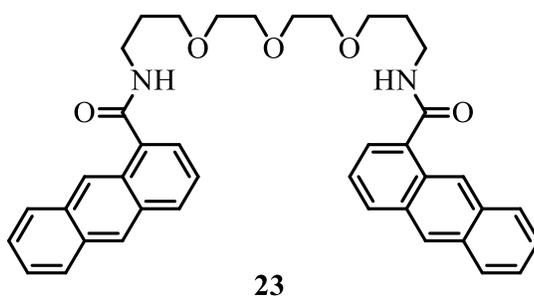
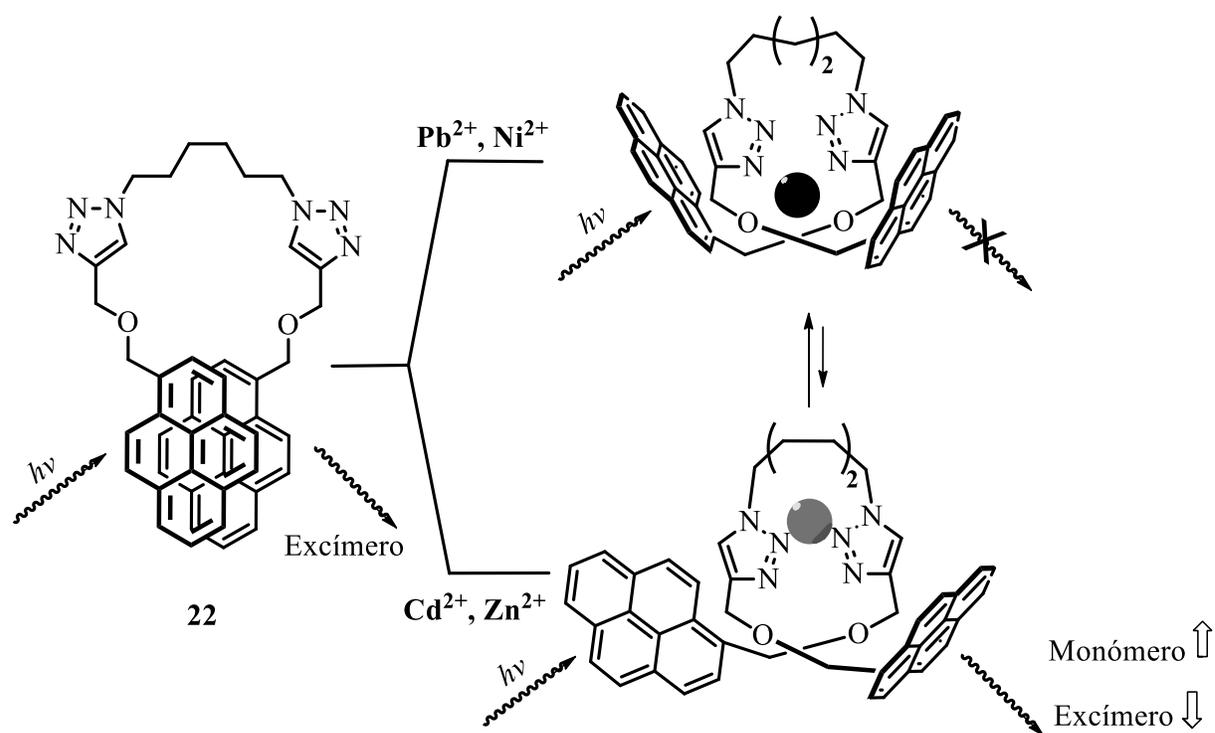


Figura 6. Estructuras de dos quimiosensores que operan en acetonitrilo. Ref. ^{25,26}

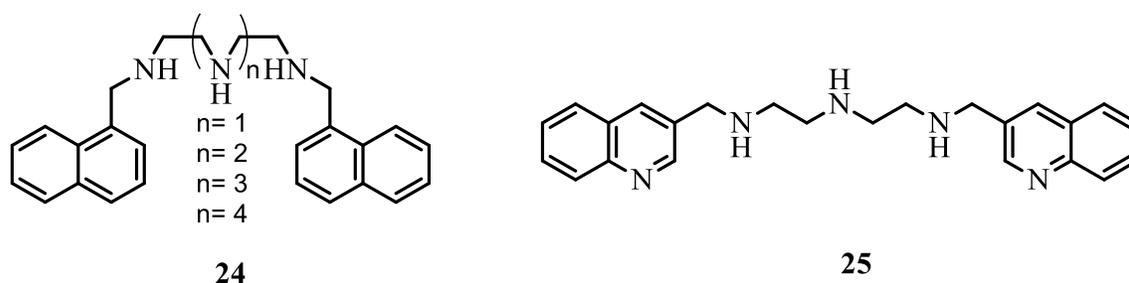


Figura 7. Estructura de poliaminas bis-funcionalizadas con grupos aromáticos naftaleno (24) y quinolina (25). Ref. ^{27, 31}

En las siguientes dos secciones se revisan las principales propiedades de algunos compuestos bis-cromofóricos solubles en agua basados en antraceno y pireno reportados en la literatura, así como las de compuestos análogos reportados recientemente por nuestro grupo. ^{2,3, 34}

1.6.1 Bis-cromofóricos solubles en agua basados en antraceno.

Aún cuando existen reportes de sensores bis-cromofóricos derivados de antraceno, pocos de esos compuestos muestran emisión de excímero en solución. El primer quimiosensor soluble en agua basado en emisión de excímero de antraceno fue reportado por Van Arman y col (26, Figura 8).²⁹ Este quimiosensor presenta un espectro de emisión que muestra las bandas típicas de antraceno monomérico entre 380 y 430 nm y una banda ancha entre 430 y 560 nm característica de excímero de antraceno. La adición de 1 eq de ion Zn^{2+} provoca un cambio conformacional que resulta en un incremento de casi 4 veces la intensidad de la banda correspondiente a la emisión de excímero de antraceno.

Otra poliamina funcionalizada con unidades antraceno es la tetraetiltriamina **27** (Figura 9) reportada por Shiraishi *et. al.*³⁰, la cual funcionó como un “switch” molecular para iones H^+ y metales de transición. A $pH < 9$, este compuesto muestra solamente emisión de monómero, la cual desaparece al incrementar el pH . A $pH > 9$, donde solo existe la especie totalmente desprotonada, aparece una nueva banda ubicada en los 520 nm correspondiente al excímero de antraceno (Figura 9A). Los autores correlacionaron los cambios en la fluorescencia de la molécula con las diferentes especies protonadas (Figura 9B).

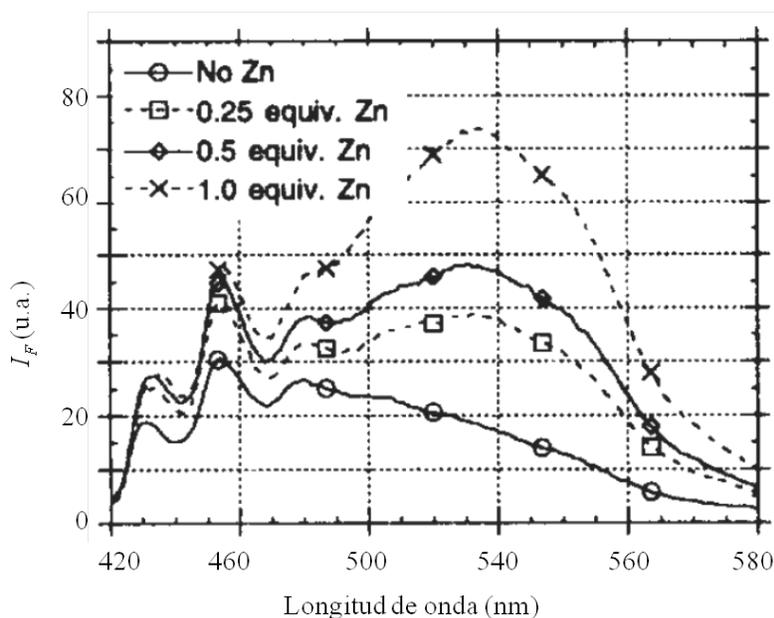
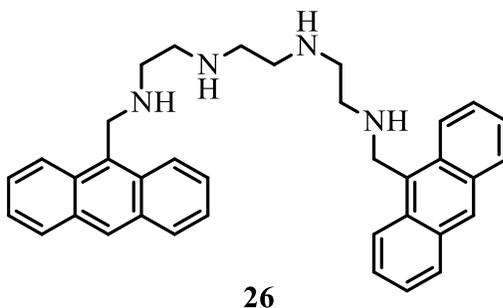


Figura 8. Comportamiento de la fluorescencia del compuesto **26** en presencia de diferentes cantidades de zinc. Ref.²⁹

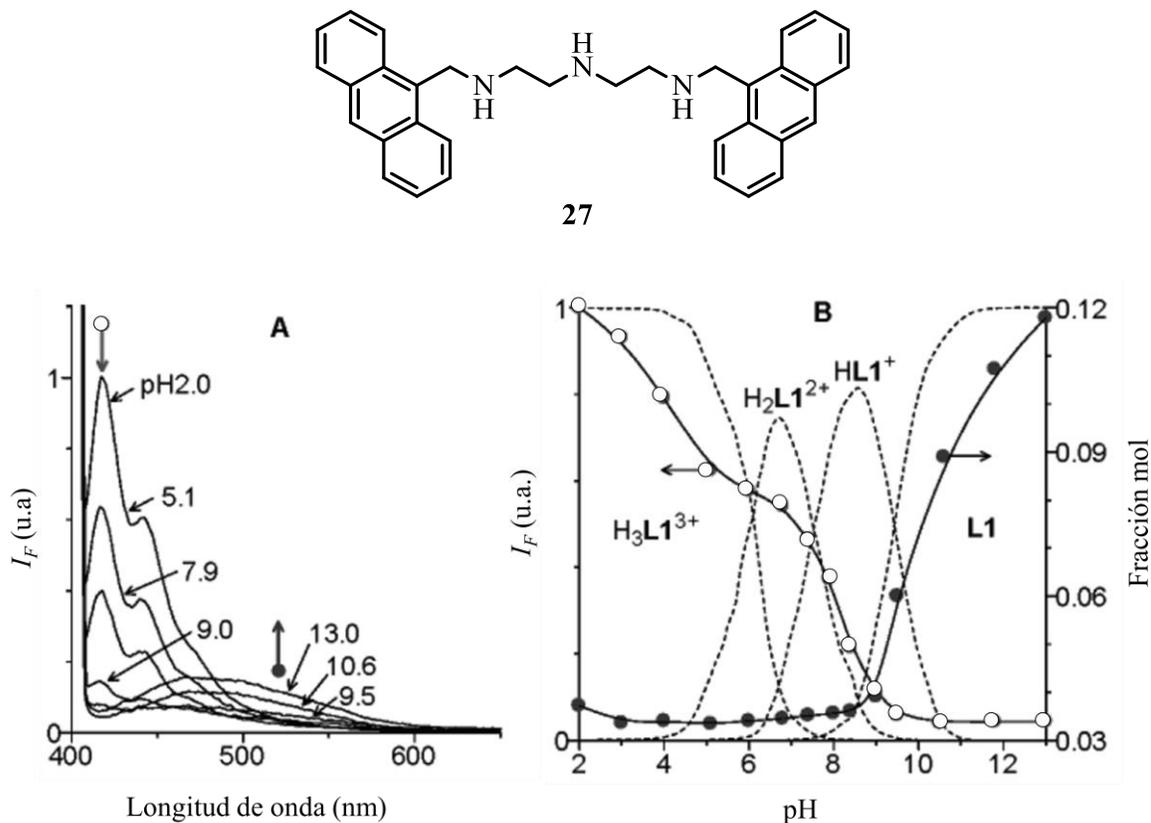


Figura 9. A): Espectros de emisión del compuesto **27** a diferentes valores de pH ($\lambda_{exc}=402$ nm). B): Fracción mol de especies de **27** obtenidos por potenciometría (líneas punteadas) y emisión a 416 nm (\circ) y 520 nm (\bullet) en función del pH. La línea sólida corresponde al ajuste teórico. Ref. ³⁰

En el grupo de investigación en Química Supramolecular del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora (DIPM-UNISON), recientemente se sintetizó el ligante (edta2an) H_2 (**10**, Esquema I).³ Este compuesto es soluble en agua debido a los grupos funcionales amina y carboxilato que posee en su estructura. El compuesto **10** solo muestra emisión de monómero en todo el rango de pH estudiado

($2 < \text{pH} < 12$) como se muestra en la Figura 10.³ Por medio de modelado molecular se determinó que la orientación de los grupos antraceno no es la adecuada para la formación de excímero.

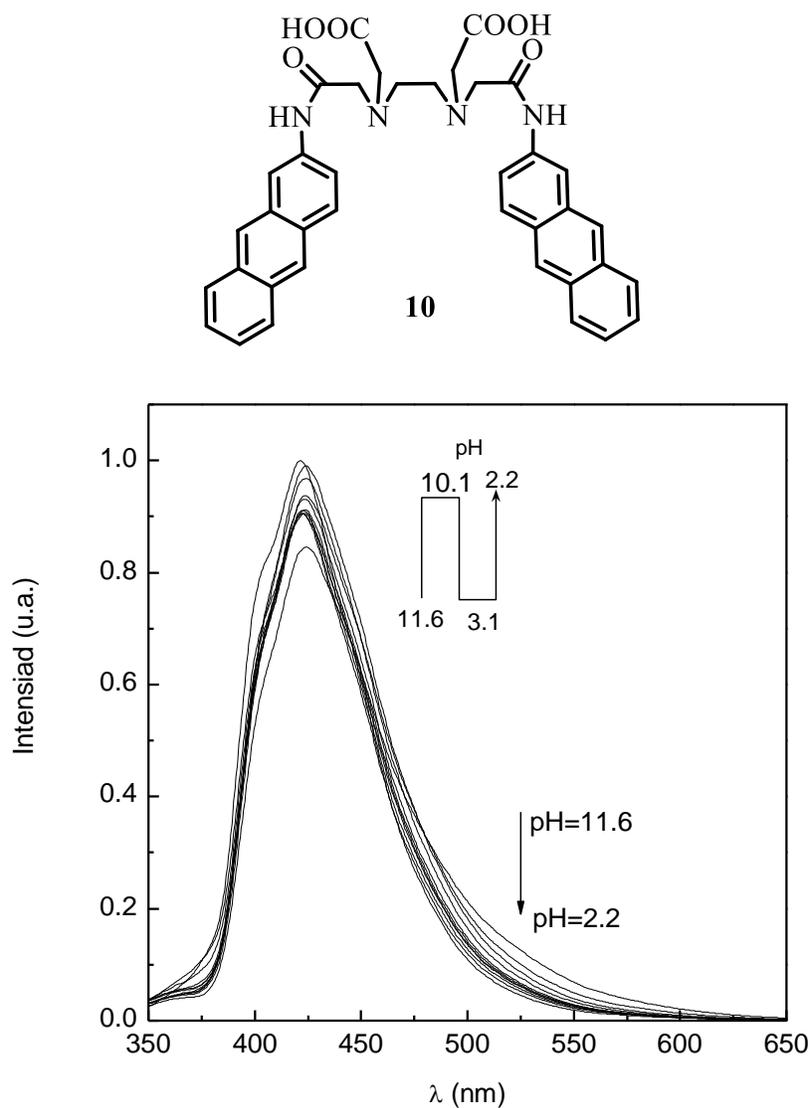
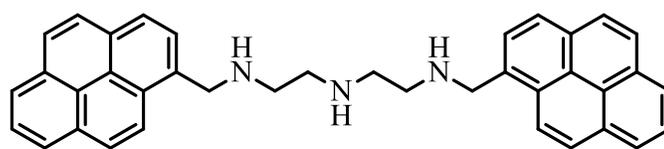


Figura 10. Espectros de emisión de **10** en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las intensidades fueron normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. $\lambda_{\text{exc}} = 270 \text{ nm}$; concentración = $1 \times 10^{-6} \text{ M}$.

1.6.2 Sensores Bis-cromofóricos solubles en agua basados en pireno.

Existen algunas características que hacen al pireno uno de los fluoróforos más utilizados en el diseño de quimiosensores fluorescentes. Alto rendimiento cuántico ($\Phi_{\text{EtOH}}=0.65$), tiempo de vida largo en el estado excitado ($\tau_s=410$ ns) y la capacidad de formar excímeros.⁶

Existen algunos reportes de sensores biscromofóricos tanto para cationes²⁴, aniones³⁵ y protón^{22, 33} que utilizan al pireno como fluoróforo. Entre ellos, el derivado de dietilentriamina **28** reportado por Shiraishi *et al.*³³ exhibe una emisión de excímero bien definida (Figura 11). La intensidad de esta banda es muy baja en medio ácido y se incrementa al aumentar el pH de manera simultánea. Esta respuesta al pH es muy plana y no muestra en ninguna región la forma sigmoideal deseable para que el compuesto pueda ser propuesto como un posible sensor de pH. En un trabajo posterior²⁸ los autores reportan que la adición de diferentes proporciones (5, 10 y 50%) de un disolvente menos polar (acetonitrilo) a la solución acuosa del compuesto resulta en la aparición de nuevos perfiles de intensidad “off-on-off” y “off-on-off-on”.



28

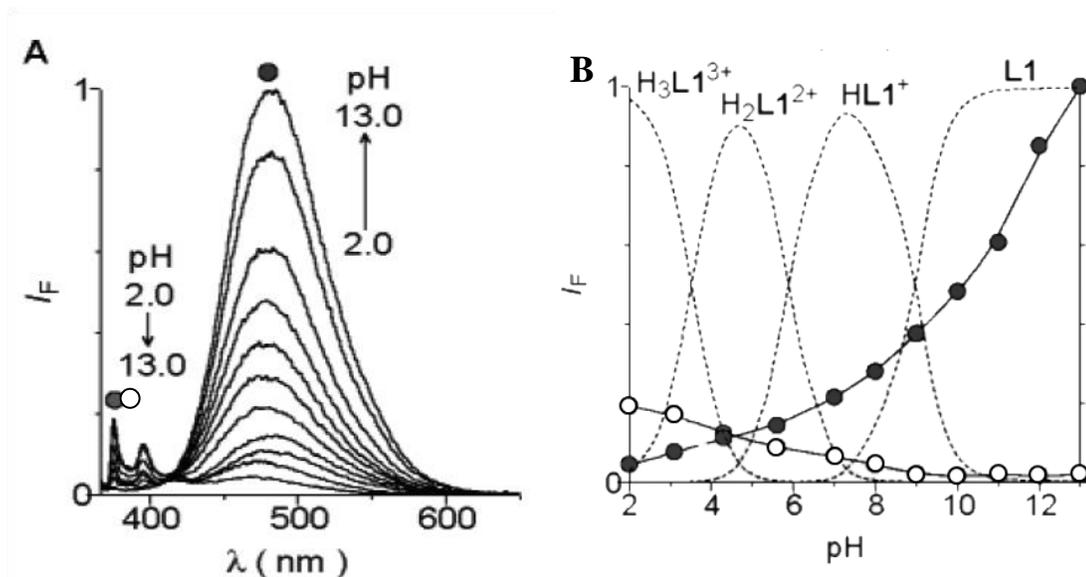


Figura 11. A: Espectros de emisión del compuesto 28 a diferentes valores de pH. B): Fracción mol de especies de 19 obtenidos por potenciometría (líneas puntadas) y emisión de monómero (○) a 375 nm y excímero (●) a 480 nm en función del pH. La línea sólida corresponde al ajuste teórico. Ref³³

En el (DIPM-UNISON) recientemente se reportaron dos sensores bis-pirenil derivados de los ácidos poliamino-policarboxílicos edta y dtpa respectivamente: (edta1py)H₂ y (dtpa1py)H₃ (**1** y **2**, Esquema I).² Estos compuestos, a diferencia de los reportados por otros grupos,^{32,33} son solubles en solución 100 % acuosa en un amplio rango de pH, debido a que en su estructura contienen grupos amino y brazos carboxilatos. Estos sitios funcionales además de los grupos amida, les confiere alta sensibilidad al pH en sus propiedades fluorescentes. El

compuesto **1** (Esquema I), muestra una fuerte emisión de excímero a 480 nm en medio básico ($\text{pH} \geq 9$), y bandas de monómero débiles y estructuradas entre 370 y 400 nm (Figura 12). A medida que disminuyó el pH, la emisión de excímero se debilitó fuertemente en un intervalo muy estrecho de pH, mientras que la intensidad de la banda de monómero se incrementó ligeramente. Se encontró que esta dependencia de pH está asociada con el equilibrio de protonación/desprotonación de los grupos amina.

El compuesto **2** también exhibió una fuerte emisión de excímero con un perfil de intensidad “off-on-off-on” con respecto al pH (Figura 13). La intensidad de la banda de excímero alcanzó un máximo a pH 8 y un mínimo a pH 10. Por el contrario, la banda correspondiente a la emisión de monómero, se incrementó gradualmente con el incremento del pH, en todo el rango de pH estudiado. Esta respuesta se atribuyó a los cambios conformacionales inducidos por los procesos de protonación-desprotonación en la cadena de interconexión dtpa.

La dependencia del pH tanto para la banda de excímero como de monómero, es diferente para la observada en el caso del compuesto **1**, lo que muestra un claro ejemplo de la importancia de la cadena de interconexión en los bis-cromóforos.² El tipo de respuesta encontrada para los compuestos **1** y **2**, es mejor que para los compuestos reportados por otros investigadores,^{32,33} por lo que los convierte como sensores potenciales de pH.

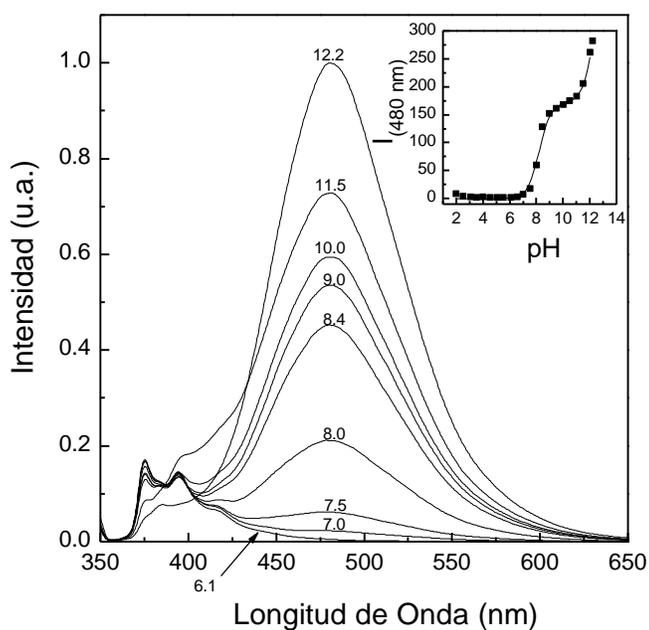
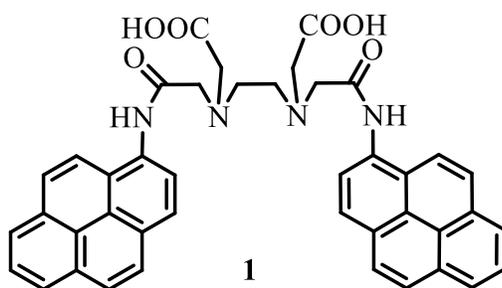


Figura 12. Espectros de emisión de **1** en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 342 nm, y la concentración es 2×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la gráfica de I_E (u.a.) a 490 nm en función del pH, el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3. (línea sólida). Ref.²

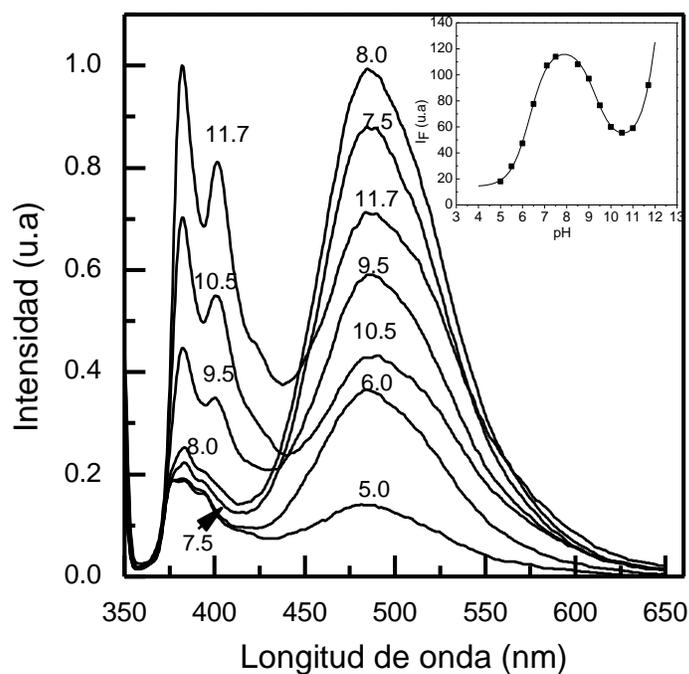
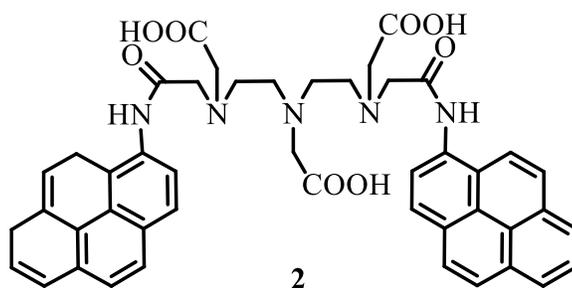


Figura 13. Espectros de emisión **2** en solución acuosa a diferentes valores de pH. Las intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 342 nm, y la concentración es 1×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la gráfica de I_E (u.a.) a 490 nm en función del pH, y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3. (línea sólida). Ref. ²

2. METODOLOGIA

2.1. Diseño Experimental.

Vivimos en un mundo rodeado de sensores químicos. Sin embargo, la necesidad de desarrollar mejores prototipos es cada vez mayor debido a los avances de la ciencia y tecnología, así como por las frecuentemente actualizadas leyes medioambientales. Así, el aprovechamiento tanto de los materiales moleculares como de los avances tecnológicos y su relación con la denominada *Electrónica Orgánica* está dando paso a la creación de sensores de nueva generación, potencialmente más versátiles que los desarrollados hasta la fecha. Aunado a lo anterior, la detección y control de analitos tanto catiónicos como aniónicos es una tarea esencial en muchas de las actividades humanas tales como la agricultura, ciencia de los alimentos, medio ambiente y medicina.

