

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD
COMPLEJANTE DE LIGANDOS NITROGENADOS
DERIVADOS DE BIFENILOS SUSTITUIDOS

JOAQUÍN SANCHIS MARTÍNEZ

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2006

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 6 de Juliol de 2005 davant un tribunal format per:

- D^a. Belén Abarca González
- D. Antonio Doménech Carbó
- D. Pau Ballester Balaguer
- D. Philip A. Gale
- D^a. Barbara Wandelt

Va ser dirigida per:

D^a. Ana María Costero Nieto
D. Salvador Gil Grau
D. Vicent Sanz Persiva

©Copyright: Servei de Publicacions
Joaquín Sanchis Martínez

Depòsit legal:

I.S.B.N.:84-370-6518-6

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115

VNIVERSITAT
E VALÈNCIA



Facultat de Química

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD
COMPLEJANTE DE LIGANDOS NITROGENADOS
DERIVADOS DE BIFENILOS SUSTITUIDOS

Joaquín Sanchis i Martínez

Marzo 2005

Tesis Doctoral en Química Orgánica

ANA M. COSTERO NIETO, Catedrática Numeraria, **SALVADOR GIL I GRAU** y **VICENT SANZ I PERSIVA**, Titulares Universitarios, en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universitat de València

CERTIFICAN QUE

Joaquín Sanchis i Martínez, Licenciado en Química, ha llevado a cabo bajo su dirección el trabajo que lleva por título "**Síntesis y Evaluación de la Capacidad Complejante de Ligandos Nitrogenados Derivados de Bifenilos Sustituídos**" y que queda recogido en esta memoria para la obtención del título de Doctor en Química y autorizan la presentación de la correspondiente tesis doctoral en el departamento de Química Orgánica para que se cumplan los trámites reglamentarios

Dra. ANA COSTERO NIETO

Dr. SALVADOR GIL I GRAU

Dr. VICENT SANZ I PERSIVA

Catedrática Numeraria
en Química Orgánica

Profesor Titular de Universidad
de Química Orgánica

Profesor Titular de Universidad
de Química Orgánica

Burjassot, Marzo de 2005

À ls meus pares

i la meua germana

*“El que sabem és una gota d’aigua
i el que ignorem és l’oceà”*

Isaac Newton
(1643 – 1727)

*“¡Allá vas, valentón del mundo,
corazón de acero, brazos de bronce!
Dios te guíe, otra vez, y te vuelva libre,
sano y sin cautela a la luz de esta vida
que dejas por enterrarte en esta
escuridad que buscas!”*

Don Quijote de la Mancha, cap. XXI (2ª parte)

Miguel de Cervantes
(1547 – 1616)

Agradecimientos

Aún recuerdo cuando tenía 7 años y una mañana entró mi padre en mi habitación a despertarme para ir al colegio. Siempre pasaba un ratito conmigo haciéndome cosquillas para que me levantara. Ese día me preguntó que qué quería ser de mayor. Y ese día le contesté que quería ser científico, premio Nobel de investigación. Y durante toda mi infancia repetí aquella frase una y otra vez cada vez que alguien me preguntaba aquello. Mi padre todavía me lo recuerda a veces. Supongo que sacar adelante esta tesis y llegar a ser doctor es algo que se ajusta bastante bien a lo que en aquel momento imaginaba que era ser científico. Esto hace que me sienta realmente emocionado al haber conseguido llegar hasta aquí puesto que muy pocos sueños de niñez se cumplen.

Sin embargo, en los sueños de los niños no salen los problemas y adversidades que cuesta alcanzar ese sueño. Mucho esfuerzo he invertido y muchas son las cosas que he sacrificado durante este largo tiempo, pero aun así, hubiera sido totalmente imposible llegar a este día sin la ayuda de mucha gente que en mayor o menor medida, me ha apoyado y ha hecho que puedas tener ahora esta tesis en tus manos.

En primer lugar quiero agradecer profundamente a mis directores, Prof. Ana Costero, Dr. Salvador Gil y Dr. Vicent Sanz todo el muchísimo tiempo que me han dedicado durante estos años. Quiero agradecerles toda la ayuda a nivel científico que me han prestado. Quiero agradecerles todas las horas extras que, sin necesidad alguna, han hecho por mí, y quiero agradecerles las veces que se han llevado a casa mis problemas, que han sido muchas. Y también quiero agradecerles lo muchísimo que me han hecho madurar a nivel personal, aunque ellos no se lo quieran creer.

I would like to thank to Dr. J.A. Gareth Williams in the University of Durham (UK), for giving me the opportunity to visit his lab and learn a lot of new techniques, for the amount of time he spent teaching me and explaining me the theory behind the

experiments and for the very kind hospitality he showed during the whole time I was there.

Al Prof. Juan Soto y al Prof. Ramón Martínez-Mañez en la Universitat Politècnica de València, por haberme recibido en su laboratorio durante un breve periodo de tiempo y haberme enseñado a realizar estudios potenciométricos.

Al Dr. Antonio Doménech del Departamento de Química Analítica de la Universitat de València, por los estudios electroquímicos que ha llevado a cabo con algunos de mis ligandos y que han sido de gran ayuda en la discusión de resultados.

A la Dr. Carmen Ramírez del Departamento de Química Orgánica de la Universitat de València por la resolución del espectro de difracción de rayos X en el que se basa gran parte de la discusión de los resultados de esta tesis.

A la Dra. Margarita Parra a quién siempre he recurrido en momentos de ofuscación, y siempre me ha sacado de ellos.

A los Drs. María José Aurell, Amparo Tortajada, Luis Domingo, María Teresa Picher y Rosario Andreu tanto por sus consejos, como por sus palabras de ánimo cuando me veían mala cara por el pasillo. Además quiero agradecer especialmente al Prof. Ramón Mestres que me acogiese en su grupo de investigación durante muchos veranos cuando yo todavía era estudiante e hiciera de este modo que me picase el gusanillo de la investigación.

A Amparo Zapater, en un principio, y sobre todo a la Dra. Eva Brun, por haber sido mis madres dentro del laboratorio y haber tenido la paciencia de enseñármelo todo desde cero.

A la Dra. María José Banyuls porque desde el principio ha estado codo con codo conmigo y me ha ayudado mucho en muchos de mis problemas, científicos y personales. Y a Sergio Peransi, quién también ha colaborado estrechamente en diversos aspectos en mi investigación y además le debo 2 gramos de gracias. Al Dr. Pablo Gaviña, porque en la última etapa, ha ejercido de hermano mayor en muchos aspectos relacionados tanto en lo profesional como en lo personal. Y a Enrique Sotoca (Jarry) por haber sido mi hermano menor casi también desde el principio, y haberme enseñado más Historia, Geografía, Música y Filosofía de la que pensaba que se podía aprender haciendo una tesis en Química. Al resto de gente del laboratorio, con los que he convivido tantas horas que ya casi forman parte de mí. Les doy las gracias a todos ellos por haber aguantado mis gritos, mis enfados, mis stresses y mis prisas, y a cambio haberme regalado sus gritos, sus enfados, sus stresses y sus prisas. Y además de todo esto, haberme obsequiado también con su amistad: Mercedes Torres, Manuel Colera, Gemma Rodríguez, Óscar Ortiz, Jesús Palenzuela, María Sanchis,

Richard Winiewicz, Laura Allan, Alicia Gilabert, Dra. Luisa Ceita, Dr. Miguel Ángel Lázaro, Edgar Leo, Dr. Amiya Krishna, Dr. Félix Villar, Sergio Conejos, Dra. María Kneeteman, Raquel González, Dr. Martín Iglesias y Dr. Ricardo Martínez. Agradezco especialmente a mis "paddawans" de prácticas de verano por haberme ayudado en mi trabajo: José Sáez, Pablo Rodríguez, Raquel Román, María José García, Inma Candel y Alicia.

I would also like to thank to the members of the groups of Dr. Williams, Dr. Steel and Dr. Beeby in the University of Durham for making that place a "second home" for me: Dr. Wendy Leslie (née Goodall), Dr. Andrew Wilkinson, Kathryn Arm, Florian Diwisheck, Karen Findlay, Dr. Amel Garbi, Dr. Samia Amriou, Dr. Dan Whellingan, Dr. Stuart Leslie, Dr. Anne D'Alençon, Chris Teasdale, Dr. Peter Scott and Dr. Ishmael Masesane.

A los miembros del grupo de "Desarrollo y Diseño de Sensores" del Dto. de Química de la Universitat Politècnica de València: Dr. Félix Sancenón, Diego, José Vicente, Dra. María Jesús Seguí y Dra. Ana Belén Descalzo, por la cálida acogida que me dieron durante el periodo que estuve en su laboratorio.

A mis compañeros del Dto. de Química Física y de Química Inorgánica con quienes he compartido carrera, comidas, piscinas y muchas otras cosas: Dra. Begoña Milián, Dr. Alex Gaita, Dr. Alex Soriano, Dra. Alicia Forment, Óscar Rubio, Víctor Ramírez, Vicente Pérez, José Miguel Junquera, Javier Ruiz, Boutaina El Hadri, Montse Ochando, Silvia Ferrer, Silvia Rubio, Lorena Rosaleny, Gloria Olano, Juanjo Serrano y Dani Roca. Y también al Dr. Julio Peiró con quien me une pasado y altura. Al Dr. Rosendo Pou y Dr. Luis Serrano por sus numerosas explicaciones teóricas.

A los miembros del grupo de Química Supramolecular del Dto. de Química Inorgánica por todos los favores que me han hecho durante todo este tiempo: Prof. Enrique García-España, Dra. Teresa Albelda, Dr. Juan Aguilar y la Dra. Pilar Díaz.