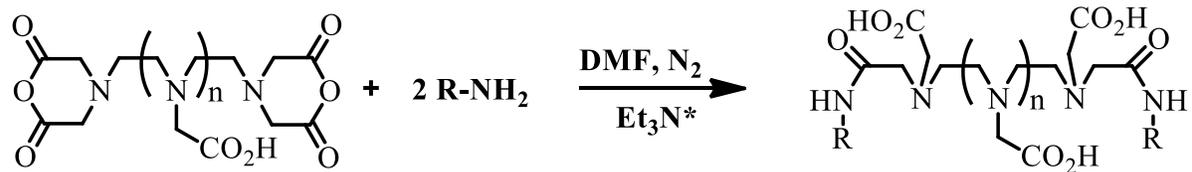
En el presente proyecto se planea sintetizar una serie de ligantes bicromofóricos de cadena abierta mediante la reacción de los anhídridos de ácidos poliamino policarboxílicos edta, dtpa y ttha y diferentes aminas aromáticas (**3-9** y **11-12**, **Esquema I**). La metodología empleada en las síntesis consistirá en la reacción del dianhídrido de ácido con un exceso de la amina aromática correspondiente en *N,N*-dimetilformamida (DMF) como medio de reacción.^{4, 36} Todos los reactivos que se utilizarán en las síntesis están disponibles comercialmente excepto el dianhídrido de ttha (ttha-da) y la forma básica del 1-aminometilpireno. La metodología de preparación del ttha-da se establecerá con base en la técnica reportada por B. Achour et al.³⁷

Con la preparación de estos ligantes con diferentes cadenas de interconexión se pretende obtener estructuras con diferentes grados de flexibilidad. Una vez que se obtengan los ligantes, se llevarán a cabo estudios para determinar los valores de las constantes de protonación (pKa) por las técnicas de fluorescencia, RMN de ^1H , Uv-vis y potenciometría y hacer una correlación entre ellas. Con base en las propiedades de cada compuesto se establecerá su potencial de aplicación como sensor de pH.

2.2 Síntesis de los Ligantes.

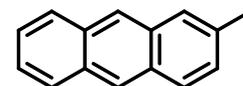
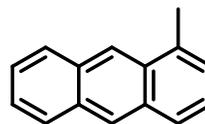
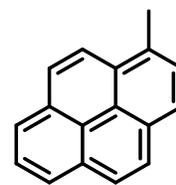
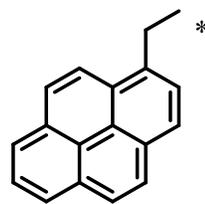
Todos los reactivos que se utilizaron en las síntesis están disponibles comercialmente excepto el dianhídrido de ttha (ttha-da) y la forma básica del 1-aminometilpireno. Ésta última se preparó *in situ* durante la síntesis de los derivados (edta1mpy) H_2 , (dtpa1mpy) H_3 y (ttha1mpy) H_4 a partir del clorhidrato correspondiente utilizando como base la trietilamina, mientras que el ttha-da se obtuvo mediante la técnica reportada por B. Achour et al.³⁷

La síntesis de los compuestos se llevó a cabo mediante la reacción del dianhídrido de ácido con un exceso de la amina aromática correspondiente en *N,N*-dimetilformamida (DMF) como medio de reacción, de acuerdo con la metodología reportada por L. Machi et al.^{4, 36} El procedimiento para cada uno de ellos se describe a continuación. El esquema general de reacción se muestra en el **Esquema II**.



n=0, edta-da
 n=1, dtpa-da
 n=2, ttha-da

R:



Esquema II

2.2.1. Síntesis de ligantes derivados de pireno.

2.2.1.1. Síntesis del dianhídrido trietilentetraaminohexaacético (ttha-da).

La metodología utilizada fue la reportada por Achour, B. et al.³⁷ que consiste básicamente en hacer reaccionar al ácido trietilentetraaminohexaacético (ttha) con anhídrido acético y piridina. En este experimento se pusieron a reaccionar 0.665 g (1.35 mmol) de ttha con 1 mL (10.6 mmoles) de anhídrido acético y 0.665 mL (8.2 mmoles) de piridina. La mezcla se mantuvo en agitación durante 48 h a 40 °C y posteriormente se filtró. El precipitado se lavó con anhídrido acético (50 mL) y dietil éter (50 mL) y se secó a vacío a 40°C (0.58 g, 95%). La formación del dianhídrido se confirmó por las bandas CO en el espectro de IR. IR (ν/cm^{-1}) 2698, 2922 (CH alquil), 1780, 1920 (CO anhídrido). El producto se usó sin purificación para la reacción con pirenilaminas.

2.2.1.2. Síntesis de (ttha1py)H₄. 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (3).

Para la síntesis de este compuesto se utilizaron (500 mg, 1.091 mmol) de ttha-da y 728.3 mg (2.72 mmol) de 1-aminopireno en 30 mL de DMF como medio de reacción en atmósfera de nitrógeno. El compuesto en forma pura se obtuvo después de 72 h de lavados con acetona en un extractor Soxhlet. Al final se obtuvo un sólido de color verde claro. (0.44 g, 45.3%). P.f. 220-222 °C. RMN de ¹H (400 MHz, D₂O, DSS, pH=9.7): δ = 3.066 (m, 6H, H_{a,e,f}), 3.384 (s, 4H, H_c), 3.537 (s, 4H, H_b), 3.592 (s, 4H, H_d), 7.340-7.803 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): m/z (%): 893.3 (100) [(M + H)⁺]; análisis elemental calc (%) para C₅₀H₄₈N₆O₁₀·1.5H₂O: C, 65.27; H, 5.58; N, 9.13; enc: C, 65.31, H, 5.42, N, 9.19.

2.2.1.3. Síntesis de (edta1mpy)H₂. 1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-pirenimetilacetamida)-1,4-diazabutano (4).

En un matraz de tres bocas se colocaron 643 mg (2.4 mmol) de clorhidrato de 1-aminometilpireno disueltos en 30 mL de DMF. A esta solución se agregaron 0.775 mL de trietilamina con el fin de pasar a la amina a su forma básica. Posteriormente se fue agregando lentamente por medio del embudo de adición de polvos un total de 245 mg (0.97 mmol) de edta-da. Este procedimiento se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno. Una vez terminada la adición, la mezcla de reacción se dejó en agitación por 12 h, al término de las cuales se observó la presencia de un sólido de color claro. El sólido se separó por filtración, se secó a vacío y enseguida se colocó en un extractor Soxhlet para remover la amina en exceso. El solvente utilizado en esta etapa de purificación fue etanol. Una vez terminado este proceso, el sólido se secó a vacío por 6 h y se obtuvo un producto de color amarillo pálido. El proceso de purificación, tanto de este ligante como de los que se describen más adelante, se monitoreó por cromatografía en capa fina utilizando una mezcla 1:2.5 metanol-acetona como eluyente. Este sistema de disolvente permitió en todos los casos separar la amina del producto, lo cual ayudó a establecer el grado de purificación. (0.310 g, 45%). p.f. 253-255°C. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, TMS): δ = 2.774 (s, 4H, H_a), 4.965 (d, 4H, H_g), 8.721 (t, 2H, H_h), 7.962–8.280 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): m/z (%): 719.3 (100) [(M + H)⁺]; análisis elemental calc (%) para C₄₄H₃₈N₄O₆·0.5H₂O: C, 72.61; H, 5.40; N, 7.70; encontrado: C, 72.73, H, 5.47, N, 7.74.

2.2.1.4. Síntesis de (dtpa1mpy)H₃. 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-pirenimetilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (5).

El procedimiento para la síntesis de este ligante fue similar al de (edta1mpy)H₂. En este caso se utilizaron 374 mg (1.4 mmol) de 1-aminometilpireno, 200 μ L (1.7 mmol) de trietilamina y 200 mg (0.56 mmol) de dtpa-da. Después de las 12 h de agitación, en el matraz de reacción se observó una solución de color oscuro. Esta solución se filtró con el fin de eliminar la materia no reaccionada, después se evaporó el DMF a presión reducida en un rotavapor y al final en el matraz quedó una pasta de color café oscuro. A ésta se le adicionó acetona y se dejó en reposo por 24 h. Pasado este tiempo se retiró la acetona y el sólido remanente se secó a vacío y posteriormente se colocó en un extractor Soxhlet para eliminar el exceso de amina. En este caso se utilizó acetona para la purificación. (0.30 g, 60%). p.f . 185-187°C. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆, TMS): δ = 2.782 (t, 4H, H_a), 2.824 (t, 4H, H_e), 5.002 (d, 4H, H_g), 8.750 (t, 2H, H_h), 7.994–8.357 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): *m/z* (%): 820.3 (100) [(*M* + H)⁺]; análisis elemental calc. (%) para C₄₈H₄₅N₅O₈·H₂O: C, 68.80, H, 5.65, N, 8.36; enc: C, 68.72, H, 5.45, N, 8.45.

2.2.1.5. Síntesis de (ttha1mpy)H₄. 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-1-pirenimetilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (6).

Este ligante se sintetizó esencialmente por el mismo método que para (dtpa1mpy)H₃. Del ttha dianhídrido (500 mg, 1.091 mmol), 1-aminometilpireno hidrocloreuro (728.3 mg, 2.72 mmol) y 400 μ L (2.87 mmol) de trietilamina en 30 mL de DMF como medio de reacción todo ello en atmósfera de N₂. El sólido no reaccionado se separó por filtración y la solución se

concentró en un rotavapor como un líquido viscoso. La adición de acetona (50 mL) dio como resultado un sólido verde el cual se separó por filtración y se lavó con repetidamente con acetona utilizando un extractor Soxhlet hasta su decoloración y posteriormente se secó a vacío. El espectro de RMN de ^1H del producto indicó la presencia de impurezas, las cuales fueron eliminadas mediante el siguiente procedimiento: El sólido se suspendió en 60 mL de agua deionizada y se utilizó una pequeña cantidad de Na_2CO_3 para solubilizarlo. El sólido no disuelto se eliminó por filtración. Esta solución se acidificó lentamente utilizando HCl 0.1 M hasta $\text{pH}=4$ en donde se formó un precipitado de color café claro el cual se colectó por centrifugación, se lavó repetidamente con agua y se secó a vacío. El espectro de RMN de ^1H de esta fracción indicó que el compuesto se había obtenido en forma pura. Con el propósito de obtener al compuesto en su forma ácida, el sólido se redisolvió utilizando Na_2CO_3 , se filtró y acidificó hasta $\text{pH}=2$ utilizando HCl 0.1 M, se dejó en agitación por 24 h y posteriormente se colectó por centrifugación, se lavó repetidas veces con agua y por último se secó a vacío para dar un polvo color café, (0.128 g, 13%). p.f . 145-147 °C. RMN de ^1H (400 MHz, D_2O , DSS, $\text{pH}=9.68$): $\delta = 1.588$ (t, 4H, H_a), 1.828 (t, 4H, H_e), 2.096 (s, 4H, H_f), 2.938 (s, 4H, H_d), 2.996 (s, 4H, H_b), 4.556 (s, 4H, H_c), 7.075–7.401 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): m/z (%): 919.3 (100) [$(M - \text{H})^-$]; análisis elemental calc. (%) para $\text{C}_{52}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_{10}\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$: C, 64.65, H, 5.95, N, 8.70; enc: C, 64.59, H, 5.93, N, 8.53.

2.2.2. Síntesis de ligantes derivados de antraceno.

2.2.2.1. Síntesis de (edta1an)H₂. 1,4-bis(metilencarboxi)-1,4-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4-diazabutano (7).

Para la síntesis de este compuesto se usaron 300 mg (1.55 mmol) de 1-aminoantraceno y 143 mg (0.56 mmol) de edta-da. Al final del proceso se obtuvo un sólido de color café oscuro, el cual se separó por filtración. Al filtrado se le evaporó el disolvente (DMF) hasta obtener una pasta de color verde oscuro. Este concentrado se lavó con acetona en repetidas ocasiones, posteriormente se secó a vacío por 4 h. El producto resultante se colocó en un extractor Soxhlet por 48 h. con el fin de eliminar el exceso de amina. Después de este tiempo, se secó a vacío por 4 horas. Al final se obtuvo un polvo de color café oscuro. A este producto se le tomó un espectro de RMN de ¹H, y aunque hay evidencia de la formación del producto, existen impurezas en la misma proporción que el ligante deseado. Después de varios intentos de purificación por diferentes métodos (Soxhlet, precipitación por pH, cromatografía, etc.) no se obtuvo el producto puro, por lo que no fue posible llevar a cabo los estudios espectroscópicos.

2.2.2.2. Síntesis de (dtpa1an)H₃. 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-1-antrilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (8).

Para la síntesis de este ligante se usaron de 250 mg (1.29 mmol) de 1-aminoantraceno y 231 mg (0.65 mmol) de dtpa-da. Al final del proceso se obtuvo un sólido de color café claro. Para este ligante se siguió la misma metodología de purificación que para (edta1an)H₂ y de la

misma manera no se pudo obtener el producto en su forma pura. Se colocaron 100 mg del crudo y se suspendieron en 80 mL de agua; se le fue adicionando NaOH 0.1 M lentamente hasta disolver casi el total del producto. La solución se filtró para eliminar cualquier material no disuelto. Con un monitoreo continuo del pH, la solución se empezó a acidificar con HCl 0.1 M hasta alcanzar un pH~5 donde se empezó a observar un ligero precipitado, el cual se dejó en agitación por 12 h, posteriormente se filtró, se secó a vacío por 6 h. De este producto se tomó un espectro de RMN de ^1H en D_2O . Para disolverlo se adicionó una pequeña cantidad de Na_2CO_3 . Aunque el espectro muestra evidencias de la formación del producto deseado en mayor proporción, hay impurezas que no fue posible eliminar por diferentes métodos de purificación.

2.2.2.3. Síntesis de (ttha1an) H_4 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (9).

Para la síntesis de este compuesto se siguió la misma metodología que para (dtpa1an) H_3 . En este caso se utilizaron (500 mg, 1.091 mmol) de ttha-da y 525 mg (2.72 mmol) de 1-aminoantraceno en 30 mL de DMF como medio de reacción. Terminada la adición se observó una solución turbia, la cual se filtró. La solución se dejó reposar y después de 24 h se observó la presencia de un precipitado. Éste se colectó por filtración y la parte líquida se concentró en un rotavapor. Las tres porciones se lavaron con acetona, se colocaron por separado en un extractor Soxhlet utilizando acetona como disolvente y por último se secaron a vacío. El ligante se encontró en las dos últimas fracciones, pero con evidencia de

contaminantes, por lo que se procedió a purificarlo por precipitación, como en el caso de (ttha1mpy)₄, pero después de varios intentos, no se logró obtener el producto puro deseado.

2.2.2.4. Síntesis de (dtpa2an)₃ 1,4,7-tris(metilencarboxi)-1,7-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7-triazaheptano (11).

Para la síntesis y purificación de este ligante se siguió la misma metodología que para (edta1mpy)₂. En la síntesis se usaron 271 mg (1.4 mmol) de 2-aminoantraceno y 200 mg (0.56 mmol) de dtpa-da. Al final del proceso se obtuvo un producto de color café claro. (0.352 g, 74.5%), p.f. 220-222 °C. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆, TMS): δ = 3.02 (t, 4H, H_a), 3.10 (t, 4H, H_e), 3.53 (s, 4H, H_b), 3.55 (s, 4H, H_c), 7-8 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): m/z (%):744.28 (100) [(M + H)⁺]; análisis elemental calc (%) para C₄₂H₄₁N₅O₈·4.5H₂O: C, 61.15; H, 6.10; N, 8.49, enc: C, 61.78; H, 5.48; N, 8.40.

2.2.2.5. Síntesis de (ttha2an)₄ 1,4,7, 10-tetra(metilencarboxi)-1,10-bis(N-2-antrilacetamida)-1,4,7,10-tetraazadecano (12).

Para la síntesis de este ligante se utilizó la misma metodología empleada para el ligante (ttha1py)₄ con unas pequeñas modificaciones que se describen a continuación. En este caso se utilizaron (500 mg, 1.091 mmol) de ttha-da y 526 mg (2.72 mmol) de 2-aminoantraceno en 30 mL de DMF como medio de reacción. Terminada la adición se observó una solución turbia, la cual se filtró. La solución se dejó reposar y después de 24 h se observó la presencia de un precipitado. Éste se colectó por filtración y la parte líquida se concentró en un rotavapor. Las

tres porciones se lavaron con acetona, se colocaron en un extractor Soxhleth utilizando acetona como disolvente y por último se secaron a vacío. El ligante se encontró en las dos primeras porciones sólidas. (0.725 g, 70.6 %). RMN de ^1H (400 MHz, D_2O , DSS): $\delta = 2.724$ (t, 4H, H_e), 2.769 (t, 4H, H_d), 2.847 (s, 4H, H_a), 3.232 (s, 8H, $\text{H}_{b,f}$), 3.282 (s, 4H, H_c), 6.949-7.870 (m, 18H, H_{Ar}); MS (ESI): m/z (%): 843.3 [$(M - \text{H})^-$]; análisis elemental calc (%) para $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_{10} \cdot 0.125\text{H}_2\text{O}$: C, 65.22; H, 5.83; N, 9.92, enc: C, 64.79; H, 5.91; N, 10.01.

2.3. Técnicas Utilizadas en la Caracterización de los ligantes.

Análisis Elemental. El análisis elemental es una técnica instrumental utilizada para la determinación de los porcentajes de carbono, hidrógeno y nitrógeno, en muestras en estado sólido y líquido. Se trata de una técnica destructiva, en la que tras pesar una cantidad de muestra conocida entre 2 y 4 miligramos, se somete a una oxidación térmica entre 1,600-1,800 °C, en ambiente de oxígeno, con lo que se consigue la conversión total y cuantitativa de los componentes en CO_2 (carbono), H_2O (hidrógeno) y N_2 (nitrógeno), estos productos gaseosos son arrastrados al módulo de separación donde se produce la adsorción selectiva de CO_2 (columna de cobre), H_2O (columna de plata), para ser separados unos de otros y ser medidos por el detector de conductividad térmica de uno en uno, el primero en ser medido es el Nitrógeno, que es el no retenido, y posteriormente se produce la desadsorción térmica del CO_2 y por último el H_2O . Esta técnica es imprescindible para la determinación de la pureza de una muestra y por tanto es necesario, que esta, este libre de disolventes e impurezas que variarían los porcentajes teóricos de carbono, hidrógeno y nitrógeno. Es además útil para confirmar la fórmula molecular de un compuesto.³⁸

El análisis elemental de los compuestos sintetizados en este trabajo se realizó en el laboratorio Columbia Analytical Services en Tucson, Arizona, EUA

Espectrometría de Masas. La espectrometría de masas es una poderosa técnica microanalítica usada para identificar compuestos desconocidos, para cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura y propiedades químicas de moléculas. La detección de compuestos puede ser llevada a cabo con cantidades realmente pequeñas (pm) de muestra y obtener información característica como el peso y algunas veces la estructura del analito.

En todos los casos, alguna forma de energía es transferida a las moléculas a analizar para afectar la ionización. En la técnica clásica de impacto electrónico (electron ionization EI), algunas de las moléculas ionizadas del analito “explotan” en una variedad de fragmentos ionizados, el patrón de fragmentación resultante así como los iones residuales constituyen el espectro de masas. En principio, el espectro de masas de cada compuesto es único y puede ser usado como su “huella química” para caracterizar el analito.³⁹

En este trabajo, los espectros de masas se obtuvieron en el Departamento de Química de la Universidad de Arizona.

Espectroscopia de Infrarrojo (IR). Esta técnica se fundamenta en la absorción de radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se de una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera debido a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja. Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión. Las vibraciones de tensión son

cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces. De esta forma, analizando cuales son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en la zona del infrarrojo, podemos obtener información acerca de las moléculas que componen dicha sustancia. La espectroscopia infrarroja tiene su aplicación más inmediata en el análisis cualitativo: detección de las moléculas presentes en el material.³⁹

En este trabajo se utilizó esta técnica para confirmar la formación de los productos por la aparición de la banda originada por la flexión del grupo amida. Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrómetro Perkin Elmer FT-IR SPECTRUM GX, utilizando KBr como blanco.

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse sólo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Esta situación se da en los átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P . En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín β .

Existen más núcleos en el estado de espín α que en el β pero aunque la diferencia de población no es enorme sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN. Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de

espín β . Esta radiación se encuentra en la región de las radiofrecuencias (**rf**) del espectro electromagnético. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía (ΔE) entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN.³⁹

Un espectro de resonancia magnética nuclear de protón nos da información acerca del número, la naturaleza y el ambiente que rodea a los hidrógenos de una molécula. A partir de esta información junto con otras técnicas analíticas se puede deducir frecuentemente la estructura y conformación de una molécula.

En este trabajo, el uso de esta técnica ayudó en la caracterización de los productos, así como para elucidar el sitio de protonación. Los espectros de RMN de ^1H se obtuvieron en un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear de 400 MHz marca Bruker modelo Avance 400. Los compuestos se disolvieron en D_2O o $\text{DMSO-}d_6$.

Espectroscopia de Absorción Electrónica (UV-Vis y Fluorescencia). La espectroscopia de Ultravioleta-Visible es la más antigua de las técnicas espectroscópicas y en algún tiempo fue ampliamente utilizada para la determinación de estructuras. Se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible) que puede absorber o transmitir una muestra en función de la concentración del analito presente. Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia: átomo, molécula o ión, X, pasando esta

al estado excitado, X^* , el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra.

Por otro lado, la fluorescencia es un proceso de emisión en el cual las moléculas son excitadas por la absorción de radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones. Una de las características más atractivas de los métodos de fluorescencia es su sensibilidad inherente, la cual es, con frecuencia, de uno a tres órdenes de magnitud mejor que las de la espectroscopia de absorción. No obstante, los métodos de fluorescencia se aplican mucho menos que los métodos de absorción debido al número relativamente limitado de sistemas químicos que pueden fluorescer. Por lo anterior es el método de elección para la detección de analitos a nivel molecular y supramolecular con una alta sensibilidad, y selectividad.^{39, 40}

Para llevar a cabo los estudios del efecto del pH en los espectros de emisión y de excitación de los compuestos de estudio, se empleó un espectrofotómetro de luminiscencia de la marca Perkin Elmer modelo LS50B. Los espectros de absorción fueron obtenidos en espectrofotómetros de Ultravioleta-Visible marca Perkin-Elmer modelo LAMDA 20 para los compuestos derivados de pireno y Agilent modelo 8453 para los derivados de antraceno.

Potenciometría. Se puede describir la potenciometría simplemente como la medición de un potencial en una celda electroquímica. Es el único método electroquímico en el que se mide directamente un potencial de equilibrio termodinámico y en el cual esencialmente no fluye corriente neta. El instrumental necesario para las medidas potenciométricas comprende un *electrodo de referencia*, un *electrodo indicador* y un *dispositivo de medida de potencial*.

Durante mucho tiempo, se ha usado en la identificación de puntos finales de valoraciones y en estudios fundamentales para determinar constantes de equilibrio termodinámicas como K_a , K_b y K_{ps} . En los métodos más recientes, las concentraciones iónicas se miden directamente a partir del potencial de electrodos de membrana selectivos de iones. Estos electrodos están relativamente libres de interferencias y constituyen una forma rápida, apropiada y no destructiva de determinación cuantitativa de numerosos aniones y cationes de importancia.⁴¹

En este caso, las determinaciones de las constantes de protonación por potenciometría se llevaron a cabo en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), en la ciudad de Cuernavaca, Morelos.

2.4. Mediciones Potenciométricas y Espectroscópicas

Potenciometría. Los compuestos analizados fueron (dtpa1py) H_3 , (dtpa1mpy) H_3 , (ttha1py) H_4 y (ttha1mpy) H_4 (dtpa2an) H_3 y (ttha2an) H_4 . Para ello se utilizó un titulador semiautomático marca SCHOTT TITRONIC BASIC el cual consiste de una bureta de 20 mL de capacidad y una celda de titulación cubierta por una chaqueta para mantener la temperatura constante. El pH se midió con un potenciómetro marca Thermo Orion, modelo 920A-plus equipado con un electrodo de combinación marca Orion 8102U. El electrodo se calibró como sensor de protones titulando HCl 0.1 M con NaOH 0.1 M libre de CO₂. El punto de equivalencia se determinó por el método de Gran, el cual dio un valor de $pK_w=14.00$. Se prepararon soluciones de los ligantes a una concentración de 0.5 mM; para disolverlos se utilizó una cantidad equimolar de NaOH 0.1 M. todas las titulaciones y calibraciones se llevaron a cabo

en atmósfera de nitrógeno a 25 ± 0.1 °C, fuerza iónica 0.1 M (NaCl). Para estandarizar las soluciones de NaOH y HCl se utilizaron biftalato de potasio y TRIS respectivamente como estándares primarios. El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el programa HYPERQUAD2006 v3.1.48. Los diagramas de distribución de especies se calcularon con el programa HYSS 2000. Para cada compuesto los logaritmos de las constantes de protonación ($\log K_p$) se determinaron de tres titulaciones independientes. Debido a la baja solubilidad de los compuestos a valores de pH ácidos, se pudieron determinar de dos a cuatro constantes de protonación para cada compuesto, a pesar que la fórmula molecular indique más protones ácidos.

RMN de 1H . Los estudios de desplazamiento químico de protón en función del pD de los ligantes se llevaron a cabo en D₂O a concentraciones de 0.25 y 0.5 mmol Kg⁻¹, dependiendo de la solubilidad del ligante, en el rango de pD de 13–8. Por debajo de este valor la solubilidad de los compuestos es muy baja para llevar a cabo los experimentos en RMN. Se prepararon dos soluciones stock adicionando una pequeña cantidad de Na₂CO₃ a una suspensión de los ligantes en D₂O conteniendo 0.01 % DSS (3–trimetilsilil–1–propanosulfonato de sodio) como referencia interna. Posteriormente se ajustó el pD con una solución diluida de HCl–*d* y NaOH–*d* respectivamente. A partir de las soluciones stock se prepararon mezclas en diferentes proporciones directamente en los tubo de RMN de tal forma que el peso de cada solución fue de 0.5 g. Los valores de pH de las soluciones se determinaron con un pH metro Marca Corning Modelo 440 equipado con un electrodo de combinación con referencia de Calomel superdelgado y largo marca Aldrich. Los valores de pH se convirtieron a pD por la ecuación,

$pD = pH_{\text{medido}} + 0.45$.⁴² El ajuste de los datos se llevó a cabo mediante un programa basado en Microsoft Excel[®] diseñado por M. Inoue.⁴³

Fluorescencia y Uv-Vis. Para realizar las mediciones de fluorescencia a diferente pH las muestras se disolvieron en NaCl 0.01M y el pH se ajustó con NaOH y HCl 0.01M para mantener la fuerza iónica constante. Con las soluciones ácida y alcalina se hicieron mezclas para cubrir todo el intervalo de pH.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo central de este trabajo es la síntesis de nuevos quimiosensores bis-cromofóricos de pireno y antraceno y el estudio del efecto del pH en sus espectros de absorción y emisión; así como la comparación de la basicidad de las aminas al modificar la parte terminal de las cadenas poliaminopolicarboxílicas por la incorporación de un grupo metileno entre los anillos de pireno y el grupo amida para su posible aplicación como sensores de pH.

Diferentes autores han mostrado que la funcionalización de poliaminas y ácidos poliaminopolicarboxílicos con distintos grupos alifáticos^{44, 45} o aromáticos⁴⁶ provocan cambios en sus propiedades ácido-base. Estos cambios generalmente son monitoreados mediante técnicas espectrométricas (fluorescencia, absorción o RMN de ¹H) o potenciométricas.

En trabajos previos llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, se han reportado compuestos derivados de los ácidos poliaminopolicarboxílicos edta y dtpa conteniendo unidades aromáticas naftaleno,^{4, 36} antraceno³ y pireno² terminales. Especialmente los derivados de pireno (edta1py)H₂ y (dtpa1py)H₃ (**1** y **2**, Esquema I) han mostrado interesantes propiedades fluorescentes a la variación del pH como se mencionó en la sección de antecedentes. Siguiendo con esta línea de investigación y con el objetivo de mejorar y explorar nuevas propiedades de esta clase de compuestos, en este trabajo se planteó la síntesis de nueve nuevos ligantes (**3-9** y **11-12**, **Esquema I**) nombrados como: (edta1mpy)H₂, (dtpa1mpy)H₃, (ttha1py)H₄, (ttha1mpy)H₄, (edta1an)H₂, (dtpa1an)H₃, (ttha1an)H₄, (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄. En este capítulo se muestran los resultados de la caracterización y del estudio de las propiedades fluorescentes y ácido-base de dichos

compuestos. A partir de aquí, para mayor claridad los compuestos se nombrarán utilizando la nomenclatura descriptiva.

3.1. Estudios Espectroscópicos de los Ligantes Derivados de Pireno.

3.1.1. Relación de pKa y fluorescencia de (edta1mpy)H₂.

Debido a la buena respuesta de I_F vs pH que mostró el ligante (edta1py)H₂ en la región de pH entre 7-9 aproximadamente y en la búsqueda de nuevos y más versátiles perfiles de respuesta vs la ventana de pH, así como el incremento en el rendimiento cuántico de este tipo de quimiosensores, se planeó alargar la cadena de interconexión, manteniendo el tipo de unidad quelante (edta), con la introducción de un puente metileno entre los grupos pireno y los grupos amida. Con esta modificación estructural se espera también incrementar el rendimiento cuántico fluorescente de la molécula, ya que se cancela la influencia directa del grupo amida sobre la unidad indicadora.⁴⁷

La reacción entre edta dianhídrido y 1-aminometilpireno dio un producto de adición 1:2 abreviado como (edta1mpy)H₂. El ligante se obtuvo con un rendimiento del 45% como un material policristalino color amarillo pálido con p.f. 253-255 °C. El compuesto en su forma ácida es insoluble en agua y soluble en disolventes polares apróticos como DMSO y DMF. En su forma ionizada (edta1mpy)²⁻ el ligante presentó solubilidad en agua de alrededor de 0.1 mM, lo que permitió llevar a cabo sin problemas los estudios espectroscópicos (UV-Vis y fluorescencia), aunque no fue posible realizar estudios por potenciometría ni RMN a diferente pD en solución acuosa.

El estudio realizado por fluorescencia muestra que en medio alcalino el ligante presenta una banda ancha e intensa a 490 nm la cual se atribuye a excímero de pireno y un grupo de bandas más estructuradas entre 370 y 420 nm las cuales son asignadas a la emisión de monómero de pireno. La disminución gradual de pH provoca una disminución de la intensidad de emisión tanto de monómero como de excímero tal como sucedió con el ligante (edta1py)H₂, pero el perfil de I_F vs pH es diferente (Figura 14). La emisión de excímero en medio alcalino se favorece probablemente debido a la libertad de la molécula para adoptar una conformación adecuada que permita el acercamiento de las unidades pireno y la formación del dímero.

La relación de intensidades excímero-monómero I_E/I_M a pH=11.5 es de 0.45 y decrece al disminuir el pH hasta un valor menor que 0.1 en dos etapas: la primera en la región de pH entre 12 y 10 y la segunda entre pH 10 y 6, aproximadamente. El primer cambio en la intensidad de emisión que se observa en la región de pH más alto ($10 < \text{pH} < 12$) es similar al observado previamente para (edta1py)H₂ y se atribuye a efectos electrónicos que ocurren en el grupo amida. Éstos serán abordados más adelante en esta discusión. La segunda disminución de intensidad se asume que está relacionada al equilibrio de protonación-desprotonación en los grupos amino de (edta1mpy)H₂, tal como se reportó previamente para el compuesto (edta1py)H₂. Como se mencionó en el párrafo anterior, el ligante (edta1mpy)H₂ no fue lo suficientemente soluble como para llevar a cabo estudios en solución acuosa por resonancia y potenciometría, por lo que se dificulta elucidar la secuencia de protonación. Sin embargo, los ligantes análogos derivados de edta y 1- y 2-aminometilnaftaleno (edta1mnap)H₂ y (edta2mnap)H₂ previamente reportados por nuestro grupo, son lo suficientemente solubles en

agua como para hacer las mediciones en RMN de ^1H .³⁶ El estudio de RMN de ^1H mostró que la primera protonación en especies L^{2-} ocurre en el nitrógeno amino de la cadena edta para formar la especie LH^- con un valor de $\log \text{pKa}$ de 6.78 para $(\text{edta1mnap})\text{H}_2$ y 7.74 para $(\text{edta2mnap})\text{H}_2$ y la segunda protonación ocurre en los oxígenos de los carboxilatos a valores de pD menores de 5 para formar las especies LH_2 . Tomando en cuenta que la unidad de interconexión en los ligantes derivados de naftaleno $(\text{edta1mnap})\text{H}_2$ y $(\text{edta2mnap})\text{H}_2$ es idéntica a la de $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ puede razonablemente asumirse que en este último la primera protonación ocurre en el átomo de nitrógeno de la amina para formar $(\text{edta1mpy})\text{H}^-$ y provoca el cambio en la intensidad de fluorescencia que se observa a $\text{pH} \approx 7.5$. De igual manera, se asume que la segunda protonación ocurre en el oxígeno del grupo carboxilato para formar la especie $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ a valores de $\text{pH} < 5$, pero en esa región no se observan cambios espectrales notables que permitan predecir por simple inspección el valor de pKa (Figura 14).

Para calcular las constantes de protonación por fluorescencia se utilizó un programa desarrollado por M. Inoue basado en Microsoft Excel[®] que utiliza ajustes por mínimos cuadrados no lineales.⁴⁸ Este programa funciona adecuadamente para técnicas espectrométricas como RMN de ^1H , Uv-vis y fluorescencia. En principio, dicho programa funciona con base en la Ecuación 1, donde solamente se consideran las especies principales, que en el caso de $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ son: LH_2 , LH^- y L^{2-}

$$I = \frac{I_0 + \sum I_n \beta_n 10^{-n\text{pH}}}{1 + \sum \beta_n 10^{-n\text{pH}}} \quad (1)$$

Donde I_n es la intensidad inherente en $\text{LH}_n^{(2-n)-}$, y β_n es la constante de protonación total, $\log \beta_n = \sum \log K_{pn}$.

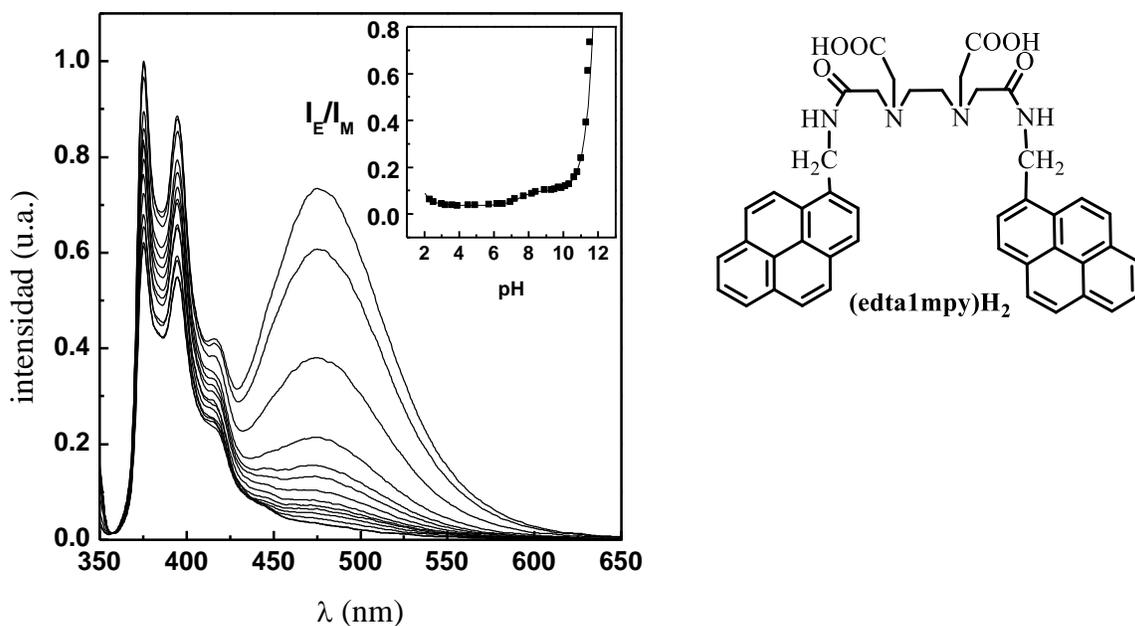


Figura 14. Espectros de emisión de $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{\text{exc}}=342$ nm, $[\text{L}]=1 \times 10^{-6}$ M. En el recuadro se observa la relación de intensidades excímero-monómero I_E/I_M en función del pH (cuadros) y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 3 (línea sólida).

Al realizar el ajuste de los datos de fluorescencia (I_F vs pH) del ligante $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ con esta ecuación no fue posible explicar los cambios ocurridos en la región muy alcalina ($\text{pH} > 11$) debido a que hay una caída rápida de I_F que no corresponde a ningún proceso de protonación. En esta región de pH solo debe existir la forma totalmente desprotonada dianiónica $(\text{edta1mpy})^{2-}$ ya que se descarta un posible proceso de protonación-desprotonación del grupo amida debido a que el pK_a de estos grupos es típicamente más alto (~ 14).⁴⁹ Con base en lo anterior, puede asumirse que el efecto observado a pH alto podría estar relacionado con cambios electrónicos en el grupo amida provocados por el medio fuertemente alcalino.

Para este compuesto se propuso que las especies totalmente desprotonadas (edta1mpy)²⁻ tienen dos estados, L_a²⁻ y L_b²⁻ cuyas intensidades de emisión son diferentes unas de otras. La interconversión de L_a²⁻ a L_b²⁻ explica la disminución de la intensidad de emisión en la región de pH alcalino. La fracción mol de L_b²⁻ esta dado por:

$$f_b = \frac{K_{ab} 10^{pH}}{1 + K_{ab} 10^{pH}} \quad (2)$$

Donde, K_{ab} = [L_b]/[L_a], es una constante relacionada a la interconversión entre los estados L_a²⁻ y L_b²⁻. Si incluimos estos estados en la Eq. (1), quedaría así:

$$I = \frac{(I_{0b} \cdot K_{ab} \cdot 10^{pH} + I_{0a} + \sum I_n \cdot \beta_n \cdot 10^{-npH})}{(K_{ab} \cdot 10^{pH} + 1 + \sum \beta_n \cdot 10^{-npH})} \quad (3)$$

I_{0b} y I_{0a} son las intensidades inherentes en L_b²⁻ y L_a²⁻, respectivamente. Con esta modificación se pudo ajustar satisfactoriamente la curva de I_F vs pH y se determinaron LogK_{ab} y LogK_{p1} (Tabla 1). En el rango de pH de 3–6 no se observa ningún cambio en la intensidad de fluorescencia donde se espera la aparición de la especie (edta1mpy)H₂, por lo tanto no se pudo determinar el valor de log K_{p2} por esta técnica. Por otro lado, el cambio en la intensidad a pH<3 da un valor de log K_p~0.1, el cual es muy bajo comparado con los valores esperados para la protonación de los grupos carboxilatos (log K_p ~3) de tal forma que la protonación de estos grupos no causan ningún efecto en la intensidad de emisión y el cambio observado en la región más ácida (pH<3) es causado por la tercera protonación para dar la especie LH₃⁺.

Las propiedades fluorescentes de (edta1mpy)H₂ y su dependencia con el pH son significativamente diferentes a las del ligante (edta1py)H₂ previamente reportado (Fig. 12).²

Tabla 1. Logaritmos de las constantes de protonación determinadas por fluorescencia (paréntesis) y la intensidad de fluorescencia relativa inherente en cada especie con referencia a la intensidad de las especies LH^a

L	L _b	L _a (logK _{ab})	LH (logK _{p1})	LH ₂ (logK _{p2})	LH ₃ (logK _{p3})	LH ₄ (logK _{p4})	LH ₅ (logK _{p5})
(edta1py)H ₂	590	244 (-12.3)	1 (8.19)	-- nd ^b	-- --	-- --	-- --
(edta1mpy)H ₂	~14000	2.05 (-14.6)	1 (7.43)	-- nd ^b	~120 (~0.1)	-- --	-- --
(dtpa1py)H ₃	3	0.4 (-12.5)	1 (9.28)	0.1 (6.32)	-- nd ^b	-- nd ^b	-- --
(dtpa1mpy)H ₃	nd ^c	8 --	1 (10.17)	2 (5.85)	1 (5.09)	0.01 (2.91)	-- --
(ttha1py)H ₄	4	0.02 (-11.0)	1 (10.29)	0.6 (6.86)	0.2 (5.38)	0.4 (5.06)	<0.001 (1.8)
(ttha1mpy)H ₄	30	3 (-12.5)	1 (10.02)	0.6 (6.66)	-- nd ^b	-- nd ^b	0.2 (2.7)

^a Las cargas son omitidas para mayor claridad.

^b No determinada debido a un cambio muy pequeño en fluorescencia en el rango de pH correspondiente.

^c No se detectó la conversión entre L_a and L_b

La adición de los grupos CH₂ entre los grupos amida y pireno en (edta1mpy)H₂ modificaron las propiedades ácido base de la cadena edta, en relación al compuesto análogo (edta1py)H₂. La primera protonación en la especie (edta1mpy)²⁻ ocurre a una unidad de pH menor que en la especie análoga (edta1py)²⁻. De los ajustes de las curvas de I_E vs pH con la Ecuación 3 se obtuvieron los siguientes valores de logK_{p1}=7.43 para (edta1mpy)H₂ y 8.19 para (edta1py)H₂ (Figura 12 y Tabla 1). Lo anterior sugiere una menor basicidad de los nitrógenos amina en el derivado reportado en este trabajo. Por otro lado, la relación de intensidades

excímero–monómero I_E/I_M para (edta1py) H_2 en medio básico alcanza valores muy altos de aproximadamente 5, y para (edta1mpy) H_2 el máximo valor observado de I_E/I_M es solo 0.5.

Para explicar de manera más completa las propiedades fluorescentes del ligante (edta1mpy) H_2 se tomaron los espectros de excitación a 480 nm (correspondiente al pico máximo de emisión de excímero) y 375 nm (pico de emisión máximo de monómero) a diferentes valores de pH (Figura 15). Este estudio permite elucidar aspectos relacionados con la dinámica de este tipo de moléculas en solución, tanto en estado basal como excitado. Cuando los grupos pireno están preasociados en el estado basal forman lo que se denominan excímeros estáticos. Este tipo de excímero generalmente presenta espectros de excitación y absorción poco estructurados debido a la cercanía de los grupos pireno y algunas veces acompañados por un pequeño desplazamiento hacia el rojo con respecto a los de pireno molecularmente diluido. Adicionalmente, los espectros de excitación monitoreados a la longitud de onda de emisión de excímero son ensanchados y presentan un desplazamiento al rojo comparados con los espectros monitoreados por la banda de monómero.⁵⁰ Como se puede ver en la Figura 15, el grupo de bandas relacionadas a la emisión de excímero están ensanchadas y exhiben un desplazamiento de casi 5 nm hacia el rojo comparado con los de emisión de monómero en la región de 250 a 350 nm. Sin embargo, tanto el desplazamiento hacia el rojo como el ensanchamiento son menos pronunciados que los observados para (edta1py) H_2 (Figura A1 en Anexos), lo cual indica que la conformación en el estado basal de (edta1mpy) H_2 es menos favorable para la formación de un excímero estático que para (edta1py) H_2 . Por otro lado, las bandas de absorción de edta1mpy en solución a diferentes

valores de pH son más estructuras (Figura 16) que para el caso de (edta1py)H₂ (Figura A2, Anexos), por lo que este resultado es congruente con lo obtenido por fluorescencia.

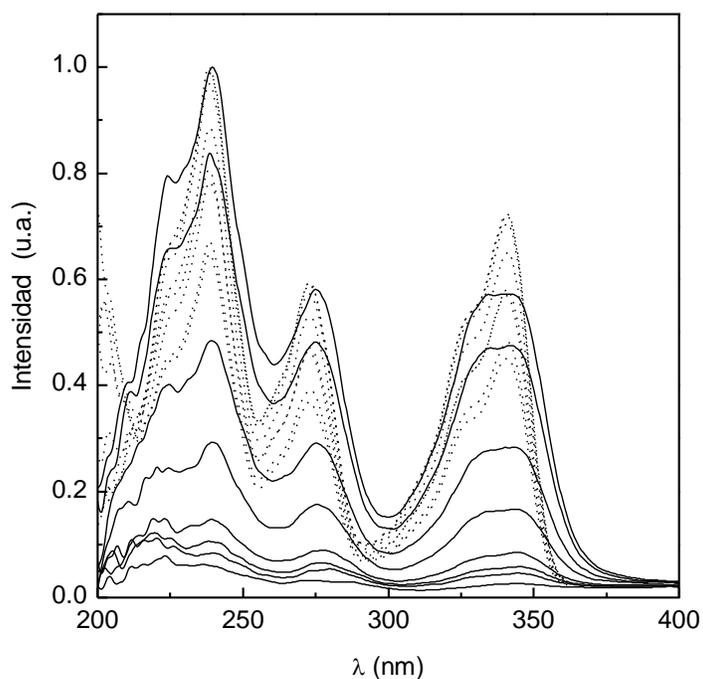


Figura 15. Espectros de excitación de (edta1mpy)H₂ observado para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas continuas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; los valores de pH son 11.5, 11.4, 11.3, 11.0, 10.3, 9.5, 8.19 y 6.2 de arriba hacia abajo para cada grupo de espectros. [L]= 1x10⁻⁶ M, en cada grupo de espectros, las intensidades están normalizadas al pico más alto del espectro más intenso.

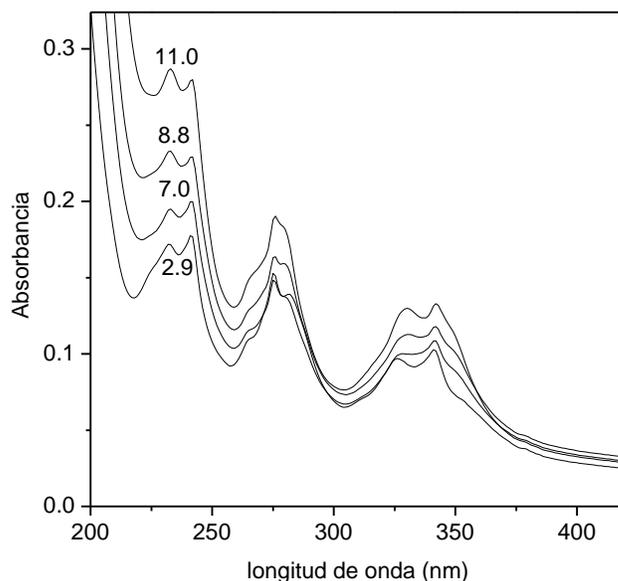


Figura 16. Espectros de absorción del ligante (edta1mpy)H₂ a diferentes valores de pH, [L]=5x10⁻⁶ M

Con el fin de complementar lo establecido por fluorescencia, con la colaboración del Dr. Mario Sánchez del Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) se realizó la optimización de la geometría para las especies totalmente desprotonadas de (edta1mpy)H₂ y (edta1py)H₂ las cuales se muestran en la

Figura 17. Las estructuras en este trabajo fueron optimizadas con restricción de geometría (C2), ambas con carga -2 y con multiplicidad 1 en el programa Gaussian 03. El método utilizado en todas las estructuras fue el B3LYP/6-31G(d). Las estructuras fueron caracterizadas al mismo nivel de teoría calculando sus respectivas frecuencias vibracionales. Todas las frecuencias en ambas estructuras son positivas demostrando que son mínimos verdaderos.