Al PAS del Departamento de Química Orgánica y al personal del SCSIE (Servei Central de Suport a la Investigació Experimental) de la Universitat de València, por su trabajo que la mayoría de veces pasa desapercibido y casi nunca es debidamente agradecido pero que resulta crucial para que una investigación funcione. Quisiera agradecer al Dr. Pedro Palanca su predisposición a resolver cualquier problema y por haber perdido mucho tiempo enseñándome el manejo de la mayoría de aparatos del departamento. A Sonia Vilar, Natalia García, Inma Cebrián y Mila por mantenerlo todo siempre en orden. A Vicenta García y Javier Romero porque siempre que he tenido algún problema con la burocracia han estado dispuestos a resolverlo rápidamente. Y dentro del personal del SCSIE quisiera

agradecer a Teresa Sagrado y Rafa Galera (IR y Fluorescencia), Isabel Solana y Justa Medina (RMN), Dra. Rossella Mello, Dra. María Sales Galletero e Isabel Roda (MS) y Marcelo Arias (soplado de vidrio) por su amabilidad y por los miles de favores que les he pedido a todos y que ninguno de ellos me ha negado nunca.

A la Universitat de València, por la beca "V Segles" que he disfrutado durante la realización de este trabajo.

A mis amigos de siempre, de la carrera, de Xilxes, de esgrima y de Xaloc por los buenos momentos que me han hecho pasar durante todos estos años.

Quería agradecer muy especialmente a Pau, Ernest, Elba (Dra. Gomar) y Raquel por la ayuda que me brindaron cuando, sin duda, más falta me hacía. Sin ellos seguro que esta tesis nunca se habría escrito.

Y sobre todo, quería dar gracias a mis padres y a mi hermana, que siempre han estado a mi lado ayudándome y procurando lo mejor para mí. Sin ellos no habría llegado donde estoy ahora, y sé que les hace casi más ilusión que a mí el que hoy defienda esta tesis. Y a Aurelio, que ya es uno de los nuestros.

A todos vosotros (y a los que seguro que se me han olvidado pero también deberían estar aquí), muchísimas gracias

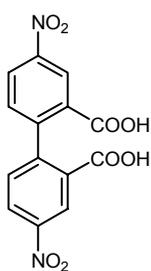
Índice

ÍNDICE	i
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ABREVIATURAS	ix
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
I.1. Química Supramolecular	1
I.2. Reconocimiento molecular	5
I.3. Respuesta al reconocimiento molecular: dispositivos fotoquímicos	7
I.4. Quimiosensores moleculares fluorescentes	9
I.4.1. Clasificación	9
I.4.2. Sensores fluorescentes en el reconocimiento de cationes	11
I.4.2.1. Sensores basados en transferencia electrónica fotoinducida (PET)	11
I.4.2.2. Sensores basados en transferencia de carga fotoinducida (PCT)	17
I.4.2.3. Sensores basados en la formación de excímeros intramoleculares	25
I.4.3. Sensores fluorescentes en el reconocimiento de aniones	27
I.5. Sistemas interruptores redox	34
I.6. Fenómenos de transporte	39
CAPÍTULO II: OBJETIVOS	49

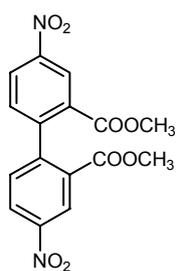
CAPÍTULO III: SÍNTESIS DE LIGANDOS NITROGENADOS DERIVADOS DE BIFENILO	51
III.1. Síntesis de derivados de 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-dinitrobifenilo	53
III.2. Síntesis de derivados de 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenilo	66
III.3. Síntesis de derivados de 2,2'-bis-(aminometilen)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenilo	69
III.4. Conclusiones	78
CAPÍTULO IV: POLIAZAPODANDOS DERIVADOS DE 2,2'-BIS(AMINO-CARBONIL)-BIFENILO	81
IV.1. Estudios preliminares de la capacidad complejante de L1 frente a cationes de metales pesados	82
IV.2. Determinación de las constantes de protonación de L1 , L5 y L4 por métodos potenciométricos	88
IV.3. Estudios de fluorescencia y UV de los ligandos L3 , L7 , L8 y L10	90
IV.4. Estudios de complejación para los ligandos L3 , L7 , L8 y L10	94
CAPÍTULO V: POLIAZAPODANDOS DERIVADOS DE 2,2'-BIS(AMINOMETILEN)-BIFENILO	101
V.1. Características fotofísicas de los ligandos L13 , L14 , L15 y L12	102
V.2. Efecto de la protonación	104
V.3. Estudio de complejación de cationes	106
V.4. Estudio de complejación de aniones	113
CAPÍTULO VI: DISCRIMINACIÓN SELECTIVA DE Zn²⁺ Y Cd²⁺ MEDIANTE LOS SENSORES L2 Y L6	117
VI.1. Experimentos de complejación de Zn ²⁺ y Cd ²⁺ con L2 y L6	118
VI.2. Interpretación de la naturaleza de la interacción de L2 y L6 con Zn ²⁺ y Cd ²⁺	126
VI.3. Estudios electroquímicos sobre L2	129

CAPÍTULO VII: RECONOCIMIENTO DE CAT. METÁLICOS POR EL SENSOR L11	137
VII.1. Características fotofísicas de L11 y efecto de la protonación	138
VII.2. Estudios de complejación de cationes por L11	140
CAPÍTULO VIII: ESTUDIOS DE EXTRACCIÓN Y TRANSPORTE CON L2	153
VIII.1. Experimentos de extracción	154
VIII.2. Experimentos de transporte	161
CONCLUDING REMARKS	169
EXPERIMENTAL PROCEDURES	171
EP.1. Experimental techniques	171
EP.2. Synthesis of ligands	175
EP.3. Metallic complexes	203
EP.4. Structural determination of L1 ·2 HCl and HgI ₂	208
EP.5. Extraction and experiments of transport with L2	210
EP.6. Complexation and sensing experiments with TMB-derived ligands	219
EP.7. Electrochemical studies	222
APÉNDICE A: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FLUORESCENCIA	223
A.1. Absorción de luz uv-visible	223
A.2. Relajación del estado excitado	226
A.2.1. Conversión interna (IC) y relajación vibracional	227
A.2.2. Emisión de fluorescencia	228
A.2.3. Cruce entre sistemas (ISC)	229
A.2.4. Emisión de fosforescencia	229
A.2.5. Emisión de fluorescencia retardada	229
A.3. Tiempo medio de vida del estado excitado	230

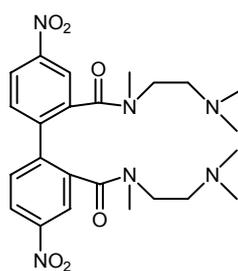
A.4. Rendimiento cuántico	232
A.5. Tipos de espectros de fluorescencia	232
A.6. Amortiguamiento de la fluorescencia	233
A.6.1. Amortiguamiento dinámico. Modelo de Stern-Volmer	236
A.6.2. Transferencia electrónica fotoinducida (PET)	237
A.6.3. Transferencia fotoinducida de carga (PCT) y transferencia intramolecular fotoinducida de carga con rotación intramolecular (TICT)	240
A.6.4. Formación de excímeros y exciplejos	242
A.6.5. Transferencia de protón fotoinducida	244
A.6.6. Transferencia de energía de excitación (EET)	245
APÉNDICE B: MÉTODOS DE CÁLCULO DE CONSTANTES DE COMPLEJACIÓN	251
B.1. Método de la razón molar	251
B.2. Ecuación de Hildebrand-Benesi	252
B.3. Ajuste directo a la ecuación estequiométrica	254
B.4. CLINP 2.1	255
B.5. SPECTIF/32™	255
REFERENCIAS	257
PUBLICACIONES	263