En la especie $(\text{edta1py})^{2-}$ los planos de los anillos se encuentran alineados de forma casi paralela con un ángulo de 5° y una distancia de 3.8 \AA entre los carbonos más cercanos del centro de los anillos. Esta orientación explica la formación del excímero estático en el estado basal, como se sugirió de los espectros de excitación. Por otro lado, para la especie $(\text{edta1mpy})^{2-}$ los anillos de pireno forman un ángulo de 17.5° y a una distancia de 10.6 \AA del centro del anillo. Aunque en medio acuoso los anillos altamente hidrofóbicos pueden acercarse, para este ligante la distancia es mayor que en $(\text{edta1py})\text{H}_2$ como para formar excímero estático. Para conocer mejor la reactividad de ambas estructuras, se graficaron los orbitales moleculares HOMO y LUMO, los cuales se muestran en la Figura A3. Estos estudios son concluyentes como se elucidó de los espectros de emisión y excitación.

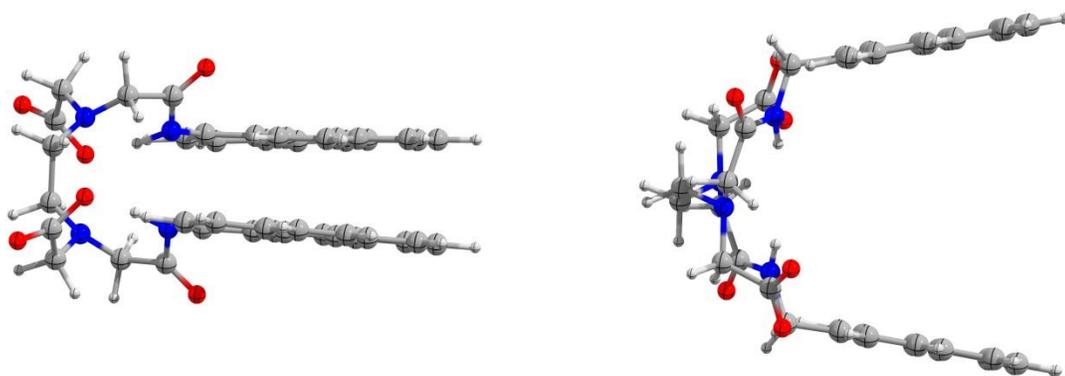


Figura 17. Estructuras optimizadas para las especies L^{2-} de $(\text{edta1py})\text{H}_2$ (izquierda) y $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ (derecha) por el método B3LYP/6-31G(d).

Los resultados anteriores nos motivaron a seguir explorando el efecto del alargamiento de la cadena de interconexión en las propiedades fluorescentes de esta clase de compuestos.

Como se discute en la sección 1.6.2, el ligante (dtpa1py)H₃ reportado previamente por nuestro grupo, mostró un novedoso perfil de I_F vs pH tipo “off-on-off-on-off”. La estrategia siguiente fue incrementar la longitud de la cadena de interconexión tipo dtpa mediante la introducción de un puente metileno entre los grupos pireno y los grupos amida para obtener el compuesto (dtpa1mpy)H₃. Como sucedió con los derivados de edta, se espera que con esta modificación se modifiquen las propiedades fluorescentes del compuesto en solución a diferente pH. En la siguiente sección se analizarán los resultados de la caracterización espectroscópica del ligante (dtpa1mpy)H₃ y se compararán con las del compuesto análogo (dtpa1py)H₃ reportado anteriormente.

3.1.2. Relación de pKa y fluorescencia de (dtpa1mpy)H₃.

El ligante (dtpa1mpy)H₃ se obtuvo como un polvo color amarillo claro con un rendimiento del 60% y punto de fusión de 185–187 °C. El compuesto es soluble en disolventes polares apróticos como DMF y DMSO y próticos como etanol y agua (tabla A1, Anexos). Como se esperaba, (dtpa1mpy)H₃ presentó mayor solubilidad en agua que (edta1mpy)H₂ (~ 0.5 mmol·Kg⁻¹) en soluciones alcalinas, probablemente debido al mayor número de unidades hidrofílicas que constituyen la cadena dtpa. Esta solubilidad permitió realizar los estudios por resonancia magnética nuclear de protón y potenciometría en solución acuosa. La titulación potenciométrica pudo realizarse hasta un pH~5, lo que permitió determinar la primera y segunda constantes de protonación: $\text{Log}K_{p1} = 9.95$, $\text{log}K_{p2} = 6.04$ (Tabla 2).

El espectro de fluorescencia del compuesto (dtpa1mpy)H₃ presenta la emisión de monómero y excímero de pireno que típicamente han presentado los derivados biscromofóricos sintetizados por nuestro grupo. Sin embargo la relación de intensidades excímero/monómero y su dependencia del pH son diferentes a las de los derivados presentados anteriormente en esta discusión.

Tabla 2. Logaritmos de las constantes de protonación de los compuestos derivados de pireno determinadas por potenciometría en solución de NaCl 0.1 M a 298 K.

L	Reacción ^a			
	H + L = HL	H + HL = H ₂ L	H + H ₂ L = H ₃ L	H + H ₃ L = H ₄ L
(dtpa1py)H ₃	9.21±0.01	5.35±0.04	4.62±0.03	nd ^a
(dtpa1mpy)H ₃	9.95±0.02	6.04±0.08	nd ^b	Nd ^b
(ttha1py)H ₄	9.75±0.02	6.75±0.02	5.29±0.02	4.68±0.02
(ttha1mpy)H ₄	10.24±0.03	6.82±0.05	4.99±0.07	4.12±0.1

^a Las cargas se omitieron para mayor claridad.

^b No se pudo determinar debido a la baja solubilidad en el rango de pH correspondiente.

A pH = 11, el espectro de emisión de (dtpa1mpy)H₃ mostró una banda ancha e intensa centrada en los 484 nm la cual es atribuida a excímeros de pireno. Además, entre 379 y 395 nm, se aprecia un grupo de bandas estructuradas las cuales corresponden a la emisión de monómero de pireno (

Figura 18). Al disminuir el pH del medio, la intensidad de emisión en todo el intervalo de longitudes de onda disminuye gradualmente. Este efecto es más pronunciado en la región de emisión de excímero.

En la parte inferior de la Figura 19 se grafica la relación I_E/I_M en función pH y se compara, por un lado, con la distribución de especies de $(dtpa1mpy)H_3$ obtenida a partir de las constantes de protonación determinadas por potenciometría (líneas sólidas en la Figura 19). Como se puede observar, la disminución en la intensidad de emisión en el intervalo $9 < \text{pH} < 12$ coincide con la desaparición de la especie L^{3-} y la aparición de la especie LH^{2-} . De igual manera, el incremento de intensidad en el intervalo $5 < \text{pH} < 7$ coincide con la aparición de la especie LH_2^- . Los cambios subsiguientes en la intensidad de emisión ($2 < \text{pH} < 5$) no pudieron ser explicados por la potenciometría en virtud de que ésta, como se indicó anteriormente, solo pudo realizarse hasta $\text{pH}=5$.

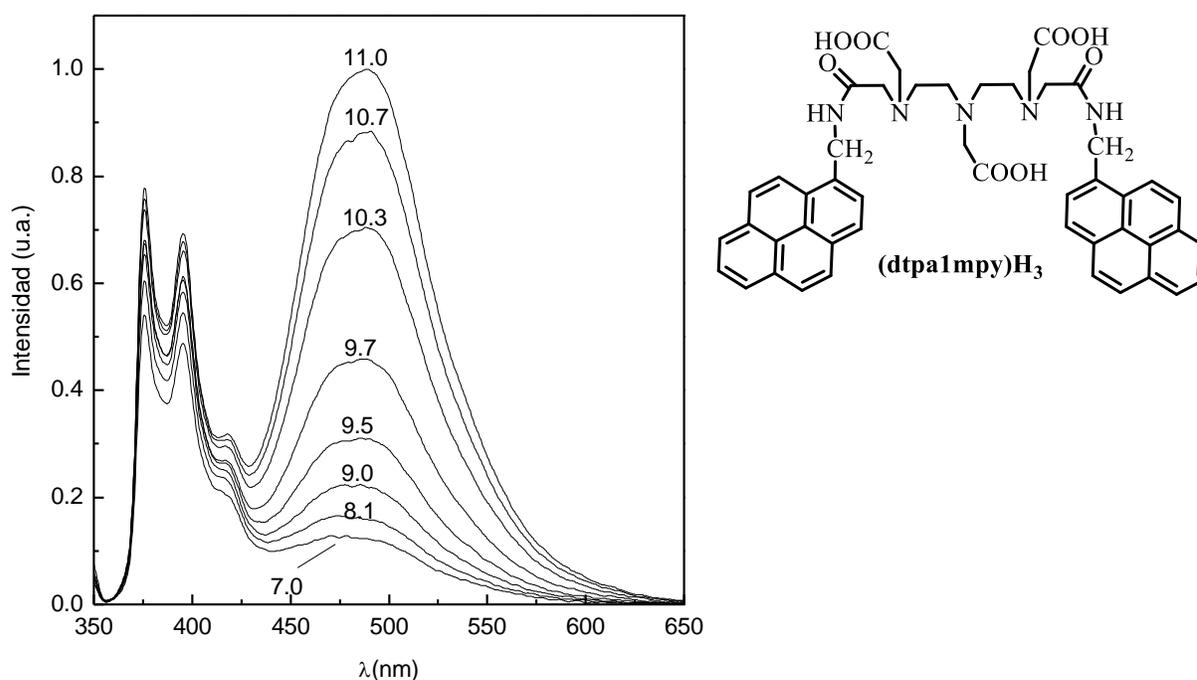


Figura 18. Espectros de emisión de $(dtpa1mpy)H_3$ en solución acuosa, tomados a diferentes valores de pH. Las intensidades están normalizadas al pico máximo del espectro más intenso. $\lambda_{exc}=342 \text{ nm}$, $[L]= 1 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Debido a lo anterior y con el propósito de explicar el perfil completo de intensidad de fluorescencia de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ se realizó el ajuste de la curva de I_F vs pH. A diferencia de $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$, la especie totalmente desprotonada $(\text{dtpa1mpy})^{3-}$ que existe en medio fuertemente alcalino ($\text{pH} > 11$) no muestra interconversión entre los estados L_a y L_b , por lo que el ajuste de la curva pudo realizarse con la Ecuación 1. Los valores de pK_a obtenidos fueron: $\log K_{p1} = 10.17$, $\log K_{p2} = 5.85$, $\log K_{p3} = 5.09$ y $\log K_{p4} = 2.91$ (Tabla 1), con los cuales se determinaron las curvas de distribución de especies (líneas punteadas en la Figura 19).

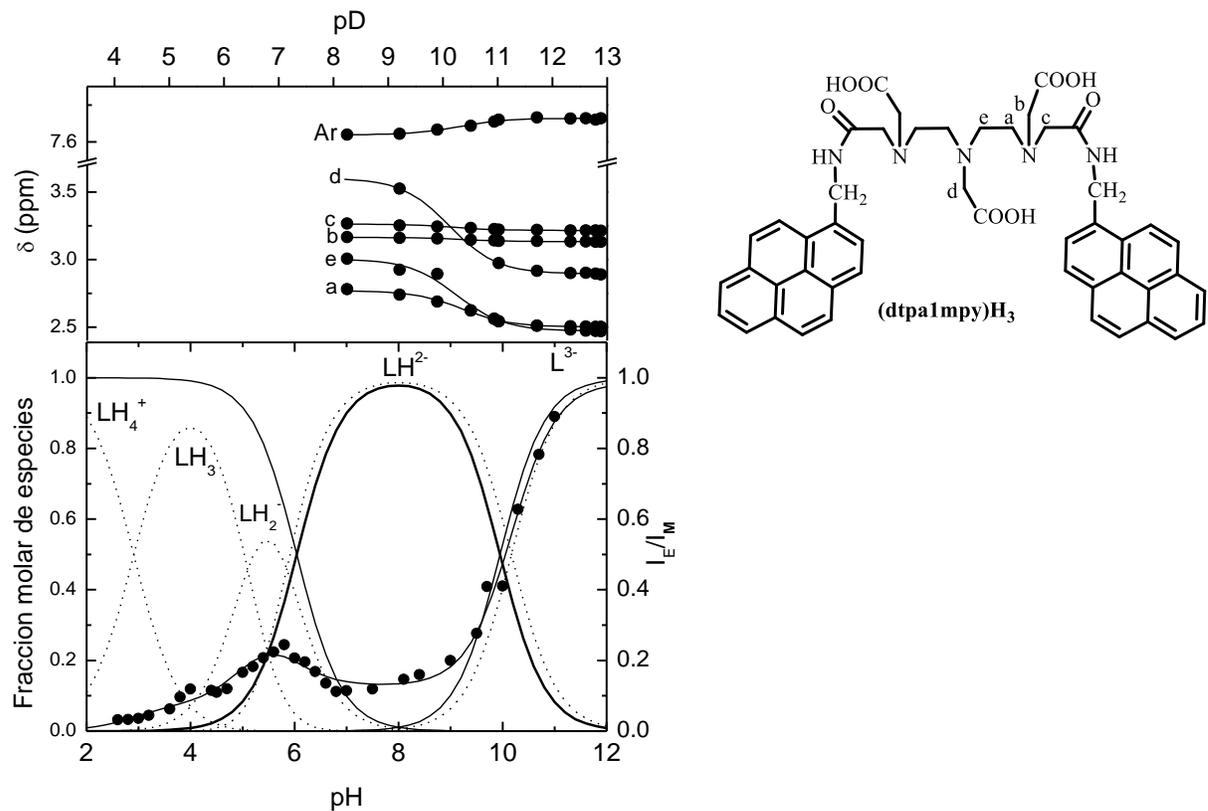


Figura 19. Abajo: Fracción mol de especies de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ obtenidos por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas) y relación I_E/I_M en función del pH (círculos: experimental; línea: ajuste teórico). Arriba: Desplazamientos químicos de protones de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ en función del pD. Ver las etiquetas de los protones en el Esquema I.

Las primeras dos constantes muestran una excelente congruencia con las obtenidas por potenciometría, lo cual se refleja en las curvas de distribución de especies. Por otro lado, con la determinación de la tercera y cuarta constantes de protonación fue posible explicar los cambios de intensidad en la región ácida ($\text{pH} < 5$).

El perfil de intensidades de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ contrasta con el de $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ en el cual la intensidad de la banda de excímero alcanzó un máximo a $\text{pH} 8$ aproximadamente (Figura 13). Los estudios potenciométricos realizados en este trabajo al ligante $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ arrojaron los siguientes valores de las constantes de protonación: $\log K_{p1} = 9.21$, $\log K_{p2} = 5.35$ y $\log K_{p3} = 4.62$ (Tabla 2). Los diagramas de especies de $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ (Figura 20) calculados a partir de estas constantes muestran que a $\text{pH} = 8$ existe casi exclusivamente ($>90\%$) la especie monoprotonada $(\text{dtpa1py})\text{H}^{2-}$. De acuerdo con los estudios de RMN de ^1H a diferente pD llevados a cabo con $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ la primera protonación ocurre principalmente en el nitrógeno amino central de la cadena dtpa .² Con base en los resultados de dicho estudio se propuso que la fuerte emisión de excímero de la especie $(\text{dtpa1py})\text{H}^{2-}$ se debe a la formación de un puente de hidrógeno intramolecular que favorece el acercamiento de los grupos pireno (Figura A4 en Anexos).

Como ocurrió en el caso de $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$, los estudios potenciométricos de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ muestran que a $\text{pH} = 8$ se forma predominantemente a especie $(\text{dtpa1mpy})\text{H}^{2-}$ (Figura 19). Aun cuando puede suponerse que la protonación ocurre en el nitrógeno central, es necesario establecer por RMN el sitio exacto, ya que existen reportes en la literatura de derivados dtpa -bisamida que indican que la funcionalización de la cadena dtpa cambia la basicidad de los átomos de nitrógeno.⁴⁵ Por ello, en este trabajo se realizó un estudio de RMN

de ^1H de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ a diferentes valores de pD. Las mediciones solo pudieron realizarse hasta un $\text{pD} \approx 8$ debido a que por debajo de este valor, a la concentración requerida para el estudio, el ligante precipita. En la parte superior de la Figura 19 se observa los desplazamientos químicos de protón en función del pD. Los desplazamientos de los protones *b* y *c* prácticamente no cambian en todo el rango de pD estudiado. En contraste, los protones *d* y *e* se desplazan simultánea y significativamente a campo bajo en la región de pD de 9 a 11.5 aproximadamente. El protón *a* presenta un desplazamiento ligeramente menor a campo bajo con respecto a los protones *d* y *e*. Estos resultados sugieren que la primera protonación ocurre principalmente en el átomo de nitrógeno central, tal como ocurrió con $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ y concuerdan con lo reportado por otros investigadores.^{37, 44, 51} Durante la titulación solo se pudo seguir una señal correspondiente a los protones aromáticos. Esta señal se desplaza a campo alto a medida que el pD disminuye. Del ajuste de las curvas de δ vs pD se determinó una constante de protonación en D_2O dando un valor de $\log K_{\text{D1}}=10.3$, el cual es mayor que el reportado para $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ ($\log K_{\text{D1}}=10.00$).² La relación de desplazamientos químicos, $\Delta\delta(b)/\Delta\delta(d)$, 0.04/0.70 para $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ es muy pequeña comparada a 0.11/0.70 de $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$. Debido a que $\Delta\delta(j)$ es proporcional a la población en protones en el átomo de nitrógeno enlazado a $\text{CH}(j)$, los valores de $\Delta\delta(b)/\Delta\delta(b)$, muestran que la protonación en las especies LH^{2-} está concentrada en el átomo de nitrógeno central en mayor proporción en $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ que en $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$. La inserción de un espaciador CH_2 , incrementa la basicidad del nitrógeno central, lo cual puede ser uno de los factores que controlan la conformación de la cadena de interconexión.

Se adquirieron los espectros de excitación de $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ a las longitudes de onda de emisión de excímero (480 nm) y de monómero (375 nm) respectivamente, a diferentes valores de pH (Figura 21). Las dependencias de las intensidades respecto al pH en los espectros de excitación correlacionan con las observadas en los espectros de emisión. Los patrones espectrales de las dos series de espectros son claramente diferentes unos de otros. La diferencia es pronunciada en la región de 250 a 350 nm. Las bandas relacionadas al excímero experimentan un ligero desplazamiento hacia el rojo y son más ensanchadas con respecto a las bandas relacionadas al monómero. Estos hallazgos indican que probablemente la emisión a 480 nm se debe a un excímero estático formado como resultado de la preorganización de la conformación en el estado basal.⁵⁰ Los espectros de absorción no muestran una clara evidencia de la preasociación (Figura A5, Anexos)

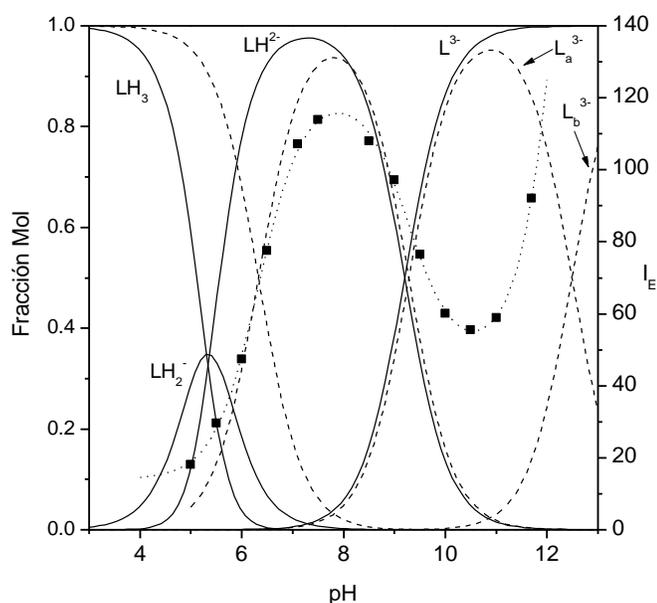


Figura 20. Intensidad de emisión de excímero I_E (cuadros) de $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ en función del pH y la fracción mol de especies determinadas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de $\log K_p$ se muestran en las Tablas 1 y 2.

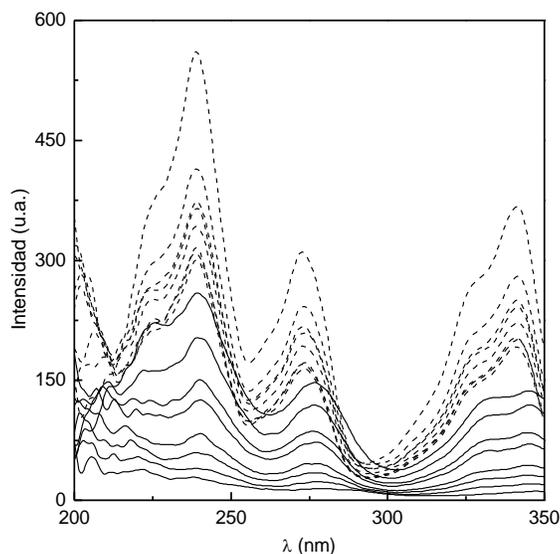


Figura 21. Espectros de excitación de $(dtpalmpy)H_3$ observado para las bandas de emisión a 375 (líneas punteadas) y 480 nm (líneas continuas) en solución acuosa a diferentes valores de pH. $[L]= 1 \times 10^{-6}$ M.

De acuerdo con los resultados de los estudios por RMN de 1H , fluorescencia y potenciometría, se puede proponer un esquema de protonación y cambios conformacionales para $(dtpalmpy)H_3$ el cual se muestra en la Figura 22. En medio alcalino ($pH > 10$), donde predomina la especie $(dtpalmpy)^{3-}$, las unidades pireno se encuentran cercanas lo que facilita la formación de excímero. A medida que disminuye el pH, aparece la especie $(dtpalmpy)H^{2-}$ y con ello el protón que se adiciona al grupo amino central provoca un cambio conformacional por intercambio de protón por lo cual las unidades aromáticas se separan. Al formarse la especie $(dtpalmpy)H_2^-$ la cadena de interconexión se vuelve más rígida y las unidades aromáticas vuelven a acercarse aunque en menor medida que en la especie totalmente desprotonada $(dtpalmpy)^{3-}$. Estas diferencias en la dependencia de la fluorescencia con el pH

para $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$ y $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ es un claro ejemplo del importante rol de la cadena de interconexión en las propiedades fluorescentes de estos bicromóforos de pireno.

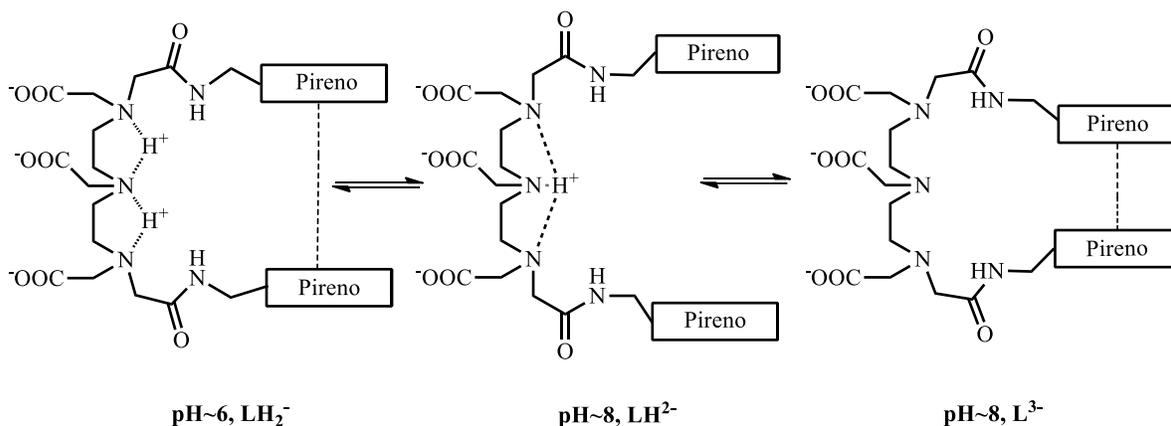


Figura 22. Esquemas de protonación y los cambios conformacionales propuestos para $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_n^{-3+n}$. El puente de hidrógeno en la especie $(\text{dtpa1mpy})\text{H}^{2-}$ dificulta la formación de excímero en el estado excitado.

Hasta este punto, los resultados de la caracterización espectroscópica de los ligandos $(\text{edta1py})\text{H}_2$ y $(\text{dtpa1py})\text{H}_3$, reportados en trabajos previos por nuestro grupo de investigación, así como de $(\text{edta1mpy})\text{H}_2$ y $(\text{dtpa1mpy})\text{H}_3$ sintetizados en este trabajo, han mostrado que todos estos compuestos tienen propiedades de interés para aplicación en el área de sensores moleculares. Continuando con esta estrategia de investigación y con la firme idea de obtener novedosos prototipos que funcionen como sensores de pH, se diseñó un nuevo ligante denominado $(\text{ttha1py})\text{H}_4$ que pertenece a esta misma clase de compuestos. Se espera que al tener una cadena de interconexión más larga y un mayor número de sitios protonables el compuesto presente una mayor flexibilidad y perfiles de I_F vs pH claramente diferentes a los

ligantes descritos anteriormente. A continuación se describen los resultados de la síntesis y caracterización del ligante (ttha1py)H₄

3.1.3. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha1py)H₄.

La reacción entre el ttha dianhídrido y 1-aminopireno dio un producto de adición 1:2 nombrado como (ttha1py)H₄. Este ligante se obtuvo como un polvo color verde claro, con un rendimiento de 45.3 %, soluble en disolventes orgánicos como DMF, DMSO y etanol. En su forma totalmente ionizada L⁴⁻, el compuesto es soluble en agua en una concentración de ~0.5 mM. A pesar de poseer una cadena de interconexión más larga con relación a los derivados anteriores, aun es capaz de formar excímero en medio básico probablemente debido a la flexibilidad de la cadena. En la Figura 23 se muestran los espectros de emisión a diferentes valores de pH. La solución alcalina exhibe una intensa banda ancha situada a 487 nm asignable a excímero de pireno y un grupo de bandas con estructura vibracional entre 393 y 414 nm características de pireno monomérico. En la Figura 25 se muestra la gráfica de la intensidad de fluorescencia tomada a 500 nm contra pH. Además de la distribución de las fracciones molares de las diferentes especies de (ttha1py)H₄ calculadas de las constantes de protonación determinadas por fluorescencia y potenciometría. Los valores de K_p obtenidos por estas técnicas se muestran en las Tablas 1 y 2, respectivamente. La relación de intensidades I_E/I_M es casi 5 a pH=11.4 y disminuye a medida que el pH decrece hasta $I_E/I_M = 1$ a pH=10. Esta caída de la fluorescencia corresponde a la respuesta del grupo amida a cambios en el medio. Una disminución adicional en el pH, hace que incremente la relación de emisión I_E/I_M vs pH alcanzando un nuevo máximo a pH~8. El primero y segundo máximo en

el perfil I_E/I_M vs pH correlaciona con la existencia de las especies $(ttha1py)^{4-}$ y $(ttha1py)H^{3-}$. Del ajuste de la curva de intensidad en función del pH con la Ecuación 3, se obtuvieron seis constantes de protonación (Tabla 1).

El comportamiento de este ligante dio un novedoso perfil de I_F vs pH tipo “on-off-on-off-on off”. A nuestro conocimiento, este tipo de perfil no se ha visto con ningún compuesto reportado en la literatura, por lo que aquí radica la importancia de la modificación de la cadena de interconexión.

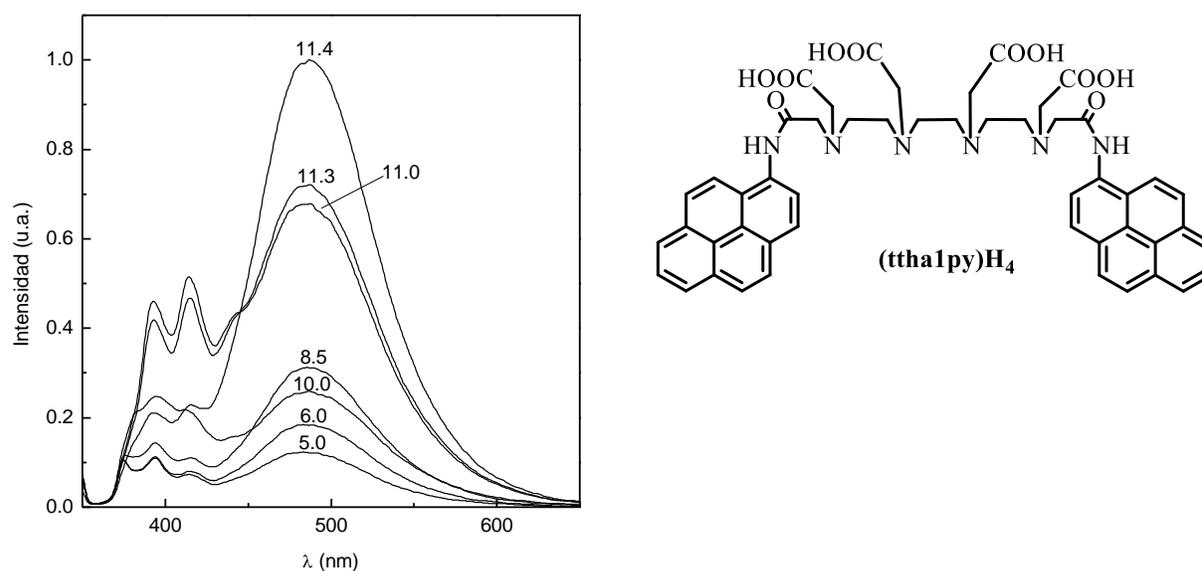


Figura 23. Espectros de emisión de $(ttha1py)H_4$ normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=342$ nm, $[L]=1 \times 10^{-6}$ M.

Los espectros de excitación monitoreados a la longitud de onda de excímero (480 nm) y a la emisión de monómero (375 nm) muestran una clara diferencia en la región de 200–250 nm; los espectros relacionados a la emisión de excímero muestran una banda centrada en los 241 nm mientras que la banda correspondiente a la emisión de monómero se encuentra a 217 nm (Figura 24). Este gran desplazamiento de 24 nm hacia el rojo de la banda de los espectros

correspondientes a la emisión de excímero es evidencia que la banda de emisión a 480 nm es debido a un excímero estático formado en el estado basal. Este resultado es congruente con lo obtenido por Uv-vis donde las bandas están ensanchadas en todo el intervalo de pH estudiado.

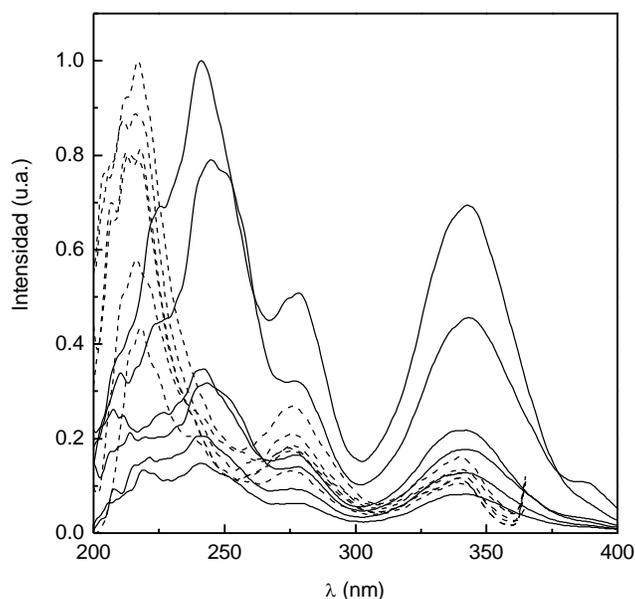


Figura 24. Espectros de Excitación de (ttha1py)H₄ observados para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas sólidas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; el pH es 11.4, 11.0, 8.5, 10.0, 6.0 and 5.0 de arriba hacia abajo para ambos grupos de espectros. La concentración es 1×10^{-6} M. en cada grupo de espectros, las intensidades están normalizadas al pico más alto del espectro más Intenso.

La solubilidad de este ligante permitió realizar un estudio mediante RMN de ¹H para conocer el sitio de protonación. La primera constante de protonación obtenida por este método fue Log K_{D1}=10.7. En la parte superior de la Figura 25 se observa que las señales de los protones *d*, *e* y *f*, son los que se desplazan en mayor medida y simultáneamente hacia campo bajo. Estas señales corresponden a los grupos metileno unidos directamente a los nitrógenos amino centrales del ligante y, por lo tanto, el desplazamiento indica que la primera

protonación ocurre sobre dichos átomos. Estos resultados son congruentes con los obtenidos por Achour B. et al. con el ligante ttha-bis(butenamida).³⁷

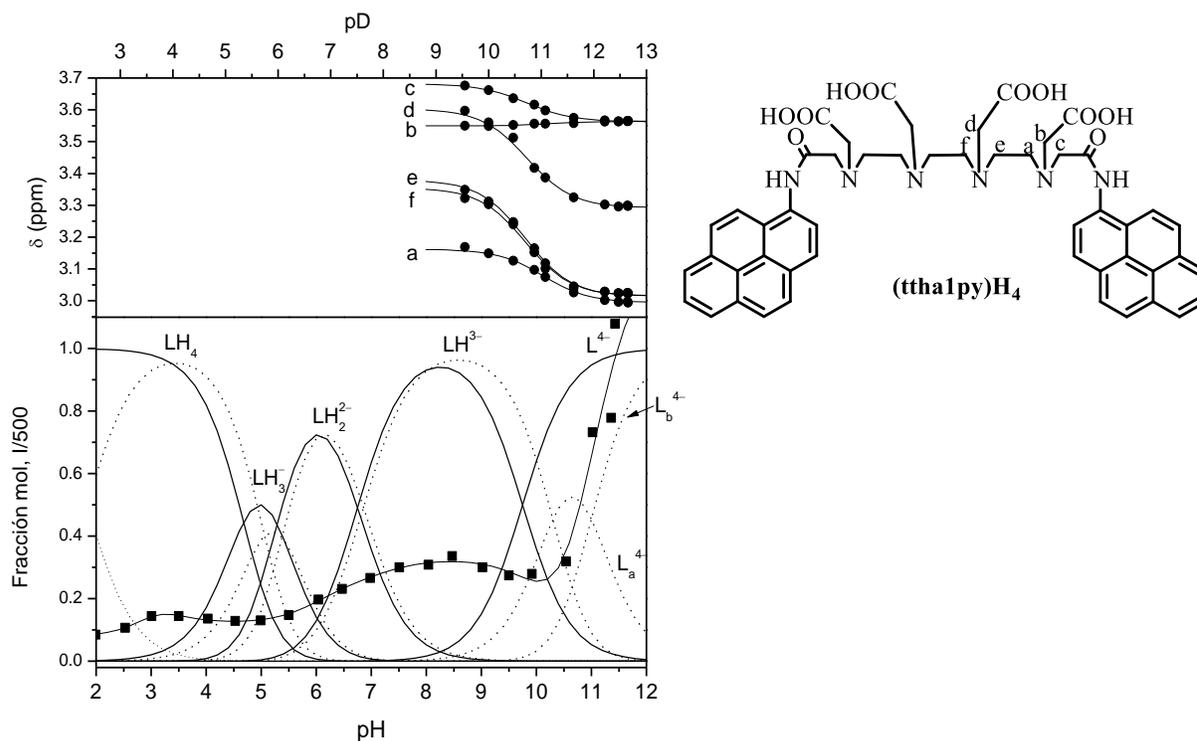


Figura 25. Fracción molar de especies de (ttha1py)H₄ obtenidas por potenciometría (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) y relación I_E/I_M en función del pH (círculos). Arriba la dependencia de pD de los desplazamientos químicos de (ttha1py)H₄. Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I.

A pesar de que por limitaciones de solubilidad a valores más bajos de pD, no fue posible establecer mediante RMN el sitio exacto de la segunda protonación, con base en trabajos previos realizados por otros autores con ligantes análogos derivados de ttha, se asume que ésta ocurre predominantemente en las aminas terminales de la cadena ttha para formar la especie LH₂²⁻.^{2,4,34,36}

La última estrategia abordada en esta sección del trabajo es la modificación del ligante (ttha1py)H₄ por la incorporación del grupo metileno entre los grupos amida y las unidades pireno, tal como se realizó con los derivados descritos anteriormente. Esta modificación dio un comportamiento novedoso, diferente a (ttha1py)H₄ donde se pudo observar por RMN de ¹H claramente un cambio conformacional influenciado por el pH, los cuales concuerdan con los cambios observados por fluorescencia. En la siguiente sección se discutirán los resultados obtenidos con el ligante (ttha1mpy)H₄.

3.1.4. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha1mpy)H₄.

La reacción entre el ttha dianhídrido y 1-aminometilpireno dio un producto de adición 1:2 denominado (ttha1mpy)H₄ de color café claro, con un rendimiento del 13 %. Este bajo rendimiento se debió a que este ligante se purificó por precipitación, como se describe en la sección experimental, y no es posible recuperar todo el compuesto ya que una parte aún queda soluble en la solución ácida (pH~4).

Este ligante presentó una solubilidad de ~1 mM en su forma totalmente desprotonada (ttha1mpy)⁴⁻ la cual es mayor a la de los derivados anteriores. Al igual que los otros compuestos, también es soluble en diferentes solventes orgánicos.

Por medio de estudios potenciométricos, se pudieron determinar cuatro constantes de protonación, ($\log K_{p1}=10.24$ $\log K_{p2}=6.82$, $\log K_{p3}=4.99$, $\log K_{p4}=4.12$). Estos valores correlacionan muy bien con las constantes obtenidas por fluorescencia (Tabla 2).

El espectro de emisión de este compuesto en medio alcalino, exhibe bandas de monómero y excímero a las mismas longitudes de onda observadas para los otros derivados de

pireno, sin embargo la razón de intensidades I_E/I_M y su dependencia del pH son distintas a las de los demás compuestos, en particular a las de su análogo (ttha1py) H_4 (Figura 26). La relación de intensidades I_E/I_M fue de 1.4 a pH=11.6 y disminuye a medida que el pH decrece hasta llegar a un valor de $I_E/I_M=0.02$ a pH=8 (ver recuadro de la Figura 26), mientras que para (ttha1py) H_4 en medio alcalino alcanzó un valor de ~ 5 . La baja emisión de excímero se atribuyó a la débil interacción de los grupos pireno en esta región de pH. De hecho, los espectros de excitación correspondientes a la emisión de excímero son casi idénticos a los espectros de excitación monitoreados a la emisión de monómero (Figura A6), en contraste a los espectros de excitación de (ttha1py) H_4 (ver Figura 24).

La rápida caída de la fluorescencia en el intervalo $11 < \text{pH} < 12$ corresponde a la respuesta del grupo amida a cambios del medio, y con el ajuste de la curva de I_E/I_M vs pH mediante la Ec. 3 dio un valor de $\log K_{ab} = -12.50$ correspondiente a la conversión de la especie L_b a L_a . Adicionalmente se pudieron calcular tres constantes de protonación por esta técnica ($\log K_{p1}=10.02$, $\log K_{p2}=6.66$, $\log K_{p5}=2.7$) (Tabla 2). Los valores de $\log K_{p3}$ y $\log K_{p4}$, no se pudieron determinar por esta técnica debido a que en la región de pH de 4–6 donde, según los datos potenciométricos, se espera la formación de las especies LH_3^- y LH_4 , no hay un cambio observable en la emisión de fluorescencia (Figura 27).

Algo similar sucedió con los ligantes (dtpa1py) H_3 y (dtpa1mpy) H_3 conteniendo en su estructura una cadena tipo dtpa. Estos resultados soportan que los grupos CH_2 entre los grupos amida y pireno, afectan significativamente la acidez y basicidad de los compuestos y por lo tanto sus propiedades fluorescentes.

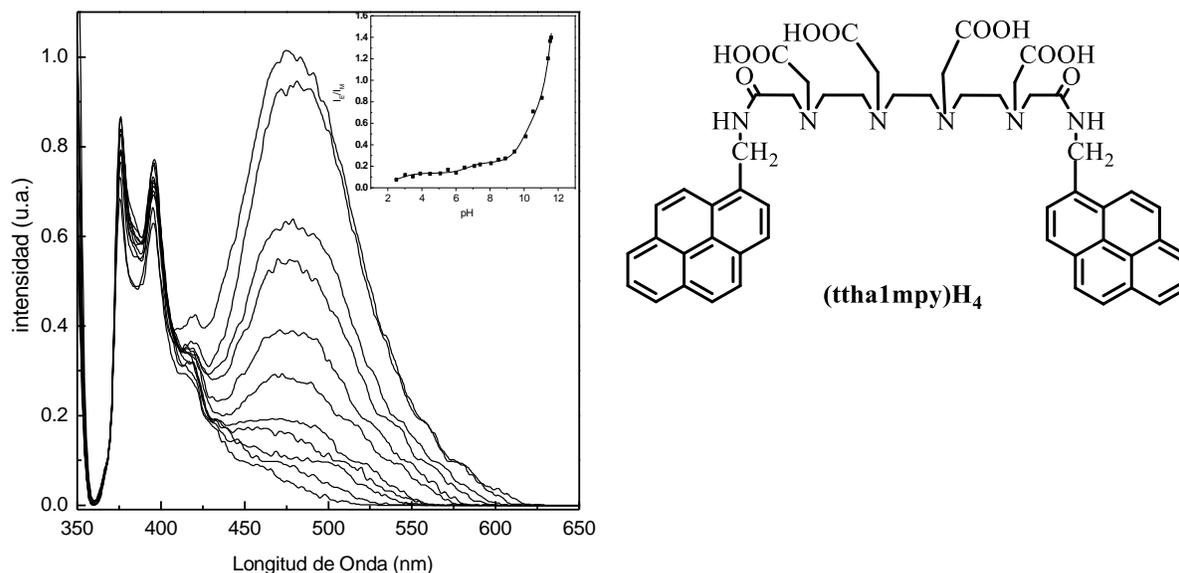


Figura 26. Espectros de emisión de $(ttha1mpy)H_4$ normalizados tomados a diferentes valores de pH, $\lambda_{exc}=342$ nm, $[L]=5 \times 10^{-7}$ M. En el recuadro se observa la relación de intensidades excímero-monómero I_E/I_M en función del pH (cuadros) y el ajuste obtenido con base en la Ecuación 1 (línea sólida).

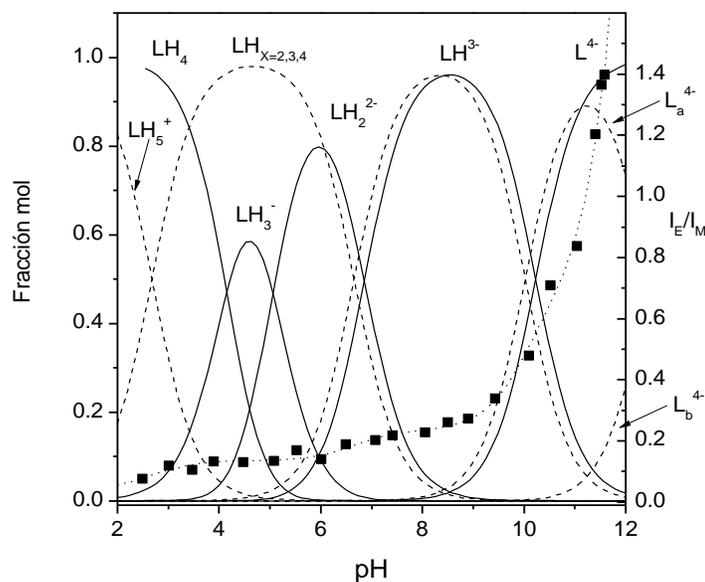


Figura 27. Distribución de fracción mol de las diferentes especies de $(ttha1mpy)H_4$ obtenidas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas punteadas) y la relación I_E/I_M en función del pH (cuadros). La línea punteada es el mejor ajuste obtenida con la Ecuación 3. Las líneas punteadas a $pH \sim 5$ muestra la suma de las fracciones mol de las especies LH_2^{2-} , LH_3^- and LH_4 , debido a que en esa región de pH no hay ningún cambio relacionado al proceso de protonación.

Para conocer la secuencia de protonación de este ligante, se tomaron los espectros de RMN de ^1H en función del pD. Con este estudio se encontró algo novedoso para esta clase de compuestos, lo cual se discutirá en los siguientes párrafos. En la Figura 28 se muestran los desplazamiento de las señales de $(\text{ttha1mpy})\text{H}_4$ en función del pD. La etiqueta de las señales se puede observar en el Esquema 1. Las señales de los protones *d*, *e* y *f*, son las que se desplazan en mayor medida y simultáneamente hacia campo alto, contrario al desplazamiento a campo bajo provocado por un proceso de protonación simple, como ocurrió en el caso del ligante análogo $(\text{ttha1py})\text{H}_4$ (ver Figura 25). La característica más notable es que la señal del protón localizado a $\delta \sim 1.8$, a pD ~ 12 , se desplaza a campo alto ($\delta \sim 0.6$ ppm a pD ~ 9) cuando el pH disminuye. El valor de δ de 0.6, es muy pequeño comparado con los valores de ~ 3 de las señales de protones NCH_2 , y la diferencia de ~ 2.4 entre los valores de δ es más grande que la predicha para la protonación en átomos de nitrógeno adjacentes.⁵² Este valor inusual de δ y la nueva dependencia del pH se puede interpretar por efecto de la corriente de los anillos de pireno. En el ligante $(\text{ttha1mpy})\text{H}_4$ se cree que al tener una cadena muy flexible, cuando ocurre la primera protonación la cadena se pliega de tal forma que algunos protones quedan dentro de la zona de protección de las unidades aromáticas. Estas señales corresponden a los grupos metileno unidos directamente a los nitrógenos amino centrales del ligante y, por lo tanto, el desplazamiento indica que la primera protonación ocurre sobre los átomos de nitrógeno amino que se encuentran en la parte central de la cadena de interconexión. Las señales correspondientes a los protones etiquetados como *a*, *b* y *c*, se desplazan en menor proporción. En el intervalo de $8 < \text{pD} < 10$, al acercarse la segunda protonación, los desplazamientos de todos los protones se revierten, esto probablemente se deba a un

reacomodo de la molécula tal que las unidades pireno se alejen provocando así una desprotección de todos los protones. Para este compuesto se pudieron seguir cuatro señales correspondientes a los protones aromáticos, aunque fue difícil realizar la asignación. Todas estas señales se mueven hacia campo bajo, lo que nos corrobora lo establecido con los protones alifáticos. Del ajuste de las gráficas de δ vs pD, se pudieron determinar dos constantes de protonación: $\log K_{D1}=11.4$, $\log K_{D2}\sim 7$. Estos resultados son congruentes con los obtenidos por fluorescencia, donde al darse la primera protonación se pierde la emisión de excímero. Con estos estudios se puede proponer un esquema de protonación como el que se muestra en la Figura 29.

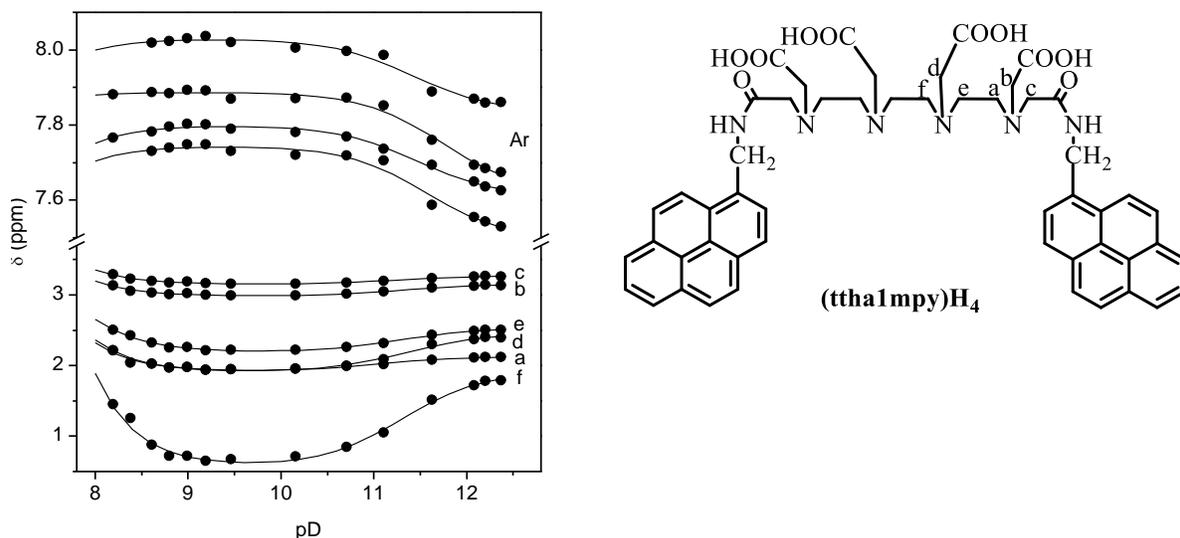


Figura 28. Dependencia de pD en los desplazamientos químicos de $(ttha1mpy)H_4$. Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I. Las líneas sólidas son el mejor ajuste con base en la ecuación $\delta_j(pD) = \{\delta_{j0} + \sum_n \delta_{jn} \cdot \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\} / \{1 + \sum_n \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\}$ donde β_{Dn} es la constante de protonación total n th en D_2O , y δ_{j0} y δ_{jn} son los valores δ_j de $(ttha1mpy)^{4-}$ y $(ttha1mpy)H_n^{(4-n)-}$, respectivamente: $\log K_{D1}=11.4$ y $\log K_{D2}\sim 7$; $\delta_{f0}= 1.9$ y $\delta_{f1} = 0.57$.