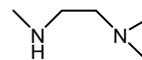
1



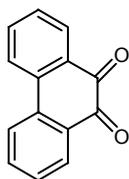
2



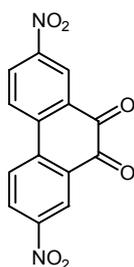
3, L1



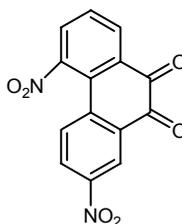
4



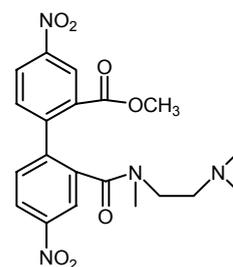
5



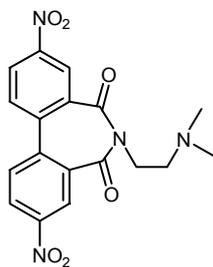
6



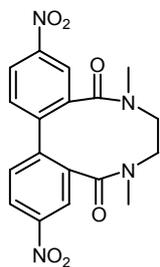
7



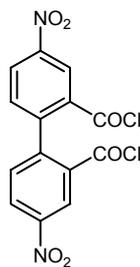
8



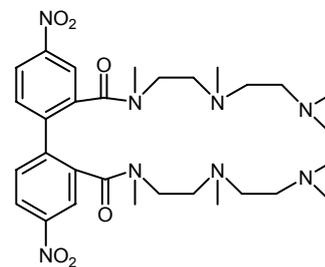
9



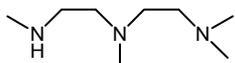
10



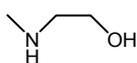
11



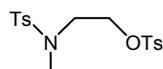
12, L4



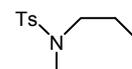
13



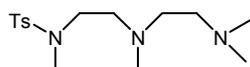
14



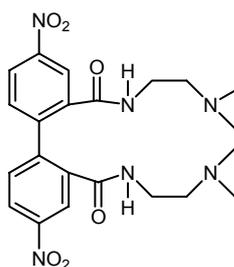
15



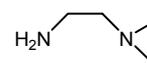
16



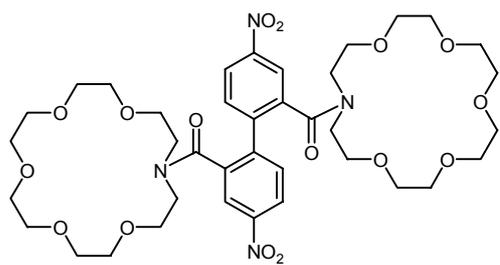
17



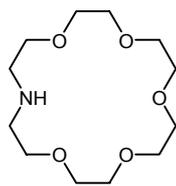
18, L5



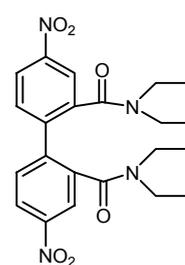
19



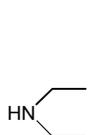
20, L2



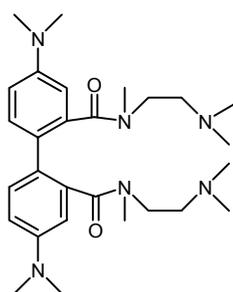
21



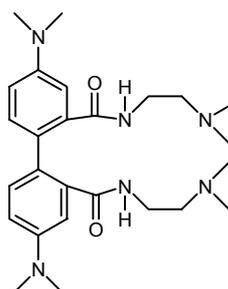
22, L9



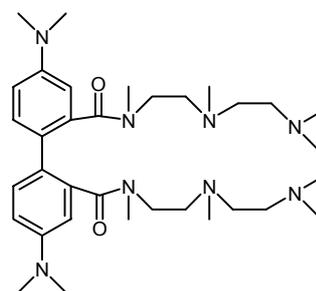
23



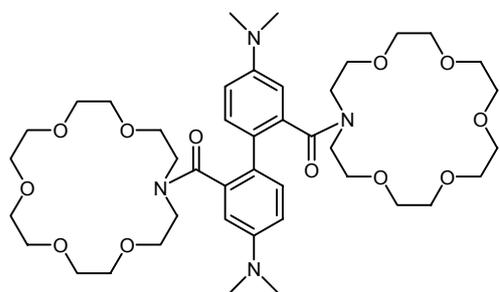
24, L3



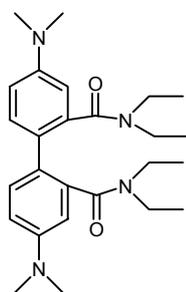
25, L7



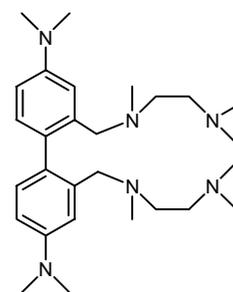
26, L8



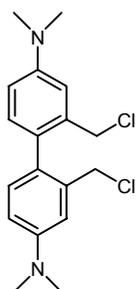
27, L6



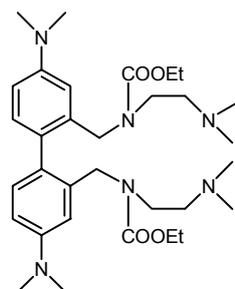
28, L10



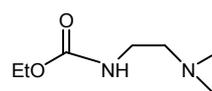
29, L13



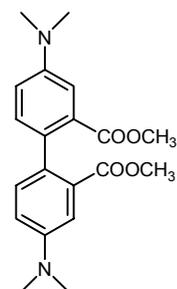
30



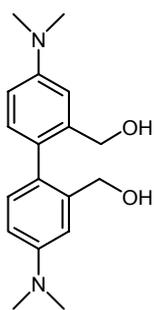
31



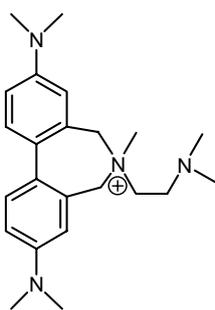
32



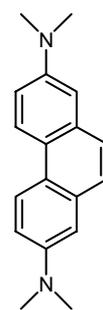
33



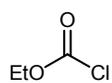
34



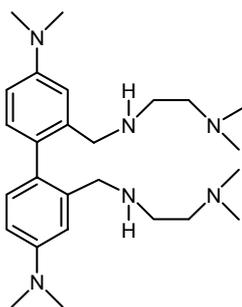
35



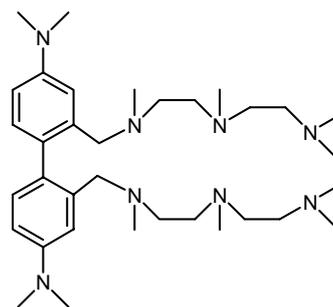
36



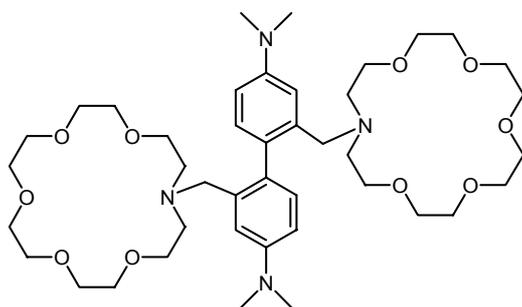
37



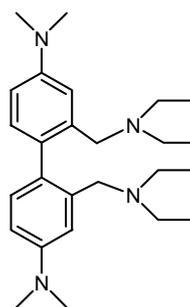
38, L14



39, L15



40, L11



41, L12

Abreviaturas

A	Aceptor
CEF	Incremento de la Fluorescencia por Quelación
CEQ	Incremento del Amortiguamiento de Fluorescencia por Quelación
CV	Voltametría Cíclica
D	Dador
DME	Dimetoxietano
DMSO	Dimetilsulfóxido
EET	Transferencia de Energía de Excitación
ESI-MS	Espectrometría de Masas con Ionización por Electrospray
GCE	Electrodo de vidrio
HOMO	Orbital Ocupado de Mayor Energía
HRMS	Espectrometría de Masas de Alta Resolución
IC	Conversión Interna
ICT	Transferencia Intramolecular de Carga
ISC	Cruzamiento entre Sistemas
LE	Estado Localmente Excitado
LLCT	Transferencia de Carga de Ligando a Ligando
M*	Molécula Excitada
MLCT	Transferencia de Carga del Metal al Ligando
m.p.	Punto de Fusión
n	Orbital no Enlazante
PET	Transferencia Electrónica Fotoinducida
PCT	Transferencia de Carga Fotoinducida
Q	Molécula Amortiguadora
RET	Transferencia Resonante de Energía
S	Estado Singulete de Spin Electrónico
SCE	Electrodo Patrón de Calomelanos
SQWV	Voltametría de Onda Cuadrada
SUMO	Orbital Semiocupado de Mayor Energía
T	Estado Triplete de Spin Electrónico

TBA	Tetrabutilamonio
TFA	Trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TICT	Transferencia Fotoinducida de Carga con Rotación Intramolecular
TLC	Cromatografía de Capa Fina
TMA	Tetrametilamonio
TMB	Tetrametilbencidina
TMBox	Quinonadiimina
TsO	Tosilato
ϕ	Rendimiento Cuántico
λ	Longitud de Onda
π	Orbital Molecular de Simetría pi
σ	Orbital Molecular de Simetría Esférica
τ	Tiempo Medio de Vida del Estado Excitado

CAPÍTULO I

Introducción

Sensores Moleculares fluorescentes en Química Supramolecular

I.1. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

En 1987, Donald Cram, Jean-Marie Lehn y Charles Pedersen fueron galardonados con el premio Nobel de Química “por el desarrollo y uso de moléculas que presentan interacciones de estructura específica de alta selectividad”. Fue el reconocimiento de la comunidad científica a un nuevo campo emergente dentro de la Química: la Química Supramolecular. Más allá de la Química Molecular, basada en el enlace covalente, se extiende el vasto campo de la Química Supramolecular, cuyo reto es el de conseguir el control del enlace intermolecular. Podríamos considerar la Química Supramolecular como sociología molecular¹. Las interacciones no-covalentes definen el enlace intermolecular; el comportamiento entre moléculas individuales y poblaciones; su estructura social como un conjunto de individuos que poseen su propia forma de organizarse; su estabilidad y su fragilidad; su tendencia a autoasociarse o a autoaislarse; su selectividad; su habilidad para reconocerse entre sí; su dinámica, fluidez o rigidez en sus agrupamientos, en sus tensiones, movimientos o reorientaciones.

Las interacciones moleculares constituyen la base de los procesos altamente específicos de reconocimiento, reactividad, transporte y regulación que se dan en la biología, como la unión de un sustrato a una proteína receptora, las reacciones enzimáticas, el ensamblaje de complejos multiproteínicos, la asociación antígeno-anticuerpo, la lectura, transcripción y traducción del código genético, la regulación de la expresión de los genes a través de las proteínas que se unen a ADN, la entrada de

¹ J. M. Lehn, “*Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*”, VCH, Weinheim (Alemania), **1995**.

los virus a las células, la señal de inducción nerviosa que generan los neurotransmisores, el reconocimiento celular, etc. El diseño de sistemas artificiales que presenten comportamientos de alta eficiencia y selectividad requiere el perfecto dominio de las características energéticas y estereoquímicas de las fuerzas intermoleculares no-covalentes (interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, etc.) dentro de una arquitectura molecular definida. Los procesos biológicos que acabamos de citar son la mejor demostración de que estas altas selectividades y eficiencias se pueden conseguir.