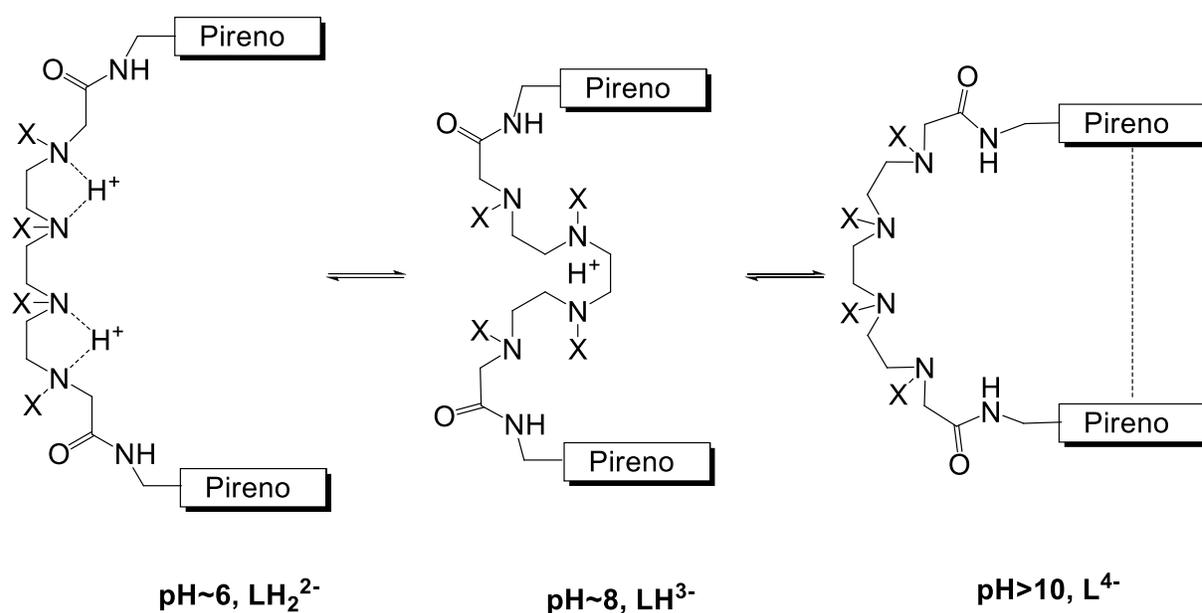


Figura 29. Posible cambio conformacional de la cadena de interconexión tras la protonación en $(\text{tha1mpy})\text{H}_4$. Los rectángulos representan los anillos de pireno y $\text{X}=\text{CH}_2\text{CO}_2^-$.

Estos resultados muestran evidencia de la importancia que tiene la longitud de la cadena de interconexión en las propiedades fluorescentes en este tipo de compuestos; además la inserción del puente metileno entre el grupo amida y el pireno le confiere mayor flexibilidad y por lo tanto nuevas características para su utilización como sensores fluorescentes. Además motivan para seguir buscando estrategias para obtener nuevas respuestas al cambio de pH.

3.2. Estudios Espectroscópicos de los Ligantes Derivados de Antraceno.

El diseño de sensores fluorescentes para detección de cationes, aniones y protón, basados en la emisión de antraceno ha sido de interés por varios investigadores, de hecho es uno de los primeros fluoróforos utilizados en el diseño de sensores fluorescentes. Un rasgo que es importante resaltar es que solo algunos de ellos muestran emisión de excímero, esto

probablemente se debe a la posición de unión de este fluoróforo (generalmente usado 9-aminometilantraceno). La emisión de excímero es de gran utilidad como herramienta analítica.

En el DIPM, de la Universidad de Sonora, se han modificado los ácidos etilendiaminotetraacético (edta), dietilentriaminopentaacético (dtpa) y trietilentetraamino hexaacético (ttha) por la incorporación, en los extremos de la cadena, de unidades fluorescentes como benceno, naftaleno, pireno y antraceno. Estos compuestos han mostrado propiedades de sensores frente a cationes metálicos y el ion H^+ . El ligante $(edta2an)H_2$ reportado previamente,³ sólo mostró emisión de monómero tanto en su forma libre como en presencia de cationes metálicos (Cu^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+}). Lo anterior se atribuyó a que probablemente la cadena edta es muy corta y no permite una adecuada orientación de los grupos antraceno para la formación de excímero.

En la búsqueda de nuevos y mejores prototipos para el diseño de sensores fluorescentes basados en la emisión de antraceno, en un principio, en este trabajo se planteó el diseño de nuevos ligantes derivados de los ácidos edta, dtpa y ttha y la amina 1-aminoantraceno y para dar los compuestos $(edt1an)H_2$, $(dtpa1an)H_3$ y $(ttha1an)H_4$, así como con la amina 2-aminoantraceno para dar los compuestos $(dtpa2an)H_3$ y $(ttha2an)H_4$ respectivamente. Se espera que la incorporación de cadenas más largas, permitirá una mayor flexibilidad y por lo tanto una mejor orientación de las unidades aromáticas para la formación de excímero. Con las modificaciones anteriores se espera mejorar las propiedades de sensor de esta clase de compuestos hacia distintos cationes metálicos y el ion H^+ . Como se mencionó en la sección experimental, no fue posible purificar los derivados de 1-aminoantraceno, por lo que en las

siguientes secciones se presentarán los resultados obtenidos con los ligantes (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄.

3.2.1. Relación de pK_a y fluorescencia de (dtpa2an)H₃.

El ligante (dtpa2an)H₃ se obtuvo como un polvo de color café claro con un rendimiento del 74.7 % y punto de fusión de 220–222 °C. Este compuesto en su forma aniónica es soluble en agua, mientras que en su forma ácida es soluble en disolventes orgánicos apróticos como DMF y DMSO, además de mostrar solubilidad parcial en etanol y acetona caliente. La solubilidad en agua permitió llevar a cabo estudios por fluorescencia, Uv-vis, potenciometría y RMN de ¹H.

El espectro de emisión en medio alcalino (pH ~11.5) muestra una banda ancha y sin estructura vibracional ubicada en los 422 nm atribuida a la emisión de monómero de antraceno, seguida por un hombro centrado en 500 nm que se puede asignar a la emisión de excímero de antraceno ($I_E/I_M \sim 0.35$) (

Figura 30). La razón I_E/I_M decrece de manera gradual hasta pH~7 donde alcanza un valor de ~0.2. A partir de este pH la razón de intensidades se incrementa nuevamente hasta alcanzar su valor máximo de 0.5 a pH~3 (

Figura 30). Este comportamiento da un perfil de intensidades tipo “on-off-on” y de esta manera se mejora las propiedades encontradas por otros autores que reportan bis-cromóforos de antraceno; además es de gran relevancia para su posible aplicación a nivel biológico.

Del ajuste de la curva de I_E vs pH con la Ecuación 3, se pudieron calcular cuatro constantes de protonación: $\log K_{ab} = -11.0$, $\log K_{p1} = 9.03$, $\log K_{p3} = 5.46$, $\log K_{p4} = 3.70$ (Tabla

3). Estas constantes concuerdan con respecto a las calculadas por potenciometría: $\log K_{p1}=9.52$, $\log K_{p2}=6.71$, $\log K_{p3}=5.10$ (Tabla 4). El valor de $\log K_{p4}$ no se pudo determinar por potenciometría debido a que este compuesto es insoluble a valores de $\text{pH}<5$ bajo estas condiciones de concentración (0.5 mM).

Las curvas de distribución de especies calculada a partir de las constantes determinadas por fluorescencia se grafican en la Figura 31. Como puede observarse, el mínimo de la gráfica de intensidad a $\text{pH}\sim 7$ coincide con la existencia de las especies LH^{2-} y LH_2^- . Con la aparición de la especie LH_3 se enciende de nuevo la fluorescencia.

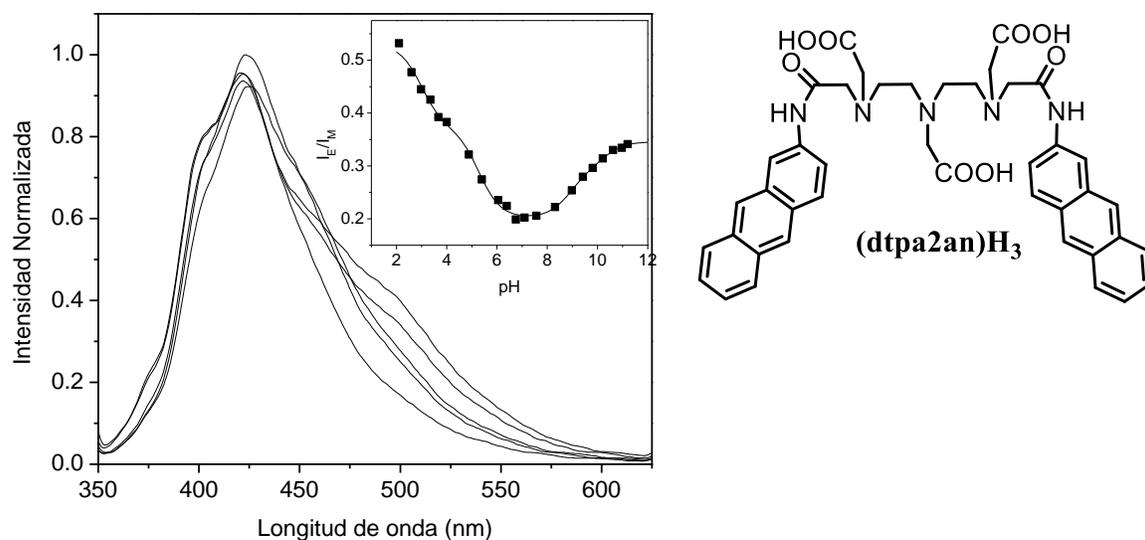


Figura 30. Espectros de emisión de $(\text{dtpa2an})\text{H}_3$ tomados a diferentes valores de pH , $\lambda_{\text{exc}}=330$ nm, $[\text{L}]=5\times 10^{-6}$ M. Los valores de pH de abajo hacia arriba de la banda en 500 nm son: 7.1, 9.4, 11.0, 4.0, 3.0.

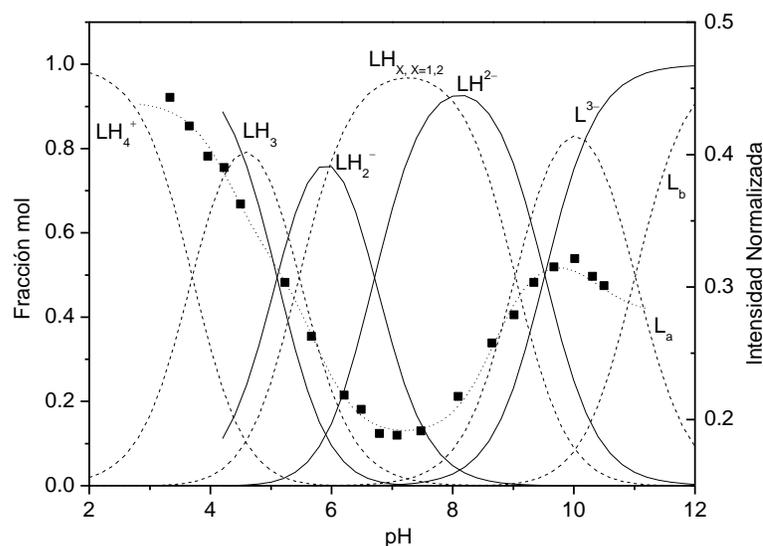


Figura 31. Intensidad de emisión de excímero I_E (cuadros) de $(dtpa2an)H_3$ en función del pH y la distribución de especies obtenida por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas segmentadas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de $\log K_p$ se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Logaritmos de las constantes de protonación determinadas por fluorescencia (paréntesis) y la intensidad de fluorescencia relativa inherente en cada especie con referencia a la intensidad de las especies LH^a

L	L_b	L_a	LH	LH ₂	LH ₃	LH ₄
			($\log K_{p1}$)	($\log K_{p2}$)	($\log K_{p3}$)	($\log K_{p4}$)
(dtpa2an)H₃	1.4	1.8	1	1.7	--	2.4
		(-11.0)	(9.03)	nd ^b	(5.46)	(3.70)
(ttha2an)H₄	1.7	1.2	1	0.6	--	0.9
	--	(-11.5)	(9.06)	(6.59)	nd ^b	(3.30)

^a Las cargas son omitidas para mayor claridad.

^b No determinada debido a un comportamiento lineal en fluorescencia en el rango de pH correspondiente.

Los espectros de excitación monitoreados a la longitud de onda de emisión de monómero (422nm), se observan ensanchados con máximos en 346 nm, 359 nm y 384 nm.

Por otro lado, los espectros de excitación correspondientes a la emisión de excímero ($\lambda_{\text{emi}}=495$ nm), obtenidos de soluciones con pH en el intervalo $11.5 < \text{pH} < 7.5$, muestran características similares a los obtenidos para emisión de monómero, con máximos a 345, 358 y 386 nm. Una característica interesante es que los espectros de las soluciones ácidas ($\text{pH} < 7$), presentan una nueva banda en los 322 nm, la cual alcanza su intensidad máxima a $\text{pH} \sim 3$, y un desplazamiento al rojo (5 nm) de la banda localizada a 386 nm. La aparición y corrimiento de estas bandas respectivamente se correlaciona con el incremento de la emisión de excímero en los espectros de emisión en el intervalo $3 < \text{pH} < 7$.

En los espectros de absorción se aprecia una banda ancha con un máximo centrado en los 260 nm y un pequeño grupo de bandas entre los 300 y 400 nm típicas de la absorción de antraceno.

En el estudio por RMN de ^1H sólo se pudieron monitorear dos señales correspondientes a los protones alifáticos, etiquetados como *a* y *d* en el Esquema I y tres protones aromáticos. Como se puede apreciar en la Figura 34 la señal etiquetada como *d* es la que se desplaza en mayor medida hacia campo bajo y la señal *a*, prácticamente no se desplaza, así como las señales de los aromáticos etiquetadas como Ar1 y Ar3, mientras que Ar2, se desplaza a campo alto al acercarse la primera protonación. El desplazamiento de la señal *d*, da evidencia de que la primera protonación se lleva en el átomo de nitrógeno central, tal como ocurrió con los ligantes derivados de pireno.

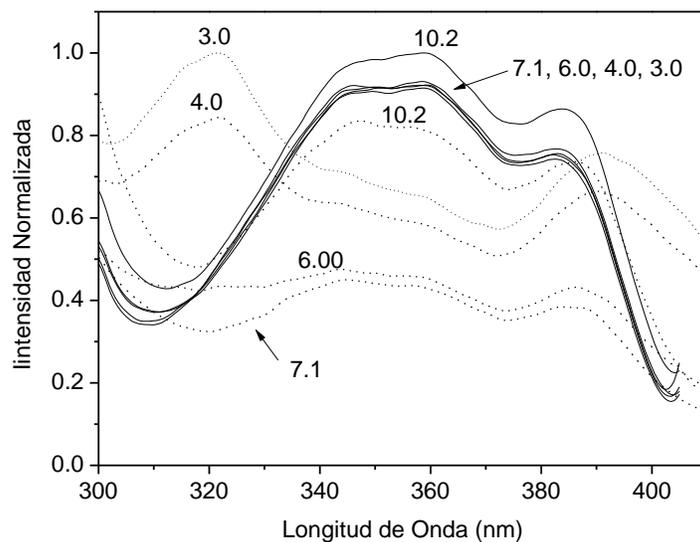


Figura 32. Espectro de excitación correspondientes a la emisión de monómero ($\lambda_{emi}=422$ nm, línea sólida) y a la emisión de excímero ($\lambda_{emi}=495$ nm, línea punteada) de $(dtpa2an)H_3$ tomados a diferentes valores de pH. $[L]=5 \times 10^{-6}$ M.

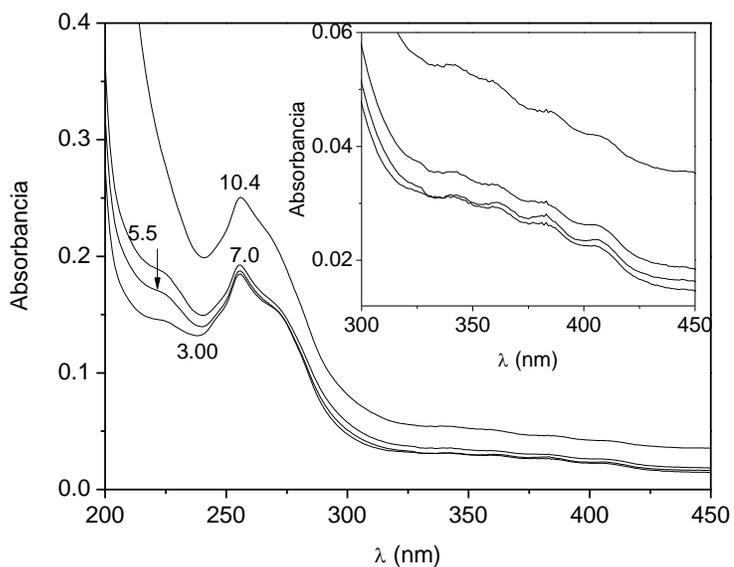


Figura 33. Espectros de absorción de $(dtpa2an)H_3$ tomados a diferentes valores de pH. $[L]=5 \times 10^{-6}$ M.

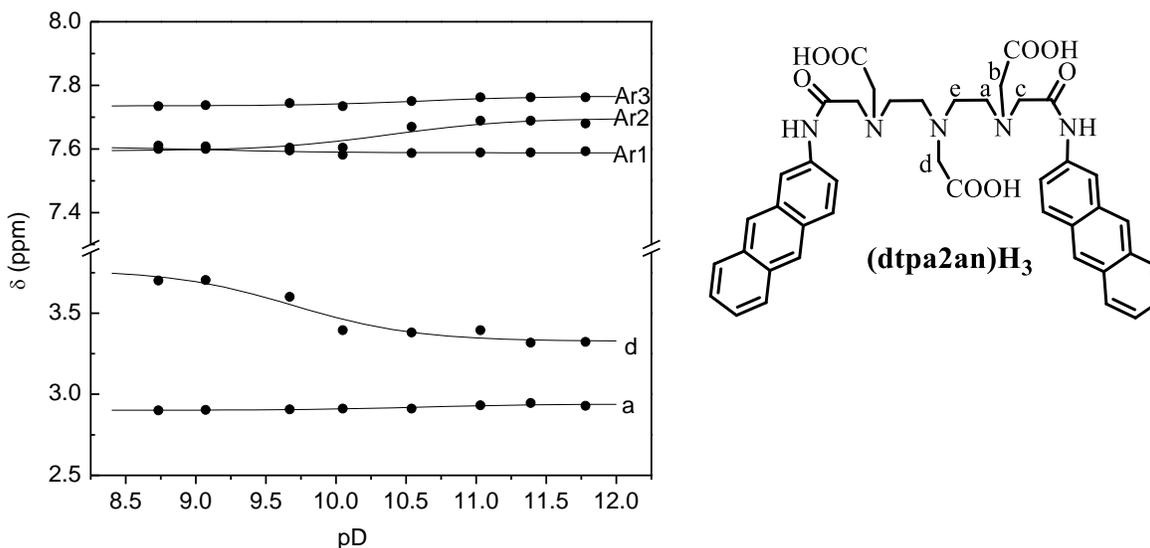


Figura 34. Dependencia de pD en los desplazamientos químicos de (dtpa2an)H₄. Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I. Las líneas sólidas son el mejor ajuste con base en la ecuación $\delta_j(pD) = \{\delta_{j0} + \sum_n \delta_{jn} \cdot \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\} / \{1 + \sum_n \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\}$ donde β_{Dn} es la constante de protonación total *n*th en D₂O, y δ_{j0} y δ_{jn} son los valores δ_j de (dtpa2an)⁴⁻ y (dtpa2an)H_{*n*}⁽³⁻ⁿ⁾⁻, respectivamente: log K_{D1}=10.07; δ_{f0} = 3.32 y δ_{f1} = 3.70.

3.2.2. Relación de pKa y fluorescencia de (ttha2an)H₄.

De la reacción entre el ttha dianhídrido y la amina 2-aminoantraceno se obtuvo un producto de color café claro, denominado (ttha2an)H₄, con un rendimiento de 75% y punto de fusión de 230–232 °C. En su forma aniónica este compuesto es soluble en agua a concentración del orden milimolar, así como en disolventes polares apróticos como DMF y DMSO. Con la obtención de este derivado bis-antraceno de cadena de interconexión más larga se pretende mejorar las propiedades encontradas con los compuestos (edta2an)H₂ y (dtpa2an)H₃.

En medio alcalino, el espectro de emisión muestra una banda ancha en los 422 nm típica de la emisión de monómero de antraceno acompañada de una banda parcialmente cubierta en los 500 nm que se puede atribuir a la emisión de excímero de antraceno. A $\text{pH} > 11$, la relación I_E/I_M da un valor de 0.38. Un valor similar se encontró con el derivado (dtpa2an) H_3 en esta zona de pH ($I_E/I_M=0.35$). En este caso, este valor decrece gradualmente hasta $\text{pH} \sim 5$ ($I_E/I_M=0.15$) donde según la gráfica de distribución de especies sólo existe la especie LH_3^- . Por lo anterior se puede decir que los valores de I_E/I_M a diferentes valores de pH están relacionados con diferentes cambios conformacionales que se presentan en el compuesto con la secuencia de protonación.

Del ajuste de la gráfica de I_E/I_M vs pH se pudieron calcular cuatro constantes de protonación: $\log K_{ab}=11.54$, $\log K_{p1}=9.06$, $\log K_{p2}=6.59$, $\log K_{p4}=3.3$. El valor de $\log K_{p3}$ no se pudo determinar por esta técnica debido a que en la región de pH de 4–6 donde, según los datos obtenidos por potenciometría se espera la formación de las especies LH_3^- , no hay un cambio observable en la emisión de fluorescencia.

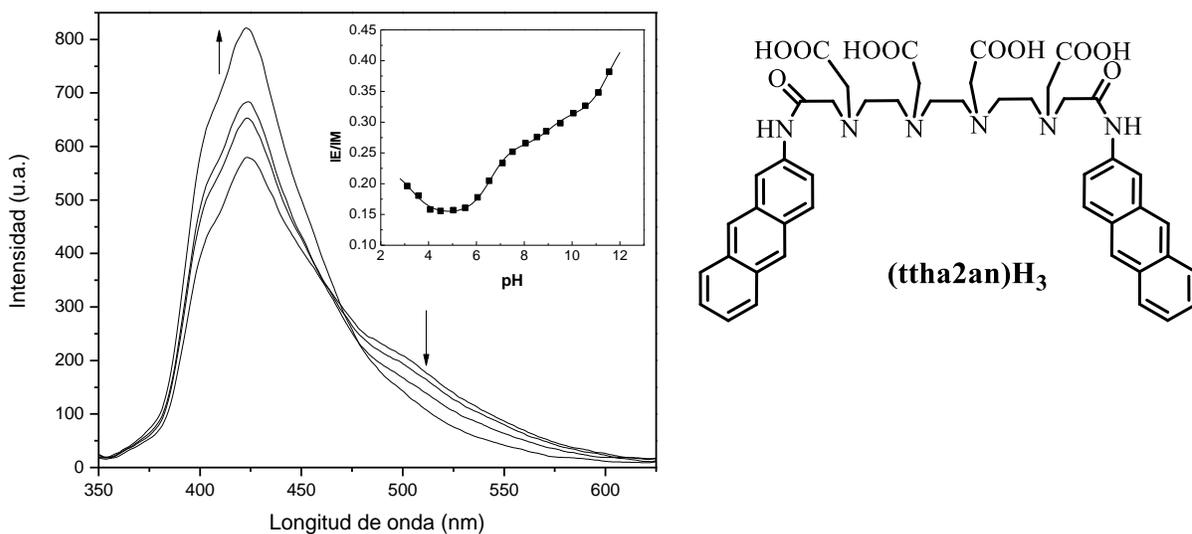


Figura 35. Espectros de emisión de $(ttha2an)H_4$ en solución acuosa a diferentes valores de pH (de arriba hacia abajo a 525 nm: 11.1, 8.9, 7.1 y 5.5). La longitud de onda de excitación, λ_{exc} , es 330 nm, y la concentración es 5×10^{-6} M. En el recuadro se muestra la relación I_E/I_M en función del pH, y la línea sólida es el ajuste obtenido con base en la Ecuación 1.

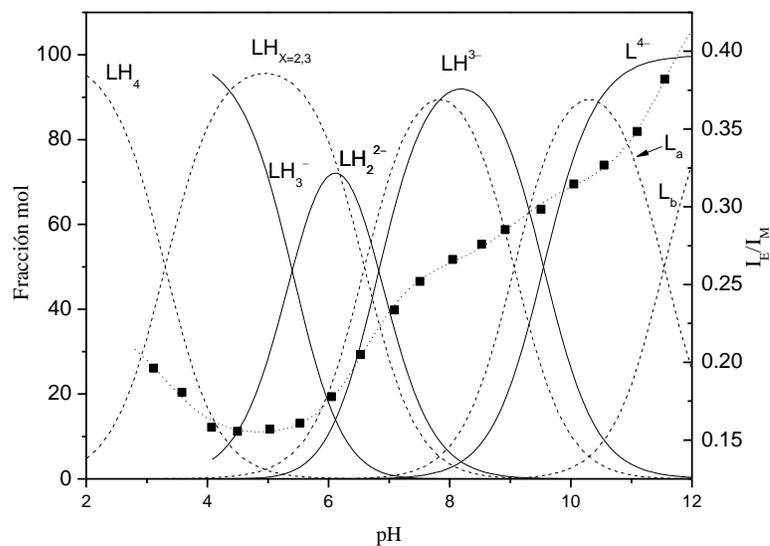


Figura 36. Relación I_E/I_M (cuadros) de $(ttha2an)H_4$ en función del pH y la distribución de especies determinadas por potenciometría (líneas sólidas) y fluorescencia (líneas discontinuas). La línea punteada es el mejor ajuste obtenido de la Ec. (3). Los valores de $\log K_p$ se muestran en las Tablas 3 y 4. Las líneas punteadas a $pH \sim 5$ muestran la suma de las fracciones mol de las especies LH_2^{2-} y LH_3^- , debido a que en esa región de pH no hay ningún cambio relacionado al proceso de protonación.

Tabla 4. Logaritmo de las constantes de protonación de compuestos derivados de antraceno obtenidas por potenciometría en solución de NaCl 0.1 M a 298 K.

Reacción ^a	(dtpa2an)H ₃	(ttha2an)H ₄
H + L = HL	9.52±0.03	9.55±0.05
H + HL =H ₂ L	6.71±0.04	6.83±0.03
H + H ₂ L = H ₃ L	5.10±0.05	5.40±0.04

Los espectros de excitación tomados a la longitud de onda de emisión de monómero son estructuralmente similares a los de (dtpa2an)H₃, con máximos de emisión en las mismas longitudes de onda (346 nm, 359 nm y 384 nm). Los espectros de excitación monitoreados a la longitud de onda de excímero, no se pudieron analizar debido a que la intensidad de emisión fue muy débil. Por otro lado, los espectros de absorción muestran una banda intensa con máximo de absorción a 258 nm además de un grupo de bandas con máximos en 352 nm, 369 nm y 389 nm. Estas últimas en medio alcalino, son anchas y poco estructuradas, a diferencia de medio ácido donde se pueden apreciar más definidas. El ensanchamiento esta relacionado a una perturbación electrónica debido al acercamiento de las unidades antraceno la zona alcalina. Esto se puede corroborar de la gráfica de I_E/I_M donde a pH>10 prevalece la emisión de excímero y a pH ácido (pH~5) desaparece y es donde la banda de absorción es más estructurada.

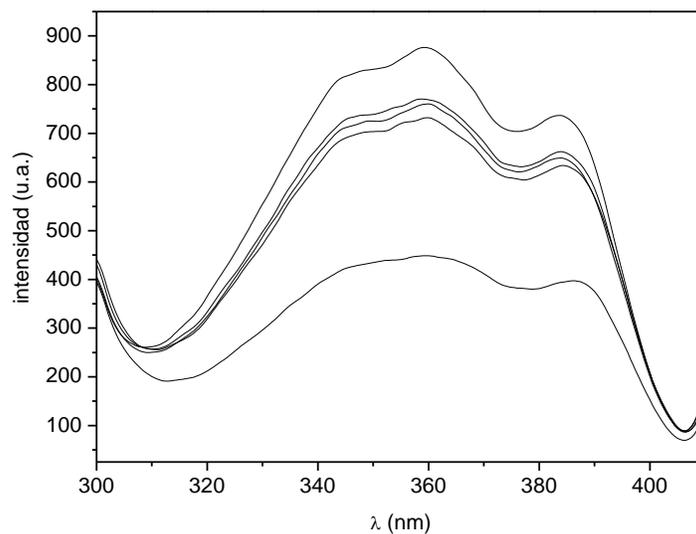


Figura 37. Espectro de excitación de $(ttha2an)H_4$ a diferentes valores de pH. $\lambda_{emi}=422$ nm. $[L]=5 \times 10^{-6}$ M. Los valores de pH de abajo hacia arriba son: 11.5, 10.5, 9.0, 7.5, 4.9.

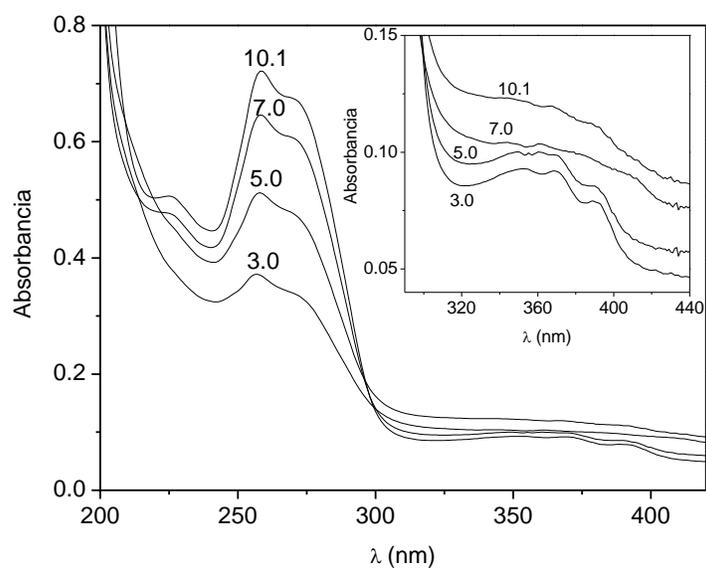


Figura 38. Espectros de absorción del ligante $(ttha2an)H_4$ a diferentes valores de pH, $[L]=5 \times 10^{-6}$ M.

Con el fin de elucidar la secuencia de protonación para este ligante, se llevó a cabo el estudio por RMN de ^1H de protón. Como se puede apreciar en la Figura 39, las señales correspondientes a los protones de la unidad aromática, (etiquetados como Ar1, Ar2 y Ar3) prácticamente no muestran un desplazamiento relacionado con la protonación. Para el caso de los protones de la cadena alifática, se pudieron monitorear las señales de aquellos etiquetados como *a*, *e*, *c* y *d* del Esquema I. Al llevarse a cabo la primera protonación, el protón *e*, es el que más se desplaza hacia campo bajo, seguido por los protones *a*, *c* y *d*. Estudios de protonación llevado a cabo por Achour col.³⁷ con derivados de ttha bis-amida, revelan que la primera protonación ocurre en los átomos de nitrógeno centrales, por lo que en este caso nos hace suponer que se lleva a cabo en el nitrógeno vecino a los protones *a*, *d*, *e* y *f*, (ver Esquema I).

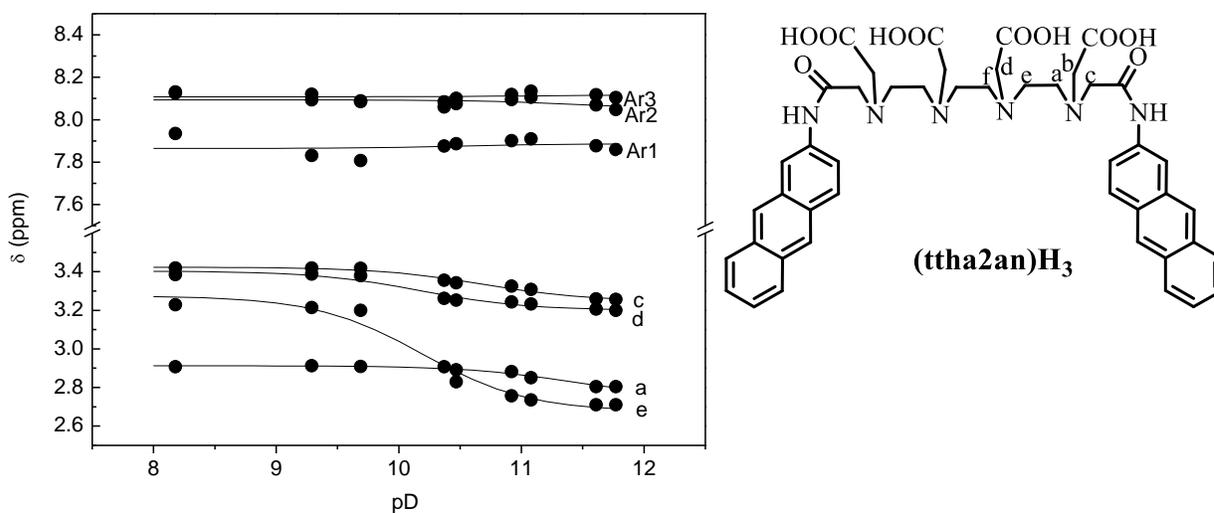


Figura 39. Dependencia de pD en los desplazamientos químicos de $(\text{ttha}2\text{an})\text{H}_4$. Para ver la etiqueta de los protones ver el Esquema I. Las líneas sólidas son el mejor ajuste con base en la ecuación $\delta_j(pD) = \{\delta_{j0} + \sum_n \delta_{jn} \cdot \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\} / \{1 + \sum_n \beta_{Dn} \cdot 10^{-n \cdot pD}\}$ donde β_{Dn} es la constante de protonación total n th en D_2O , y δ_{j0} y δ_{jn} son los valores δ_j de $(\text{ttha}2\text{an})^{4-}$ y $(\text{ttha}2\text{an})\text{H}_n^{(4-n)-}$, respectivamente: $\log K_{D1} = 10.8$; $\delta_{f0} = 2.71$ y $\delta_{f1} = 3.23$.

Los interesantes perfiles de intensidades observados para los derivados de antraceno nos motivan a seguir en la búsqueda de nuevos prototipos que cumplan con las expectativas deseadas para su utilización como sensores de pH a nivel biológico o medioambiental. Por lo anterior es de nuestro interés la obtención de los compuestos derivados de 1-aminoantraceno en su forma pura, y así estudiar sus propiedades fluorescentes y compararlos con los que reportamos en este trabajo.

4. CONCLUSIONES

A. Síntesis y estudios de los derivados de pireno.

En este trabajo se sintetizaron cuatro nuevos ligantes acíclicos, derivados de los ácidos poliaminopolicarboxílicos edta, dtpa y ttha, funcionalizados con 1-pireno (1py) o 1-metilpireno (1mpy), los cuales fueron designados como (ttha1py) H_4 , (edta1mpy) H_2 , (dtpa1mpy) H_3 y (ttha1mpy) H_4 . Los compuestos son solubles en agua y presentan una intensa emisión de fluorescencia tanto de monómero como de excímero de pireno. Con excepción de (ttha1py) H_4 , los compuestos tienen puentes metileno que separan los grupos amida en las cadenas de interconexión de los grupos pireno. La inserción del grupo $-CH_2-$ confiere mayor flexibilidad a los derivados, respecto a los compuestos análogos reportados por nuestro grupo que no lo contienen, y por lo tanto perfiles novedosos de intensidad de fluorescencia con respecto al pH.

Las diferentes conformaciones que adoptan los compuestos en solución al variar el pH dependen tanto de la longitud y naturaleza de la cadena de interconexión, como del estado de protonación de los grupos amina presentes en ella. El efecto combinado del cambio conformacional y la planaridad de los grupos amida genera los perfiles “encendido-apagado” distintivos de cada compuesto. Para los derivados de dtpa y ttha se observó que los ciclos “encendido-apagado” de los derivados de 1-metilpireno son inversos a los de los derivados de 1-pireno.

En todos los casos, la emisión más intensa de excímero la presentan las especies totalmente desprotonadas L^{n-} que predominan en pH alto. Al disminuir el pH, la protonación de las aminas y la consecuente formación de puentes de hidrógeno intramoleculares

desfavorecen el acercamiento de los pireno para formar excímeros. Este efecto fue extremo en el caso de (ttha1mpy)H₄, ya que la primera protonación de la molécula cancela en más del 80% la emisión de excímero. Los estudios de RMN de ¹H revelaron que, al protonarse, la molécula adquiere una conformación enrollada que suprime la aproximación de los pirenos.

B. Síntesis y estudios de los derivados de antraceno.

En este trabajo se sintetizaron también dos nuevos ligantes acíclicos solubles en agua derivados de dtpa y ttha, funcionalizados con 2-antraceno (2an), los cuales fueron nombrados como (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄. Estos compuestos presentan emisión de fluorescencia a 422 nm y 500 nm correspondientes a monómero y excímero, respectivamente. La emisión de excímero de (dtpa2an)H₃ es más intensa bajo condiciones de pH donde predominan, o bien las especies totalmente desprotonadas L³⁻ (pH=10), o bien las totalmente protonadas LH₄⁺ (pH=3), siendo éstas últimas las que muestran la máxima intensidad ($I_E/I_M \sim 0.5$). Este comportamiento es único en la serie de derivados acíclicos sintetizados por nuestro grupo y una posible explicación es la formación de múltiples puentes de hidrógeno intramoleculares que mantienen una conformación favorable para la formación de excímero. Por otro lado, el derivado (ttha2an)H₄ presenta también variaciones en la intensidad de emisión de excímero dependientes del pH. En este caso, el valor máximo de fluorescencia ocurre en la región alcalina donde existe la especie totalmente desprotonada L⁴⁻ ($I_E/I_M \sim 0.38$). A diferencia del derivado (edta2an)H₂ reportado previamente por nuestro grupo, los compuestos (dtpa2an)H₃ y (ttha2an)H₄ presentan emisión de excímero y perfiles de intensidad tipo “encendido-apagado”

en intervalos específicos de la ventana de pH. Esto sugiere su potencial como sensores fluorescentes de pH con posible aplicación a nivel biológico o mediambiental.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Huston, M. E.; Haider, K. W.; Czarnik, A. W., Chelation enhanced fluorescence in 9,10-bis[[2-(dimethylamino)ethyl)methylamino]methyl]anthracene. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110* (13), 4460-4462.
2. Machi L., M. I. C., Pérez-González R., Sánchez M. and Inoue M., Pyrene bichromophores composed of polyaminopolycarboxylate interlink: pH response of excimer emission. *Supramolecular Chemistry* **2009**, *21* (8), 665 - 673.
3. Refugio, P. G. Síntesis y Estudios de Complejación de Dos Nuevos Receptores Acíclicos Derivados de EDTA y las Aminas Aromáticas 2-aminoantraceno y 2-aminoantraquinona. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, 2008.
4. Machi, L.; Santacruz, H.; Sánchez, M.; Inoue, M., Bichromophoric Naphthalene Derivatives of Ethylenediaminetetraacetate: Fluorescence from Intramolecular Excimer, Protonation and Complexation with Zn^{2+} and Cd^{2+} . *Supramolecular Chemistry* **2006**, *18* (7), 561 - 569.
5. Lehn, J., *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*. Federal Republic of Germany, 1995; p 262.
6. Valeur, B., *Molecular fluorescence: principles and applications*. Wiley-VCH: Weinheim [u.a.], 2002.
7. Prodi, L.; Bolletta, F.; Montalti, M.; Zaccheroni, N., Luminescent chemosensors for transition metal ions. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *205* (1), 59-83.
8. Czarnik Anthony, W., Fluorescent Chemosensors of Ion and Molecule Recognition. In *Interfacial Design and Chemical Sensing*, American Chemical Society: 1994; Vol. 561, pp 314-323; Bissell, R. A.; de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Lynch, P. L. M.; Maguire, G. E. M.; Sandanayake, K. R. A. S., Molecular fluorescent signalling with 'fluor-spacer-receptor' systems: approaches to sensing and switching devices via supramolecular photophysics. *Chemical Society Reviews* **1992**, *21* (3), 187-195; Keefe, M.; Benkstein, K.; Hupp, J., Luminescent sensor molecules based on coordinated metals: a review of recent developments. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *205* (1), 201-228.
9. Bargossi, C.; Fiorini, M.; Montalti, M.; Prodi, L.; Zaccheroni, N., Recent developments in transition metal ion detection by luminescent chemosensors. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *208* (1), 17-32.
10. Sousa, L. R.; Larson, J. M., Crown ether model systems for the study of photoexcited state response to geometrically oriented perturbers. The effect of alkali metal ions on emission from naphthalene derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99* (1), 307-310.
11. de Silva, A. P.; de Silva, S. A., Fluorescent signalling crown ethers; 'switching on' of fluorescence by alkali metal ion recognition and binding in situ. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1986**, (23), 1709-1710.
12. Basabe-Desmonts, L.; Reinhoudt, D. N.; Crego-Calama, M., Design of fluorescent materials for chemical sensing. *Chemical Society Reviews* **2007**, *36* (6), 993-1017.
13. Fabbrizzi, L.; Licchelli, M.; Pallavicini, P.; Perotti, A.; Sacchi, D., An Anthracene-Based Fluorescent Sensor for Transition Metal Ions. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1994**, *33* (19), 1975-1977.

14. Ma, L.; Li, H.; Wu, Y., A pyrene-containing fluorescent sensor with high selectivity for lead(II) ion in water with dual illustration of ground-state dimer. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, *143* (1), 25-29.
15. Dong, M.; Wang, Y.-W.; Peng, Y., Highly Selective Ratiometric Fluorescent Sensing for Hg²⁺ and Au³⁺, Respectively, in Aqueous Media. *Organic Letters* **2010**, *12* (22), 5310-5313.
16. Han, J.; Burgess, K., Fluorescent Indicators for Intracellular pH. *Chemical reviews* **2010**, *110* (5), 2709-2728.
17. Cui, D.; Qian, X.; Liu, F.; Zhang, R., Novel Fluorescent pH Sensors Based on Intramolecular Hydrogen Bonding Ability of Naphthalimide. *Organic Letters* **2004**, *6* (16), 2757-2760; Charier, S.; Ruel, O.; Baudin, J.; Alcor, D.; Allemand, J.; Meglio, A.; Jullien, L., An efficient fluorescent probe for ratiometric pH measurements in aqueous solutions. *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43* (36), 4785-4788; Callan, J. F.; de Silva, A. P.; Ferguson, J.; Huxley, A. J. M.; O'Brien, A. M., Fluorescent photoionic devices with two receptors and two switching mechanisms: applications to pH sensors and implications for metal ion detection. *Tetrahedron* **2004**, *60* (49), 11125-11131; Niu, C.; Zeng, G.; Chen, L.; Shen, G.; Yu, R., Proton "off-on" behaviour of methylpiperazinyl derivative of naphthalimide: a pH sensor based on fluorescence enhancement. *The Analyst* **2004**, *129* (1), 20-24; Greiner, G.; Maier, I., Anthrylmethylamines and anthrylmethylazamacrocycles as fluorescent pH sensors-a systematic study of their static and dynamic properties. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **2002**, (5), 1005-1011.
18. Isgor, Y. G.; Akkaya, E. U., Chemosensing in deep red: A squaraine-based fluorescent chemosensor for pH. *Tetrahedron Letters* **1997**, *38* (42), 7417-7420.
19. Wen, Z. C.; Ferreira, J. A. B.; Costa, S. M. B., Novel pH tunable fluorescent sensor with dual recognition mode. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2008**, *199* (1), 98-104.
20. de Silva, S. A.; Zavaleta, A.; Baron, D. E.; Allam, O.; Isidor, E. V.; Kashimura, N.; Percarpio, J. M., A fluorescent photoinduced electron transfer sensor for cations with an off-on-off proton switch. *Tetrahedron Letters* **1997**, *38* (13), 2237-2240.
21. Kawakami, J.; Fukushi, A.; Ito, S., Complexing Behavior of New Naphthalene Derivatives Having Amide Groups as Fluorescent Chemosensors for Alkali and Alkaline Earth Metal Ions. *Chemistry Letters* **1999**, *28* (9), 955-956; Suzuki, Y.; Morozumi, T.; Nakamura, H.; Shimomura, M.; Hayashita, T.; Bartsh, R. A., New Fluorimetric Alkali and Alkaline Earth Metal Cation Sensors Based on Noncyclic Crown Ethers by Means of Intramolecular Excimer Formation of Pyrene. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102* (40), 7910-7917; Nakahara, Y.; Matsumi, Y.; Zhang, W.; Kida, T.; Nakatsuji, Y.; Ikeda, I., Fluorometric Sensing of Alkaline Earth Metal Cations by New Lariat Ethers Having Plural Pyrenylmethyl Groups on the Electron-Donating Sidearms. *Organic Letters* **2002**, *4* (16), 2641-2644; Pedras, B.; Santos, H. M.; Fernandes, L.; Covelo, B.; Tamayo, A.; Bértolo, E.; Capelo, J. L.; Avilés, T.; Lodeiro, C., Sensing metal ions with two new azomethine-thiophene pincer ligands (NSN): Fluorescence and MALDI-TOF-MS applications. *Inorganic Chemistry Communications* **2007**, *10* (8), 925-929.

22. Sancenón, F.; Descalzo, A. B.; Lloris, J. M.; Martínez-Mañez, R.; Pardo, T.; Seguí, M. J.; Soto, J., Open-chain polyazaalkanes functionalised with pyrene groups as sensing fluorogenic receptors for metal ions. *Polyhedron* **2002**, *21* (14-15), 1397-1404.
23. Lodeiro, C.; Lima, J. C.; Parola, A. J.; Seixas de Melo, J. S.; Capelo, J. L.; Covelo, B.; Tamayo, A.; Pedras, B., Intramolecular excimer formation and sensing behavior of new fluorimetric probes and their interactions with metal cations and barbituric acids. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2006**, *115* (1), 276-286.
24. Kim, J. S.; Choi, M. G.; Song, K. C.; No, K. T.; Ahn, S.; Chang, S.-K., Ratiometric Determination of Hg²⁺ Ions Based on Simple Molecular Motifs of Pyrene and Dioxaoctanediamide. *Organic Letters* **2007**, *9* (6), 1129-1132.
25. Hung, H.-C.; Cheng, C.-W.; Ho, I. T.; Chung, W.-S., Dual-mode recognition of transition metal ions by bis-triazoles chained pyrenes. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50* (3), 302-305.
26. Kakizawa, Y.; Akita, T.; Nakamura, H., Syntheses and Complexing Behavior of New Fluorescent Reagents for Alkaline Earth Metal Ions. *Chemistry Letters* **1993**, *22* (10), 1671-1674.
27. Albelda, M.; Díaz, P.; García-España, E.; Bernardo, M.; Pina, F.; Melo, J.; Soriano, C.; Luis, S., Polyamines containing naphthyl groups as pH-regulated molecular machines driven by light. *Chemical Communications* **2001**, *2001* (16), 1520-1521.
28. Alarcón, J.; Aucejo, R.; Albelda, M. T.; Alves, S.; Clares, M. P.; García-España, E.; Lodeiro, C.; Marchin, K. L.; Parola, A. J.; Pina, F.; De Melo, J. S.; Soriano, C., Fluorescent Type II Materials from Naphthylmethyl Polyamine Precursors. *Supramolecular Chemistry* **2004**, *16* (8), 573 - 580.
29. Sclafani, J. A.; Maranto, M. T.; Sisk, T. M.; Van Arman, S. A., An aqueous ratiometric fluorescence probe for Zn(II). *Tetrahedron Letters* **1996**, *37* (13), 2193-2196.
30. Shiraishi, Y.; Tokitoh, Y.; Nishimura, G.; Hirai, T., A Molecular Switch with pH-Controlled Absolutely Switchable Dual-Mode Fluorescence. *Organic Letters* **2005**, *7* (13), 2611-2614; Shiraishi, Y.; Tokitoh, Y.; Hirai, T., A fluorescent molecular logic gate with multiply-configurable dual outputs. *Chemical communications* **2005**, *2005* (42), 5316-5318.
31. Shiraishi, Y.; Ichimura, C.; Hirai, T., A quinoline-polyamine conjugate as a fluorescent chemosensor for quantitative detection of Zn(II) in water. *Tetrahedron Letters* **2007**, *48* (44), 7769-7773; Ichimura, C.; Shiraishi, Y.; Hirai, T., Fluorescence properties of polyamines bearing two terminal quinoline fragments in water. *Tetrahedron* **2010**, *In Press, Accepted Manuscript*.
32. Shiraishi, Y.; Tokitoh, Y.; Nishimura, G.; Hirai, T., Solvent-Driven Multiply Configurable On/Off Fluorescent Indicator of the pH Window: A Diethylenetriamine Bearing Two End Pyrene Fragments. *The Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111* (19), 5090-5100.
33. Shiraishi, Y.; Tokitoh, Y.; Hirai, T., pH- and H₂O-Driven Triple-Mode Pyrene Fluorescence. *Organic Letters* **2006**, *8* (17), 3841-3844.
34. Machi, L.; Muñoz, I. C.; Pérez-González, R.; Sánchez, M.; Inoue, M., Pyrene bichromophores composed of polyaminopolycarboxylate interlink: pH response of excimer emission. *Supramolecular Chemistry* **2009**, *21* (8), 665 - 673.