La Química Supramolecular es un campo interdisciplinar, que abarca tanto aspectos químicos, como físicos y biológicos de las “especies químicas” (mucho más complejas que las propias moléculas que las forman, pues están unidas y organizadas según específicas interacciones intermoleculares no-covalentes). Este área relativamente joven se asienta sobre la Química Orgánica y sus procesos sintéticos para la construcción molecular; sobre la Química de Coordinación y complejos ión metálico-ligando; sobre la Química Física y los estudios experimentales y teóricos de las interacciones; sobre la Bioquímica y los procesos biológicos ya que todos empiezan con un reconocimiento y unión del sustrato a un receptor; y en la Ciencia de Materiales y las propiedades mecánicas de sólidos. No es de extrañar, pues, que en algunos años pase a llamarse Ciencia Supramolecular.

Pero cualquier novedad siempre surge del pasado: a principios del pasado siglo, Paul Ehrlich ya postuló que las moléculas no actúan si no están unidas, introduciendo así el concepto de receptor². Pero el enlace debe ser selectivo, idea que fue introducida en 1894 por Emil Fischer³, mediante su famoso modelo de “llave y cerradura” para explicar el acoplamiento estérico, que implica complementariedad geométrica y que es la base del reconocimiento molecular. Finalmente, una fijación selectiva, requiere interacción, afinidad entre las dos partes. Esto se puede relacionar con la idea de coordinación introducida por Alfred Werner⁴.

Estos tres conceptos (fijación, reconocimiento y coordinación) constituyen el fundamento de la Química Supramolecular. Y aunque se conocían ya a principios del siglo XX, ha sido necesaria la conjunción de 3 factores para que emerja este nuevo campo de la Química: primero la formulación de un paradigma que de sentido a datos, observaciones y resultados aparentemente inconexos o no relacionados entre sí, así como organizarlos en un cuerpo coherente y sistematizado. El segundo tiene que ver con la aparición de potente instrumentación adecuada para el análisis de estructuras y propiedades de los complejos supramoleculares. La labilidad que exhiben en muchos casos las estructuras formadas, puesto que entre ellas solamente existen enlaces no

² P. Ehrlich, *“Studies on Immunity”*, Wiley, New York, **1906**.

³ E. Fischer, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, **1894**, 27, 2985.

⁴ A. Werner, *Zeitschr. Anor. Chem.*, **1893**, 3, 267.

covalentes de menor energía que los moleculares fue un obstáculo decisivo puesto que no se contaba con técnicas capaces de caracterizarlas. El desarrollo de IR, UV, difracción de RX y especialmente RMN y espectrometría de masas ha sido sin lugar a dudas el factor más determinante. El tercero es la adecuación al ambiente científico y la importancia que encontró esta nueva disciplina no sólo en su propia área científica, sino también en disciplinas cercanas o relacionadas.

La Química Supramolecular, tal y como la conocemos nació en 1967, cuando Charles Pedersen⁵ obtuvo accidentalmente un éter corona (el dibenzo-18-corona-6) **I** (fig. I.1) cuando trataba de sintetizar difenol a partir del catecol semiprotectido y de un éter funcionalizado adecuadamente.

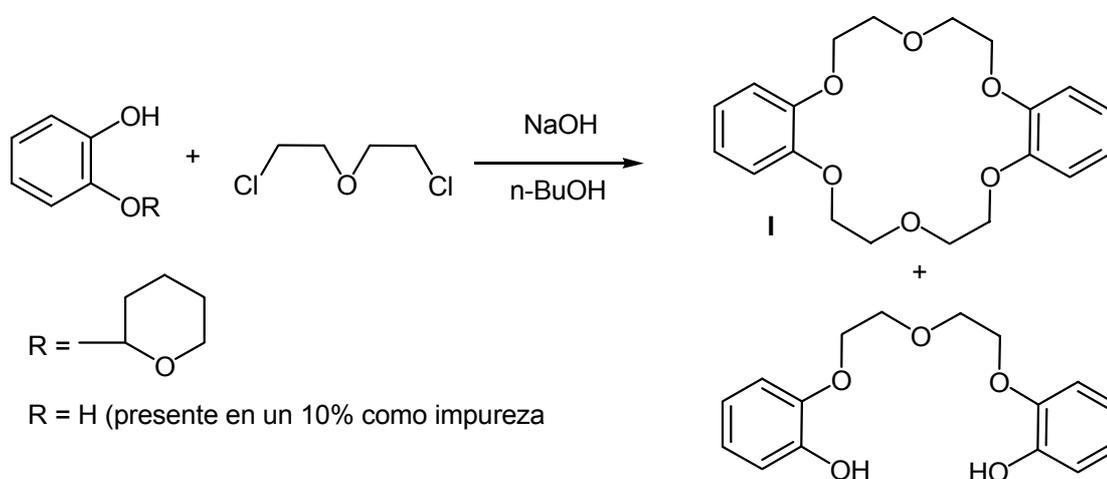


Figura I.1: Primer macrociclo obtenido, casualmente, por Charles Pedersen en 1967.

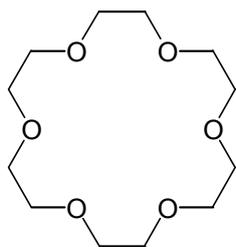
Aquel producto no era soluble en agua, pero se dio cuenta de que si le adicionaba NaOH, enseguida se solubilizaba. Postuló que el poliéter rodeaba al catión Na^+ como lo haría una corona en la cabeza de un rey, y así lo separaría espacialmente de su contranión, formando de este modo un dipolo, aumentando la hidrofilia del complejo orgánico.

A raíz de aquella observación muchos son los compuestos que se han sintetizado buscando el anclaje selectivo de metales alcalinos, compuestos como los éteres corona (**II**) o los criptandos^{6,7} (**III**).

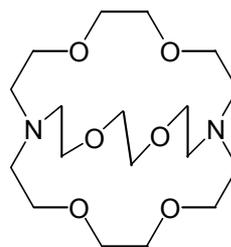
⁵ a) C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 7017; b) C. J. Pedersen, *Angew. Chem.*, **1988**, 100, 1053; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 1053.

⁶ a) B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 2885, 2889; b) B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage, J. Blanzat, *Tetrahedron*, **1973**, 29, 1629.

⁷ J.M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1.

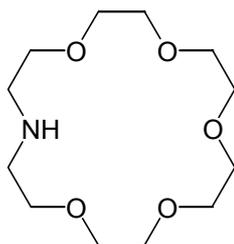


II

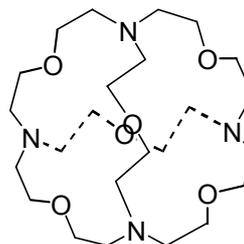


III

Posteriormente, se ha buscado el reconocimiento selectivo de los metales de transición introduciendo heteroátomos más blandos que el O como el N y el S (IV).



IV



V

Otro de los objetivos, menos desarrollado debido a su dificultad, es el reconocimiento de aniones, principalmente basado en poliazamacrociclos que posean una arquitectura muy bien definida y en el que los nitrógenos se encuentren como sales de amonio (V).

Debido al amplio uso de la palabra ligando, y a que muchas veces se utiliza para ambas partes de un complejo, se ha decidido adoptar la terminología, para una supermolécula, de receptor (ρ) y sustrato (σ)^{7,8}, siendo éste último generalmente el componente más pequeño, que se espera que se una al receptor.

La unión selectiva de un sustrato específico σ a su receptor ρ genera la supermolécula $\rho\sigma$ e involucra un proceso de reconocimiento. Si, además de los enclaves de anclaje, el receptor también posee otros grupos reactivos, podrá realizar una transformación química sobre el sustrato, comportándose de esta forma como un reactivo o catalizador supramolecular. Un receptor lipofílico puede actuar como transportador trans-membrana y así translocar un sustrato unido de una parte a otra. Así pues, el reconocimiento molecular, la transformación y la translocación representan las funciones básicas de las especies supramoleculares. De la interacción entre varias subunidades de unión en un correceptor politópico pueden resultar funciones más complejas. Supermoléculas funcionales asociadas a fases o

⁷ J.M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1.

⁸ J.M. Lehn, J. Simon, J. Wagner, *Angew. Chem.*, **1973**, 85, 621, 622; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.*, **1973**, 12, 578, 579.

grupos polimoleculares organizados (capas, membranas, vesículas, cristales líquidos, etc.) pueden llevar a desarrollar dispositivos supramoleculares. Este panorama¹ está representado en la figura I.2:

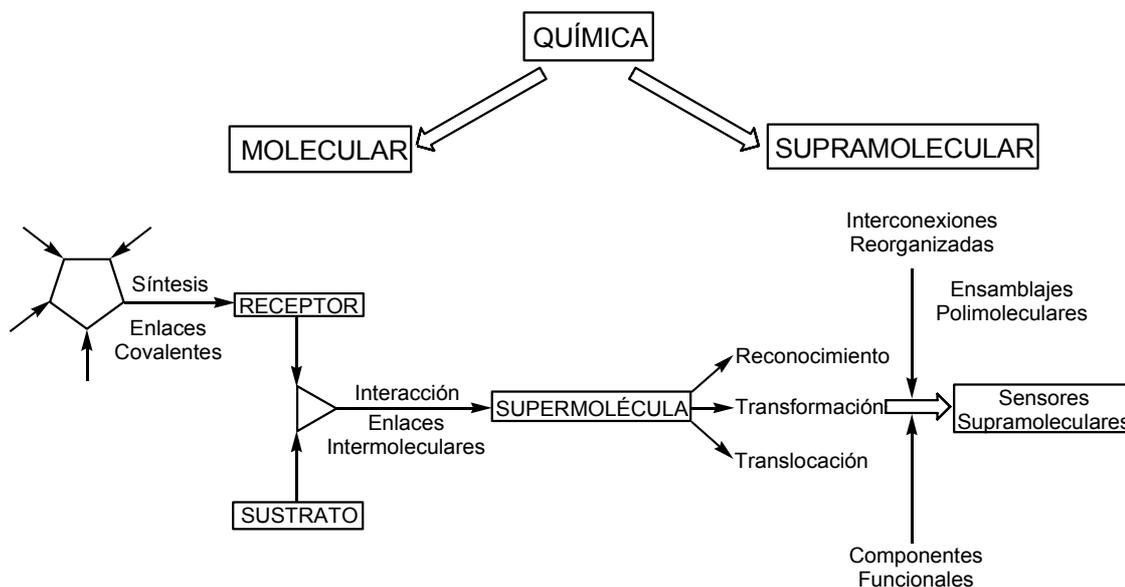


Figura I.2: De la Química Molecular a la Supramolecular: moléculas, supermoléculas, dispositivos moleculares y supramoleculares.