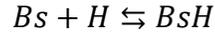
35. Kim, S. K.; Bok, J. H.; Bartsch, R. A.; Lee, J. Y.; Kim, J. S., A Fluoride-Selective PCT Chemosensor Based on Formation of a Static Pyrene Excimer. *Organic Letters* **2005**, *7* (22), 4839-4842.
36. Machi, L.; Santacruz, H.; Sánchez, M.; Inoue, M., Cd²⁺-sensitizing bichromophore: Excimer emission from an EDTA-methylnaphthalene derivative. *Inorganic Chemistry Communications* **2007**, *10* (5), 547-550.
37. Achour, B.; Costa, J.; Delgado, R.; Garrigues, E.; Geraldés, C. F. G. C.; Korber, N.; Nepveu, F.; Prata, M. I., Triethylenetetramine-*N,N,N',N'',N''',N''''*-hexaacetic Acid (TTHA) and TTHA-Bis(butanamide) as Chelating Agents Relevant to Radiopharmaceutical Applications. *Inorganic Chemistry* **1998**, *37* (11), 2729-2740.
38. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, J.; Crouch, S. R., *Fundamentos de Química Analítica*. 2005; p 1065.
39. Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; S., K. G., *Introduction to Spectroscopy*. Thomson Learning, Inc.: United State, 2001; p 579.
40. Skoog, D. A.; Crouch, S. R.; Holler, F. J., *Principios de Análisis Instrumental*. Cengage Learning Editores: 2008.
41. Harris, D. C., *Análisis Químico Cuantitativo*. Reverté: 2006; p 924.
42. Covington, A. K.; Paabo, M.; Robinson, R. A.; Bates, R. G., Use of the glass electrode in deuterium oxide and the relation between the standardized pD (paD) scale and the operational pH in heavy water. *Analytical Chemistry* **1968**, *40* (4), 700-706.
43. Inoue, M., Excel Worksheets for Spectrometry. Universidad de Sonora, 2009.
44. Sarka, L.; Banyai, I.; Brucher, E.; Kiraly, R.; Platzek, J.; Raduchel, B.; Schmitt-Willich, H., Synthesis, equilibrium and NMR studies of lanthanide(III) complexes of the N-mono(methylamide) and N'-mono(methylamide) derivatives of diethylenetriamine-*N,N,N',N'',N'''*-pentaacetic acid. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **2000**, (20), 3699-3703.
45. Dutta, S.; Kim, S.-K.; Patel, D. B.; Kim, T.-J.; Chang, Y., Some new DTPA-*N,N''*-bis(amides) functionalized by alkyl carboxylates: Synthesis, complexation and stability properties. *Polyhedron* **2007**, *26* (14), 3799-3809.
46. Querol, M.; Chen, J. W.; Weissleder, R.; Bogdanov Jr, A., DTPA-bisamide-based MR sensor agents for peroxidase imaging. *Organic letters* **2005**, *7* (9), 1719-1722; Sk, N.; Park, J.-A.; Change, Y.; Kim, T.-J., Gd-Complexes of DTPA-bis(amides) Functionalized by Pyridine and Picolinamide : Synthesis, Thermodynamic Stability, and Relaxivity Properties. *Bull. Korean Chem. Soc* **2008**, *29* (6), 6; Jaszberenyi, Z.; Toth, E.; Kalai, T.; Kiraly, R.; Burai, L.; Brucher, E.; Merbach, A. E.; Hideg, K., Synthesis and complexation properties of DTPA-*N,N''*-bis[bis(n-butyl)]-*N'*-methyl-tris(amide). Kinetic stability and water exchange of its Gd³⁺ complex. *Dalton Transactions* **2005**, (004), 694-701.
47. Stewart, W. E.; Siddall, T. H., Nuclear magnetic resonance studies of amides. *Chemical Reviews* **1970**, *70* (5), 517-551.
48. Inoue, M., Excel® Worksheets for Spectrometry. Universidad de Sonora: 2009.
49. Olah, G. A.; White, A. M.; O'Brien, D. H., Protonated heteroaliphatic compounds. *Chemical Reviews* **1970**, *70* (5), 561-591.
50. Winnik, F. M., Photophysics of preassociated pyrenes in aqueous polymer solutions and in other organized media. *Chemical Reviews* **1993**, *93* (2), 587-614.

51. Letkeman, P.; Martell, A. E., Nuclear magnetic resonance and potentiometric protonation study of polyaminopolyacetic acids containing from two to six nitrogen atoms. *Inorganic Chemistry* **1979**, *18* (5), 1284-1289.
52. Submeier, J. L.; Reilley, C. N., Nuclear Magnetic Resonance Studies of Protonation of Polyamine and Aminocarboxylate Compounds in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry* **1964**, *36* (9), 1698-1706.

6. ANEXOS

Ecuaciones para los ajustes obtenidos por fluorescencia

Para una base monobásica,



La constante de protonación para una base monobásica **Bs** es igual al valor de pK_a que expresa la fuerza del correspondiente ácido **BsH**: $pK_a = \log K_p$.

$$K_p = \frac{[BsH]}{[Bs][H]} \quad \text{Ec. A1}$$

Un parámetro espectral I_j de una base monobásica cambia con la concentración de protón $[H^+]$:

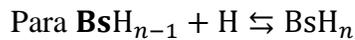
$$I([H^+]) = \frac{I_{Bs} + I_{BsH}K_p[H^+]}{1 + K_p[H^+]} \quad \text{Ec. A2}$$

I_{Bs} es el parámetro espectral I intrínseco de las especies no protonadas **Bs**, y I_{BsH} es de la especie protonada **BsH**. $[H^+]$ se calcula del “pH” al cual se lleva a cabo la titulación.

La Ecuación A2 da una gráfica sigmoïdal. El valor de K_p , o pK_a corresponde al valor de pH del punto de inflexión o a la mitad de la altura del plato.

Cuando una base experimenta varias protonaciones, la constante consecutiva para la protonación j -th esta definida como:

$$K_{pn} = \frac{[BsH_n]}{[BsH_{j-1}][H]} \quad \text{Ec. A3}$$



El $\log K_p$ de una base diacídica esta relacionada al pK_{an} del correspondiente ácido dibásico como:

$$pK_{a1} = \log K_{p2} \quad \text{y} \quad pK_{a2} = \log K_{p1} \quad \text{Ec. A4}$$

la constante de protonación total es β_{pn} esta definida por:

$$\beta_{pn} = \frac{[BsH_n]}{[Bs][H]^n} = K_{p1}K_{p2}K_{p2} \quad \text{Ec. A5}$$

El parámetro espectral I observado a cierto pH esta presente.

$$I_{obs} = \frac{I_0[\text{Bs}] + I_1[\text{BsH}] + I_2[\text{BsH}_2] + \dots}{[\text{Bs}] + [\text{BsH}] + [\text{BsH}_2] + \dots} \quad \text{Ec. A6}$$

I_n es el parámetro espectral de las especies BsH_n con base a la Ecuación A5, I_{obs} es formulada en función de $[\text{H}^+]$:

$$I_{obs}([\text{H}^+]) = \frac{I_0 + I_1\beta_{p1}[\text{H}^+] + I_2\beta_{p2}[\text{H}^+]^2 + \dots}{1 + \beta_{p1}[\text{H}^+] + \beta_{p2}[\text{H}^+]^2 + \dots} \quad \text{Ec. A7}$$

Las constantes de protonación son determinadas por el ajuste de la curva con la Ecuación A7; I_n y β_{pn} son tratadas como parámetros desconocidos. El valor inicial de I_n se puede definir como se explicó para una base monobásica.

Tabla A1. Solubilidad en agua de los compuestos sintetizados

Compuesto	Solubilidad (mM)		
	Agua ¹	Etanol ²	DMF
(edta1py)H ₂	0.1	Insoluble	>1
(edta1mpy)H ₂	0.1	Insoluble	Insoluble
(dtpa1py)H ₃	0.5	~ 0.1	<1
(dtpa1mpy)H ₃	0.5	~ 0.1	<1
(ttha1py)H ₄	0.5	> 0.5	<1
(ttha1mpy)H ₄	1.0	> 0.5	<1
(edta2an)H ₄	0.1	Insoluble	<1
(dtpa2an)H ₃	0.5	~ 0.1	<1
(ttha2an)H ₄	0.5	> 0.5	<1

¹Para solubilizar los compuestos es necesario pasarlos a su forma de sal, agregando Na₂CO₃ (Temperatura ambiente).

²Solubilidad a 50 °C

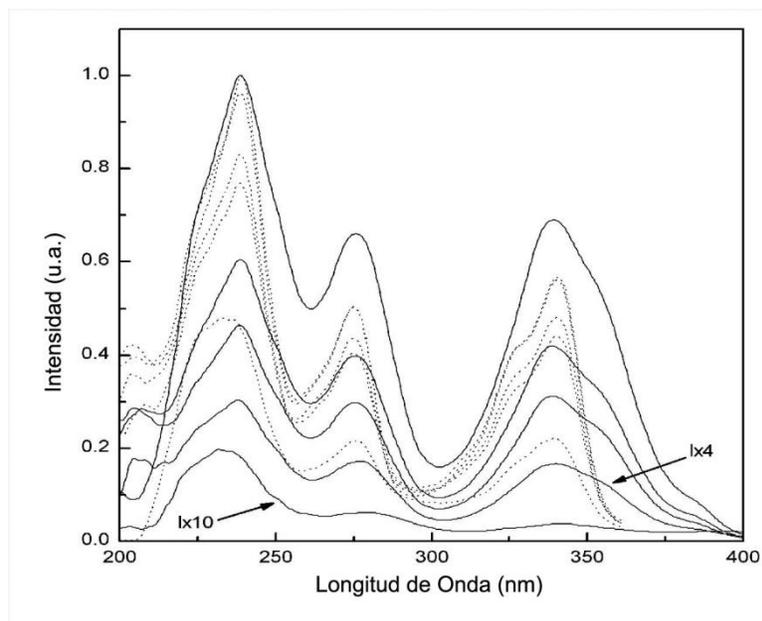


Figura A1. Espectro de excitación de $(\text{edta1py})\text{H}_2$ observado para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas sólidas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; Los valores de pH son: 12.2, 10.0, 8.4, 7.5 and 6.1 de arriba hacia abajo para los espectros observados a la emisión de 480 nm; el orden de pH se invierte para los espectros tomados a 375 nm. La concentración es 2×10^{-6} M. En cada serie de espectros las intensidades están normalizadas al pico más alto del espectro más intenso.

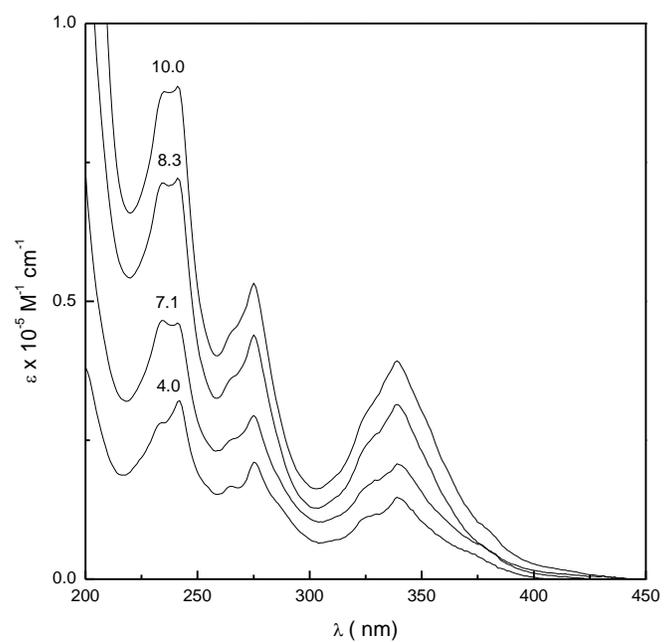


Figura A2. Espectros de absorción de (edta1py)H₂ a diferentes valores de pH. La concentración es $5 \times 10^{-6} \text{ M}$.

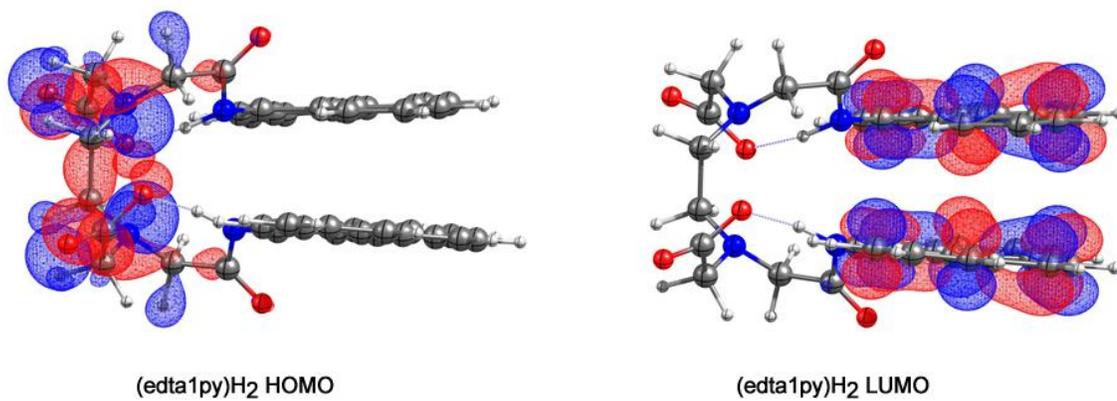
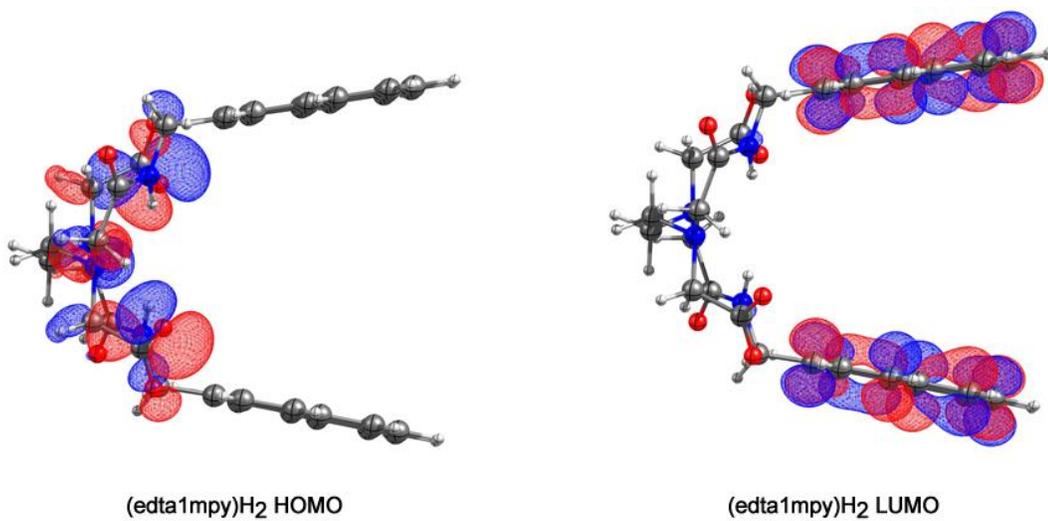


Figura A3. Orbitales frontera HOMO y LUMO de las estructuras (edta1mpy)H₂ y (edta1py)H₂.

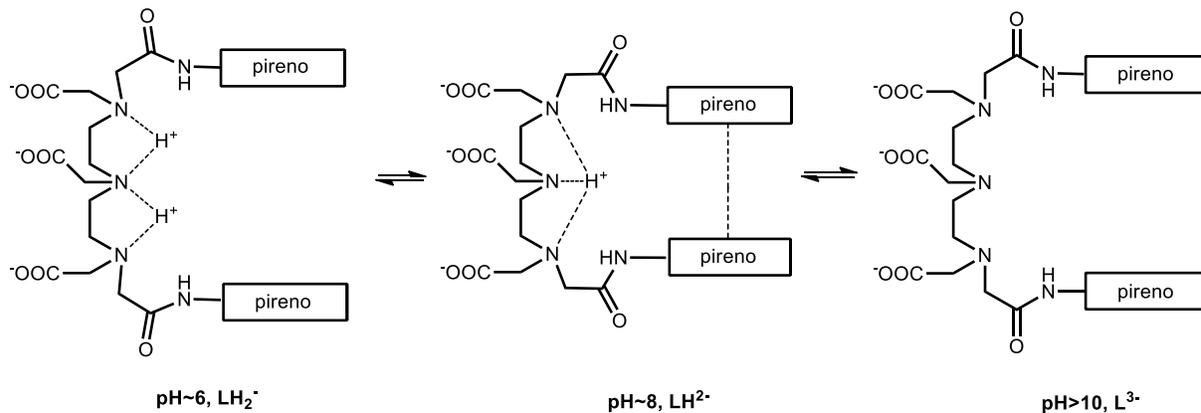


Figura A4. Esquemas de protonación y los cambios conformacionales propuestos para $(\text{dtpalpy})\text{H}_n^{-3+n}$.

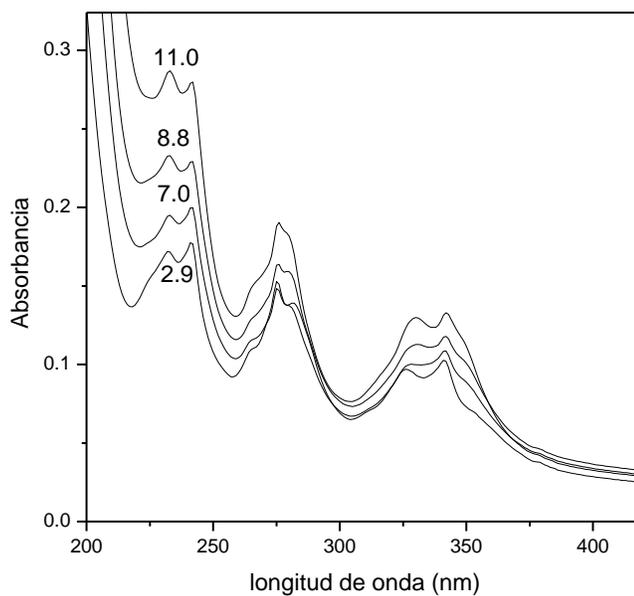


Figura A5. Espectros de absorción de $(\text{dtpalmpy})\text{H}_2$ a diferentes valores de pH. La concentración es $5 \times 10^{-6} \text{ M}$.

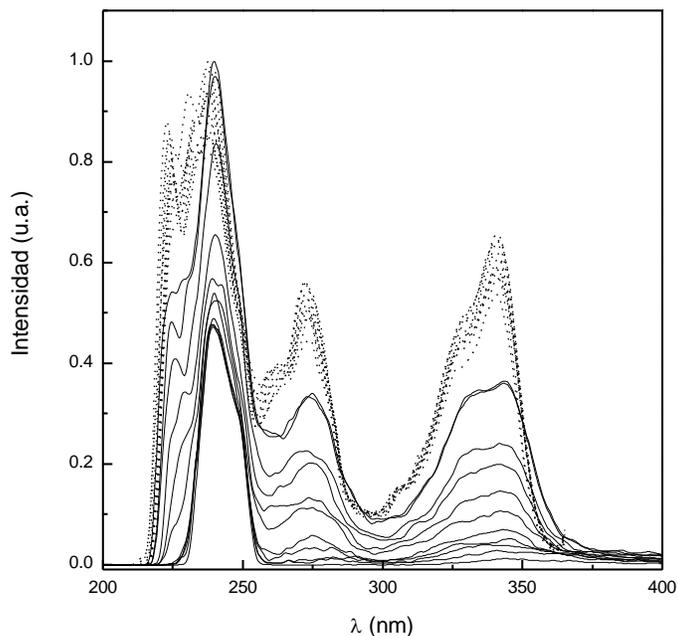


Figura A6. Espectros de Excitación de (tthalmpy)H₄ observados para las bandas de emisión a 375 nm (líneas punteadas) y 480 nm (líneas sólidas) en solución acuosa a diferentes valores de pH; el pH es 11.53, 11.41, 11.05, 10.53, 10.01, 9.44, 8.06, 7.08, 6.01, 3.9 and 2.8 de arriba hacia abajo para ambos grupos de espectros. La concentración es 5×10^{-7} M. en cada grupo de espectros, las intensidades están normalizadas al pico más alto del espectro más Intenso

PRODUCTOS OBTENIDOS

1. Trabajos Presentados en Congresos

1. *Síntesis de Nuevos Ligantes Bicromofóricos de Cadena Abierta con Capacidad de Coordinación Selectiva a Metales y Moléculas Orgánicas en Medio Acuoso*. Cartel presentado en el VIII Coloquio Biental en Ciencias de Materiales, Realizado en Hermosillo, Sonora del 20 al 22 de mayo de 2009. Autores: **Refugio Pérez**, Lorena Machi, Rosa E, Navarro, Hisila Santacruz, Edel Carrillo, Jesús E. ÁvilaManzanares, Blanca A. Durazo.
2. *Determinación Potenciométrica de Especies Fluorescentes de Nuevos Derivados Bis-Amida de Dtpa y Ttha con Pireno y Antraceno*. Cartel presentado en el 44° Congreso Mexicano de Química, celebrado en Puebla, Puebla del 26 al 30 de septiembre de 2009. Autores: **Refugio Pérez González***, Lorena Machi Lara, Felipe Medrano Valenzuela, Hisila Santacruz Ortega, Edel Carrillo Moreno, Jesús Eduardo Ávila Manzanares y Blanca Angélica Durazo Bustamante.
3. *Efecto de la Longitud de Cadena de Interconexión tipo Poliamino-Policarboxílico en las Propiedades Espectroscópicas de Ligantes Bis-Antril*, presentación oral en el Simposio Mexicano de Química Supramolecular realizado en Yauteppec, Morelos del 30 de Agosto al 01 de septiembre de 2010. Autores: **Refugio Pérez González***, Blanca A. Durazo Bustamante, Lorena Machi Lara, Motomichi Inoue Noguchi, Felipe Medrano, Rosa Elena Navarro y Moisés Vera Pacheco.
4. *Luminescent Chemosensors Based on Anthracene Appended to Polyamino-Polycarboxylic Acids*, cartel presentado en I International Conference on New Trends in Luminescence and Phosphor Materials (LUMIPHOM), realizado en la Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora del 4 al 8 de octubre de 2010. Autores: **Refugio Pérez González***, Lorena Machi Lara, Felipe Medrano, Blanca A. Durazo Bustamante y Moisés Vera Pacheco.
5. *Luminescent Chemosensors Based on Anthracene Appended to Polyamino-Polycarboxylic Acids*, cartel presentado en XV Reunión Universitaria de Investigación en Materiales (RUIM), realizado en la Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora del 8 al 10 de diciembre de 2010. Autores: **Refugio Pérez González***, Lorena Machi Lara, Felipe Medrano, Blanca A. Durazo Bustamante y Moisés Vera Pacheco.

2. Publicaciones Relacionadas con el Trabajo de Tesis

1. Lorena Machi, Iliana C. Muñoz, Refugio Pérez-González, Mario Sánchez y Motomichi Inoue. Pyrene bichromophores composed of polyaminopolycarboxylate interlink: pH response of excimer emission. *Supramolecular Chemistry* 21 (2009) 665-673.
2. Refugio Pérez-González, Lorena Machi, Motomichi Inoue, Mario Sanchez, Felipe Medrano. Fluorescence and conformation in water-soluble bis(pyrenyl amide) receptors derived from polyaminopolycarboxylic acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 219 (2011) 90–100.