Actualmente, las líneas punteras de investigación están interesadas en los “auto-procesos” (“auto-ensamblaje”, “auto-organización”, “replicación”, etc.) y en el diseño de sistemas supramoleculares programados. Todos ellos vienen regulados por una especie de información molecular, un término que se ha convertido en el dogma básico y crucial en la Ciencia Supramolecular.

I.2. RECONOCIMIENTO MOLECULAR

El reconocimiento molecular viene determinado por la energía y la información involucrada en la selección y anclaje del sustrato por una molécula receptora dada⁷. El mero anclaje no puede ser considerado como reconocimiento, aunque frecuentemente se tome como tal. Se puede decir que el reconocimiento es una unión con un propósito, como un receptor es un ligando con un propósito. Ello implica un proceso de reconocimiento con una pauta a través de un conjunto de interacciones moleculares estructuralmente muy bien definidas. La unión de σ a ρ forma un complejo o supermolécula que se caracterizará por su estabilidad (termodinámica y

¹ J. M. Lehn, “*Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*”, VCH, Weinheim (Alemania), **1995**.

⁷ J.M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1.

cinética) y selectividad, así como por la cantidad de energía e información puesta en juego en el proceso.

De este modo, el reconocimiento molecular implica el almacenamiento (molecular) y la extracción (supramolecular) de información molecular. Estos lemas se han convertido en característicos en el lenguaje de la Química Supramolecular.

Esta información se almacena en el receptor, tanto en sus centros de unión como en el entorno que rodea al lugar en dónde se une el sustrato, así como también en la parte de la molécula que hace que todos estos elementos estén en una arquitectura bien definida. La velocidad de lectura de ésta es tan rápida como el proceso de formación y disociación de la supermolécula.

Además de por el tamaño y la forma, un receptor se caracteriza por su dimensionalidad, su conectividad, su conformación, su quiralidad y su dinámica. Los centros de unión se caracterizan por sus propiedades electrónicas (carga, polaridad, polarizabilidad y atracciones o repulsiones de van der Waals), por su tamaño, su forma, su número, y disposición en el esqueleto del receptor y también por una eventual reactividad que puede acoplar la complejación con otros procesos (como por ejemplo los de protonación, desprotonación, oxidación o reducción). El entorno que rodea estos centros de unión juega también un papel fundamental, actuando a través de su espesor, su lipo- o hidrofilia, su distribución de polaridad (pudiendo ser endo/exo lipo/hidrofílico). Además la estabilidad y selectividad dependen del medio y del resultado del balance entre solvatación (tanto de ρ como de σ) y complejación. Finalmente, para complejos cargados la estabilidad y selectividad viene marcada por las interacciones catión-anión frente a las interacciones ión-medio.

El reconocimiento implica complementariedad geométrica e interactiva entre las partes asociadas. Se puede extender pues el concepto de “llave y cerradura” de Emil Fischer³ al principio de doble complementariedad, que contempla aspectos tanto geométricos como energéticos.

Para conseguir alto nivel de reconocimiento de un receptor ρ hacia un sustrato σ determinado, se necesita una gran diferencia entre las energías libres de unión para con σ respecto a la de otros sustratos. Para conseguir esta gran diferencia entre las afinidades se debe tener en cuenta¹:

- Complementariedad estérica (forma y tamaño) entre ρ y σ , por ejemplo presencia de dominios cóncavos o convexos en lugares adecuados en ρ y σ .
- Complementariedad de interacción, por ejemplo presencia de sitios de unión complementarios (positivo/negativo, carga/dipolo, dipolo/dipolo, dador/aceptor de enlace de hidrógeno, etc.) en la correcta disposición en ρ y σ .

³ E. Fischer, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, **1894**, 27, 2985.

¹ J. M. Lehn, “*Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*”, VCH, Weinheim (Alemania), **1995**.

- Grandes superficies de contacto entre ρ y σ para que pueda haber:
 - a. Múltiples lugares de interacción, pues los enlaces no-covalentes son muy débiles comparados con los covalentes.
 - b. Enlace fuerte global, a pesar de que en principio una alta estabilidad no implica necesariamente alta selectividad, normalmente las diferencias en la energía libre de enlace son mayores cuando la unión es más fuerte y este factor sí puede ser determinante en cuanto a la selectividad.

Además de estos factores, el efecto del medio también juega un papel fundamental, por lo que sería conveniente que ambas partes, ρ y σ , presentaran zonas hidrofílicas e hidrofóbicas, de forma que si el medio es polar, los centros de reconocimiento se encontraran las partes hidrofóbicas o viceversa.

I.3. RESPUESTA AL RECONOCIMIENTO MOLECULAR: DISPOSITIVOS FOTOQUÍMICOS

El reconocimiento molecular es la base del procesamiento de la información a nivel supramolecular. Éste puede dar lugar a cambios en las propiedades electrónicas, iónicas, ópticas o conformacionales de una especie supramolecular, generando con esto una señal. Haciendo uso del almacenamiento y la lectura de información que se da en el reconocimiento molecular y acoplándolo a una transformación o translocación del sustrato, se pueden diseñar especies capaces de procesar la información y las señales a un nivel molecular o supramolecular. Los dispositivos basados en procesos de reconocimiento son moléculas y supermoléculas mediante las cuales se convierte el evento de reconocimiento en procesos y señales. El dispositivo constará de, al menos, un centro de reconocimiento molecular y un centro de generación de señal⁹ (fig. I.3)

⁹ L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, L. Parodi, A. Taglietti, "Transition Metals in Supramolecular Chemistry", Editado por J.P. Sauvage, Wiley, New York, 1999.

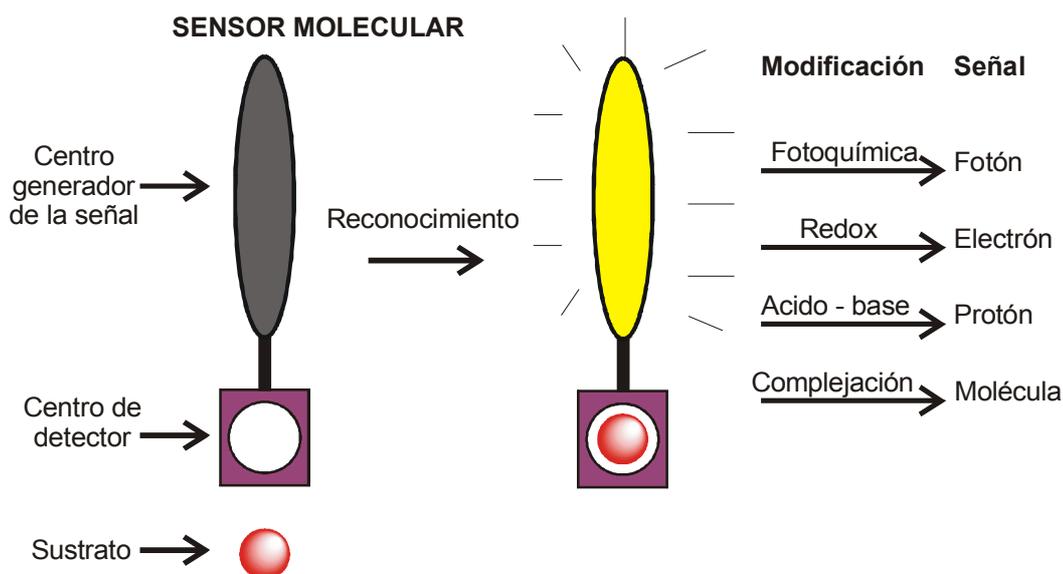


Figura I.3: Reconocimiento y detección. La interacción selectiva microscópica del sustrato con la subunidad receptora se pone de manifiesto en el mundo macroscópico a través de un cambio en una variable físico-química generado por la subunidad sensora, covalentemente unida a la primera.

El centro de reconocimiento molecular debe poseer todas las características citadas anteriormente, como una arquitectura adecuada, un tamaño específico, etc. que sean apropiadas para el tipo de sustrato que se desea reconocer.

La segunda subunidad del sensor molecular es la encargada de poner en contacto la vida molecular con el mundo macroscópico, transmitiendo de alguna forma que ha habido interacción receptor-sustrato. Esta comunicación tiene lugar a través de la variación de una propiedad bien definida en dicha subunidad. Cualquier propiedad que pueda medirse fácilmente y con buena resolución con un instrumento puede valer. Así pues, podemos utilizar como indicador una variación en la intensidad de una banda tanto de absorción como de emisión en la región del UV-visible, el desplazamiento de una señal de RMN o el de una onda voltamperométrica. La emisión de fluorescencia es una propiedad muy apropiada para este fin, por varias razones, entre las que podemos destacar la simplicidad de instrumentación para su detección, la alta sensibilidad que permite la detección de sustrato a nivel de trazas, y, lo más interesante, que se puede percibir visualmente incluso a muy bajas concentraciones.

I.4. QUIMIOSENSORES MOLECULARES FLUORESCENTES

Como consecuencia de las ventajas anteriormente reseñadas, muchos son los sensores fluorescentes desarrollados en la actualidad. Además, la variedad de analitos que se pueden detectar por métodos fluorimétricos es muy extensa: desde cationes (H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+} , Cd^{2+} , etc) o aniones (haluros, citrato, carboxilato, fosfato, ATP, etc) hasta otras tan difíciles de reconocer como las especies neutras (azúcares) o los gases (O_2 , CO_2 , NO etc.). A pesar de que muchos de ellos son incluso comerciales, todavía se necesita diseñar sensores más selectivos y menos perturbables por el medio.

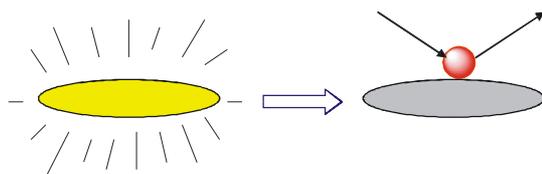
I.4.1. CLASIFICACIÓN

Los sensores moleculares fluorescentes se pueden dividir en tres grandes clases (fig. I.4):

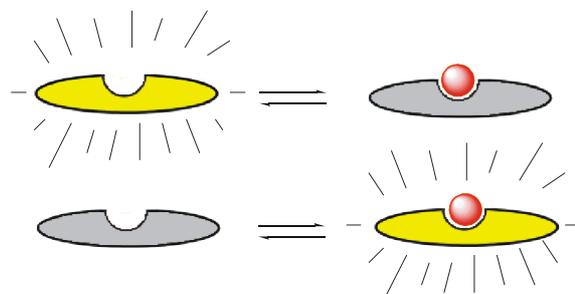
- **TIPO 1:** Sensores en los cuales se da un amortiguamiento (“quenching”) de la emisión de fluorescencia como consecuencia de la colisión directa del analito (p. ej. O_2 , Cl^-) con el fluoróforo.
- **TIPO 2:** Sensores cuyos fluoróforos pueden unirse reversiblemente al analito. Muchas veces, el analito es un H^+ y a estos sensores se les denomina “*indicadores fluorescentes de pH*”. Si el analito es un ión, se utiliza frecuentemente el término “agente quelante fluorescente”. Estos sensores pueden ser de dos tipos. Aquellos en los que la unión del analito produce un amortiguamiento de la fluorescencia (tipo CEQ. Del inglés *Chelation Enhancement of Quenching*, incremento de la amortiguación por quelación) o aquellos en los que se produce un incremento en la emisión (tipo CEF. Del inglés *Chelation Enhancement of Fluorescence*, incremento de la fluorescencia por quelación). En este último caso también se los denomina *sensores fluorogénicos*.
- **TIPO 3:** El fluoróforo está unido a un receptor o bien directamente (integrados) o bien mediante un espaciador (espaciados). El diseño de este tipo de sensores, basados en el reconocimiento iónico o molecular, requiere una especial atención puesto que la parte receptora debe cumplir con unos criterios de selectividad y afinidad por el analito. Los cambios en las propiedades fotofísicas de los fluoróforos después de la interacción con el analito unido se deben a una perturbación en el último a través de un

proceso fotoinducido, como una transferencia electrónica, una transferencia de carga, de energía o la formación o desaparición de un excímero o de un excíplejo. En el caso de que la especie reconocida sea un ion, el receptor se denomina ionóforo y el sensor molecular fluoroionóforo. Como en el caso del TIPO 2, la fluorescencia puede que se amortigüe (CEQ) o que se incremente (CEF) después del reconocimiento.

TIPO 1: AMORTIGUAMIENTO POR COLISIÓN CON UN ANALITO (SIN ASOCIACIÓN)



TIPO 2: FLUORÓFORO INTRÍNSECAMENTE COMPLEJANTE



TIPO 3: FLUORÓFORO UNIDO A UN RECEPTOR

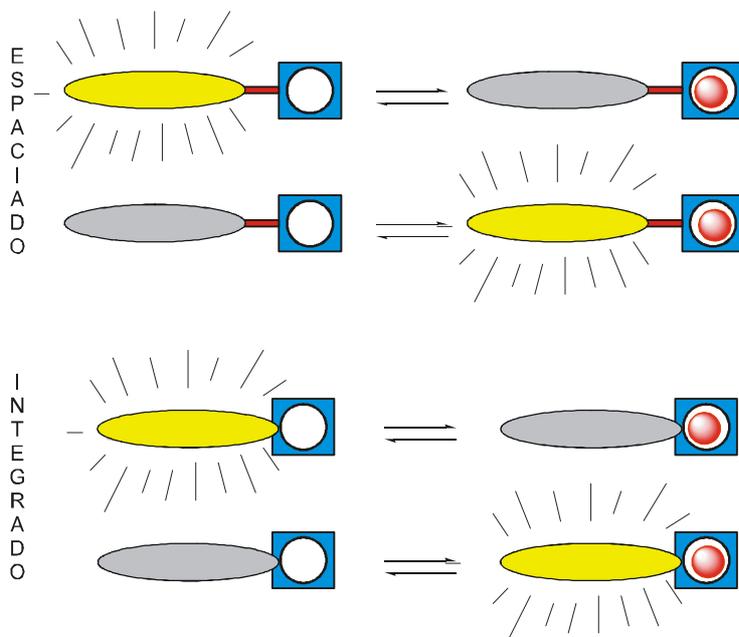


Figura I.4: Principales tipos de sensores moleculares fluorescentes de iones o moléculas.

I.4.2. SENSORES FLUORESCENTES EN EL RECONOCIMIENTO DE CATIONES

El desarrollo de sensores fluorescentes ha sido sinónimo casi exclusivo durante muchos años de sensores para el reconocimiento catiónico. Debido a esta circunstancia, muchas son las estrategias que han surgido en este sentido. En la presente introducción, los sensores se han dividido en función del mecanismo de interacción entre el receptor y el fluoróforo que ponen de manifiesto que se ha producido el reconocimiento del catión: PET, PCT y los basados en la formación de excímeros.

I.4.2.1. SENSORES BASADOS EN TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA FOTOINDUCIDA (PET)

Es el grupo al que pertenece la mayor parte de sensores fluorescentes para el reconocimiento de cationes metálicos y surgieron a partir de los estudios pioneros de Weller^{10,11} sobre la transferencia electrónica fotoinducida (PET). En la figura I.5 se encuentran resumidos los principales procesos, explicados a partir del análisis de las energías de los orbitales frontera. El catión metálico interactuará con el receptor, desencadenando o inhibiendo el PET. Una descripción más detallada del fenómeno PET puede consultarse en (apéndice A, pág. 237).

Existen también ejemplos en los que el catión metálico (que contiene orbitales d), juega un papel activo en la emisión de la fluorescencia. Estos metales deberán poseer actividad redox y así la transferencia electrónica podrá ocurrir del fluoróforo al catión metálico o viceversa. En algunos casos, también se puede dar un intercambio electrónico, pero esta transferencia ya podría considerarse transferencia de energía no-radiativa por el mecanismo de Dexter (apéndice A, pág. 248)

Como ya se ha dicho, la gran mayoría de sensores desarrollados hasta el momento pertenecen a esta clase de sensores, por ello, son muchos los ejemplos que se pueden citar de este tipo de moléculas.

Podemos subdividir estos sensores basados en el efecto PET en dos grandes familias: los que son de tipo OFF/ON, en los que la molécula no presenta fluorescencia y al unirse el metal, la fluorescencia se restaura y las moléculas del tipo ON/OFF, que son moléculas cuya fluorescencia es amortiguada después de que se haya producido el reconocimiento específico del centro metálico.

¹⁰ A. Weller, *Pure Appl. Chem.*, **1968**, 16, 115.

¹¹ D. Rehm, A. Weller, *Isr. J. Chem.*, **1970**, 8, 259.

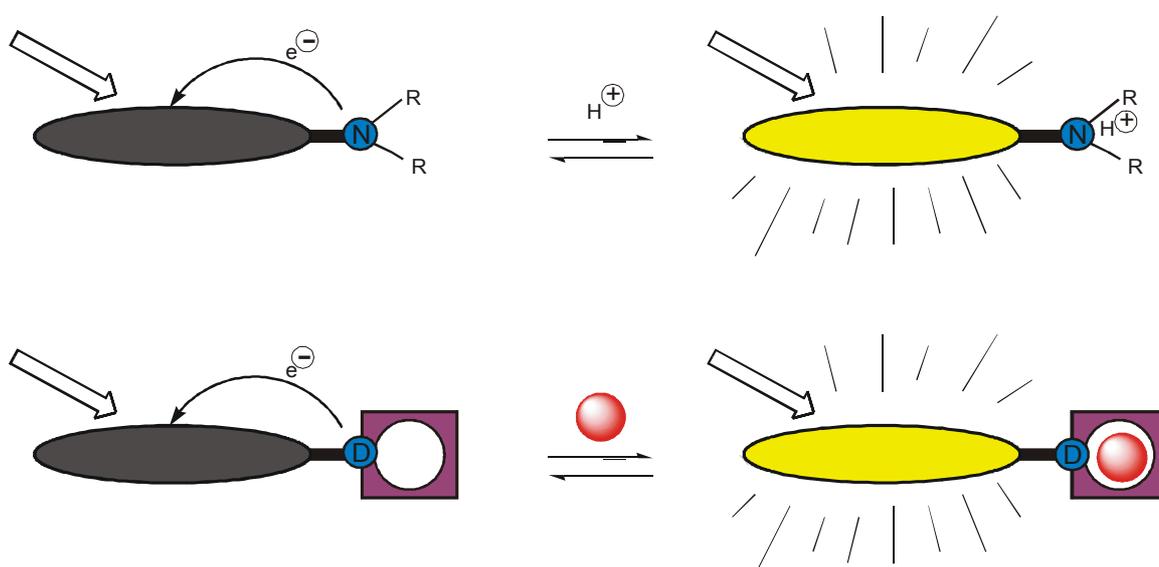
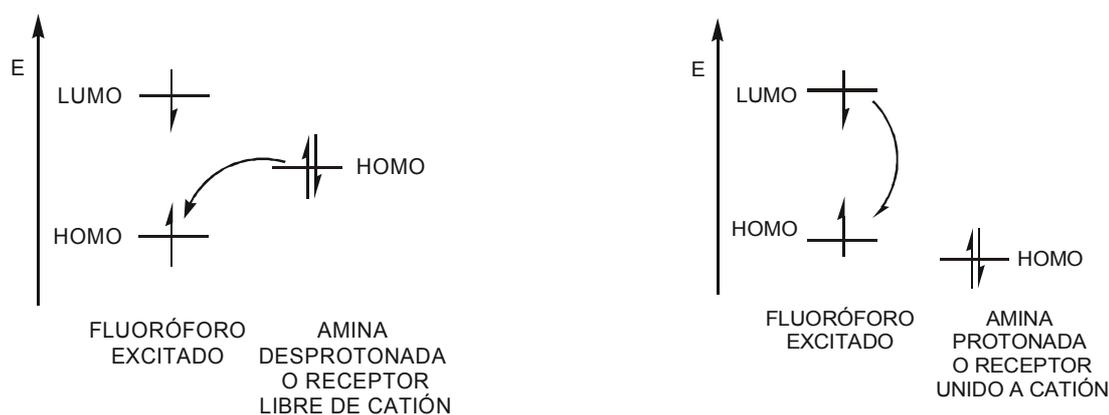


Figura I.5: Mecanismo de PET en los sensores de tipo OFF / ON.

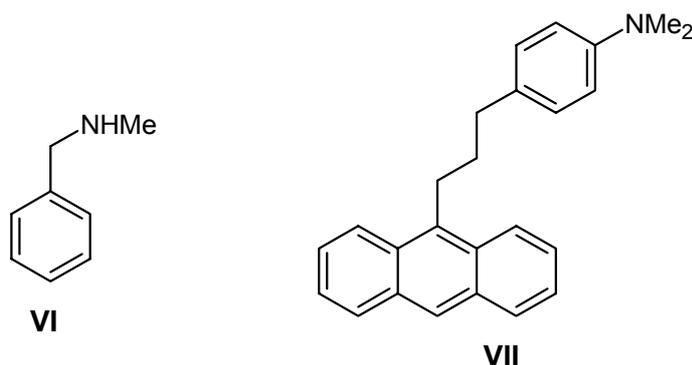
I.4.2.1.1. SENSORES DE TIPO OFF/ON

Generalmente este tipo de sensores están diseñados a partir de las observaciones de Morawetz¹² con **VI** y de Selinger¹³ con **VII**. El efector no presentaba fluorescencia, puesto que los electrones no-enlazantes del nitrógeno poseen una energía adecuada para producir el amortiguamiento de la misma. Cuando un metal se coordina con dicho nitrógeno, utilizando los electrones no-enlazantes de este último, la energía de estos electrones se rebaja drásticamente, por lo que el PET ya no es factible y la fluorescencia de la molécula se restituye. La gran diversidad de sensores de este tipo nace de la amplia gama de subunidades reconocedoras en las que un nitrógeno, generalmente bencílico con respecto al fluoróforo, juega este importante papel de poner de manifiesto que la unión específica ha tenido lugar.

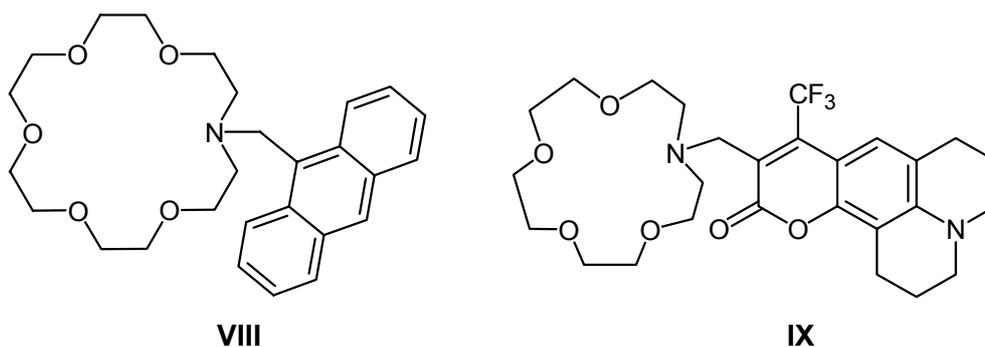
¹² Y.C. Wang, H. Morawetz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 3611.

¹³ B.K. Selinger, *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 2087.

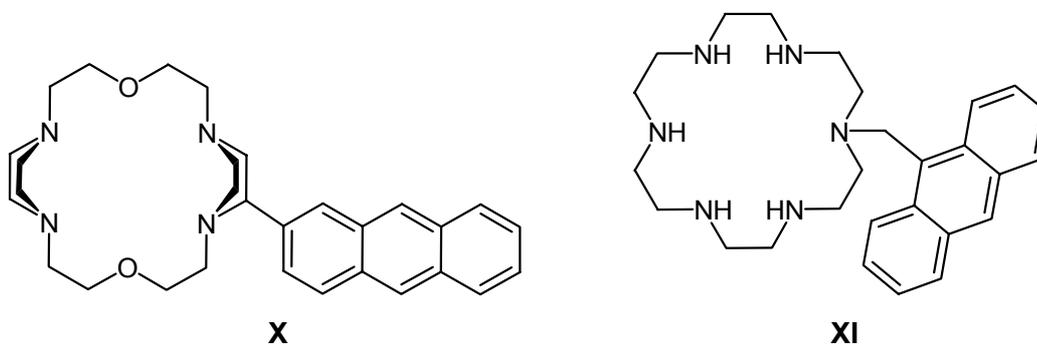
Siguiendo siempre este principio, de Silva¹⁴ sintetizó **VIII**, que demostró ser, a pesar de su simplicidad estructural, un excelente sensor selectivo a K^+ .



Valeur^{15,16,17} también encabezó el desarrollo de estos sistemas con compuestos del tipo **IX** cuyos fluoróforos eran derivados de cumarina y que en función de las subunidades receptoras, eran selectivos a una amplia variedad de iones metálicos de varias regiones de la tabla periódica.



Otro de los laboratorios que más ha contribuido en este sentido ha sido, sin lugar a dudas, el de Czarnik. Como ejemplos más representativos de su trabajo, podemos citar **X**¹⁸, **XI**¹⁹ y **XII**²⁰. Todos ellos son sensores de tipo OFF/ON cuya fluorescencia se restaura al reconocer Zn^{2+} .



¹⁴ A.P. de Silva, S.A. de Silva, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 1709.

¹⁵ J. Bourson, M. N. Borrel, B. Valeur, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 257, 189.

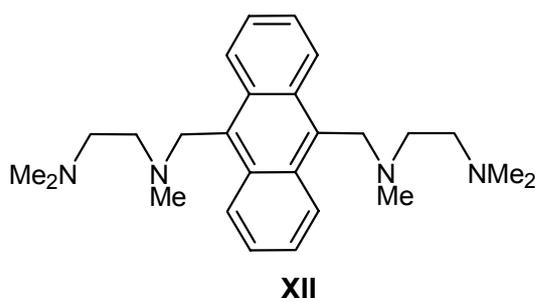
¹⁶ J. Bourson, J. Pouget, B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 4552

¹⁷ J. Bourson, F. Badaoui, B. Valeur, *J. Fluoresc.*, **1994**, 4, 275.

¹⁸ M.Y. Chae, X.M. Cherian, A.W. Czarnik, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 5797.

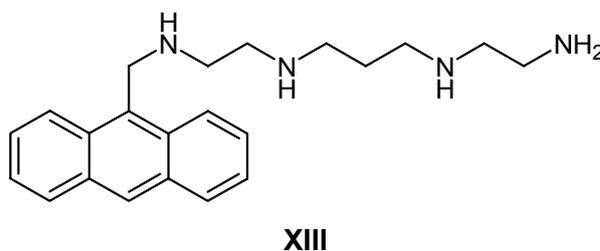
¹⁹ E.U. Akkaya, M.E. Huston, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3590.

²⁰ M.E. Huston, K.W. Haider, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 4460.



El compuesto **XIII**²¹ de Fabbrizzi también estaba encaminado a detectar un catión blando como el Zn (II) debido a la presencia de átomos también blandos de N. Sin embargo, este tipo de sensores tienen un margen de actuación muchas veces limitado por el pH y poseen también una afinidad por el Cu(II) bastante elevada.

Existen también sensores que poseen en sus unidades receptoras estructuras más complejas, como por ejemplo, el compuesto **XIV**, diseñado por Unob²² en el que se utiliza un calixareno unido a una unidad dioxotetranitrogenada para crear selectividad hacia el Zn²⁺. La interacción del catión con los grupos amino, induce un incremento de fluorescencia acorde al principio de PET. Sin embargo, este sensor ante el catión Ni²⁺ experimenta un ligero amortiguamiento de la fluorescencia. Una explicación razonable podría ser la existencia de un PET desde el fluoróforo al metal, aunque tampoco se puede descartar una transferencia de energía por intercambio electrónico (mecanismo de Dexter, apéndice A, pág 248).

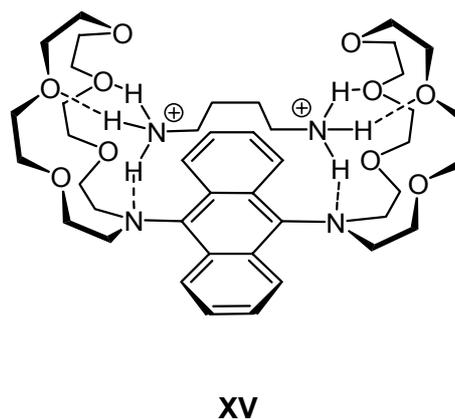
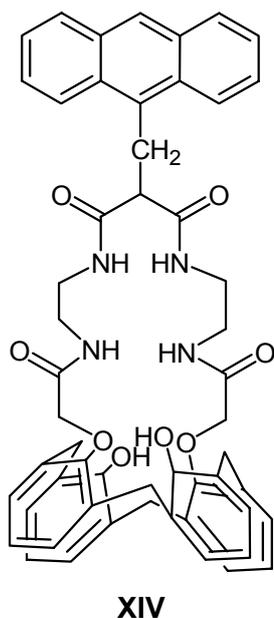


Posteriormente, se ha buscado el reconocimiento de cationes de topología más compleja que los esféricos cationes metálicos. Así, de Silva²³ sintetizó el compuesto **XV** que reconocía el catión 1,4-diamonio-butano.

²¹ L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Taglietti, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 1733.

²² F. Unob, Z. Asfari, J. Vicens, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 2951.

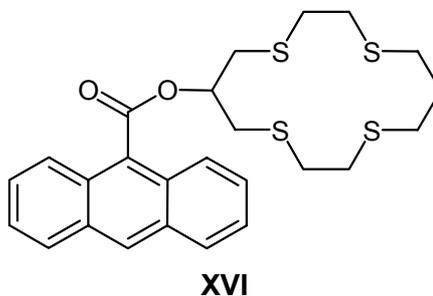
²³ A.P. de Silva, K.R.A.S. Sandanayake, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 1173.



I.4.2.1.2. SENSORES DE TIPO ON/OFF

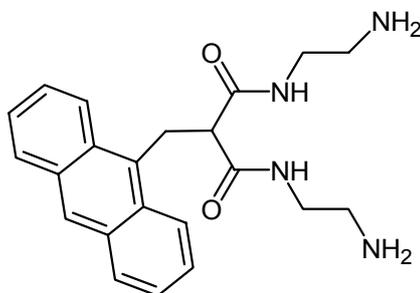
En este tipo de compuestos, la unión del propio sustrato es la que desencadena la transferencia electrónica hacia o desde el fluoróforo (o ambos), dependiendo de los potenciales redox relativos.

Así, por ejemplo, el ligando **XVI** desarrollado por De Santis²⁴ no contiene átomos de nitrógeno, por lo que su fluorescencia no está inicialmente amortiguada. Este ligando, debido a la presencia de los átomos de azufre, capta Cu(II) con mucha facilidad. La unión induce una transferencia electrónica desde el fluoróforo al catión, reduciéndolo a Cu(I). Cationes como Mn (II), Fe(II), Co(II) y Ni(II) no producen ningún efecto sobre la fluorescencia de **XVI**.

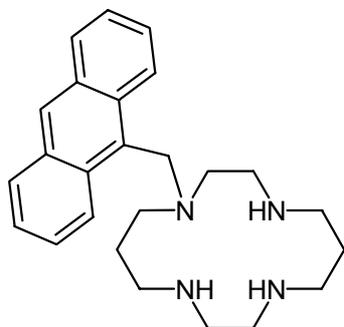
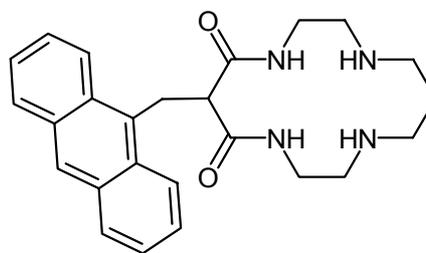


²⁴ G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, C. Mangano, D. Sacchi, N. Sardone, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, 257, 69.

El dispositivo ON/OFF **XVII**²⁵, sintetizado por Fabbrizzi, es sensible a Cu (II) y Ni (II). A pH ácidos, el fluoróforo presenta su emisión natural, puesto que no hay ninguna especie que la amortigüe, y a diferencia de **XIII**, a pHs básicos, la fluorescencia sigue sin estar amortiguada, puesto que el nitrógeno de la amida no se desprotona fácilmente. Aunque el grupo amida no es un buen ligando, sin embargo, Cu (II) y Ni (II) son capaces de arrancar el protón amídico incluso a pH ligeramente ácidos o neutros, de forma que al generarse una carga negativa neta aumenta la capacidad complejante. La energía requerida para arrancar este protón es compensada con la energía que se libera al formar el complejo. En presencia de Cu(II) o Ni(II) la intensidad de emisión es prácticamente nula. Esto no ocurre con Mn (II), Fe (II) y Co (II) quienes, incluso a pH básico, no consiguen desprotonar la amida, por lo que no serán detectados por el sensor.

**XVII**

El interruptor **XVIII**²⁶ presenta un comportamiento muy similar a su pariente no cíclico **XIII**. Pero **XVIII** tiene una característica que lo diferencia de **XIII** y a la vez lo hace inadecuado para un uso como sensor: forma complejos demasiado estables con los sustratos puesto que presenta el “efecto macrocíclico”²⁷, de forma se trata de un “sensor de un sólo uso”.

**XVIII****XIX**

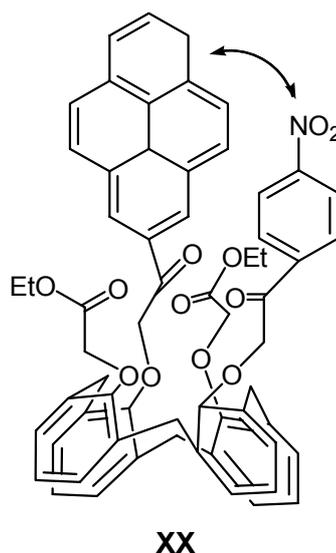
²⁵ L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, D. Sacchi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 1975.

²⁶ L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.*, **1996**, 2, 167.

²⁷ D.K. Cabbiness, D.W. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 2151.

Por el contrario, **XIX**, el análogo cíclico de **XVII** sí presenta reversibilidad, puesto que a pesar de formar complejos muy estables dentro del macrociclo, la zona amídica posee una carga negativa que favorece el anclaje del protón al introducir el complejo formado en un medio ácido. Esta afinidad hace que sea expulsado el catión metálico²⁸. El mecanismo de “quenching” es, del mismo modo que en **XVII** por PET. Puede explicarse debido a la rigidez de la amida, ya que no dejaría doblarse a la molécula para acercar el metal al fluoróforo en cuyo caso se daría ET²⁹ como en **XVIII** y **XIII**. Sin embargo, el grupo amida es permeable al paso de los electrones lo que facilita este mecanismo de PET.

Existen ejemplos de sensores en los que el responsable del amortiguamiento es un cambio conformacional, como en el caso de **XX**, desarrollado por Aoki³⁰, en el que la complejación del Na⁺ impide el acercamiento entre el pireno y el nitrobenzoceno, reduciendo así la posibilidad de PET. El rendimiento cuántico se incrementa de 0.0025 a 0.016.



1.4.2.2. SENSORES BASADOS EN TRANSFERENCIA DE CARGA FOTOINDUCIDA (PCT)

Un sensor basado en el reconocimiento mediante PCT, deberá contener un grupo electrón-atrayente y un grupo electrón-donante. (apéndice A, tabla A.4 pág. 237). El sustrato, generalmente es un catión metálico que puede favorecer o no el estado relajado de transferencia de carga (ICT) (una explicación más detallada del fenómeno

²⁸ L.C. Siegfried, T.A. Kaden, *J. Phys. Org. Chem.*, **1992**, 5, 549.

²⁹ P. Suppan, “*Chemistry and Light*”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1994**.

³⁰ I. Aoki, T. Sakaki, S. Shinkai *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 730.

PCT puede consultarse en apéndice A, pág. 240). Cuando un grupo electrón-dador (como el grupo amino) interacciona con un metal, éste último disminuye el carácter electrón-dador de este grupo, llevando a una reducción en la conjugación, un desplazamiento hacia el azul y una disminución en el coeficiente de extinción molar.

Por el contrario, cuando un catión interacciona con el grupo aceptor, incrementa el carácter electrón-aceptor de éste grupo, el espectro de absorción, por lo tanto se desplazará hacia el rojo, y el coeficiente de extinción molar aumentará. El espectro de fluorescencia, en principio, seguirá la misma tendencia que el espectro de absorción. Además de estos desplazamientos, se pueden observar cambios en el rendimiento cuántico y en los tiempos medios de vida.

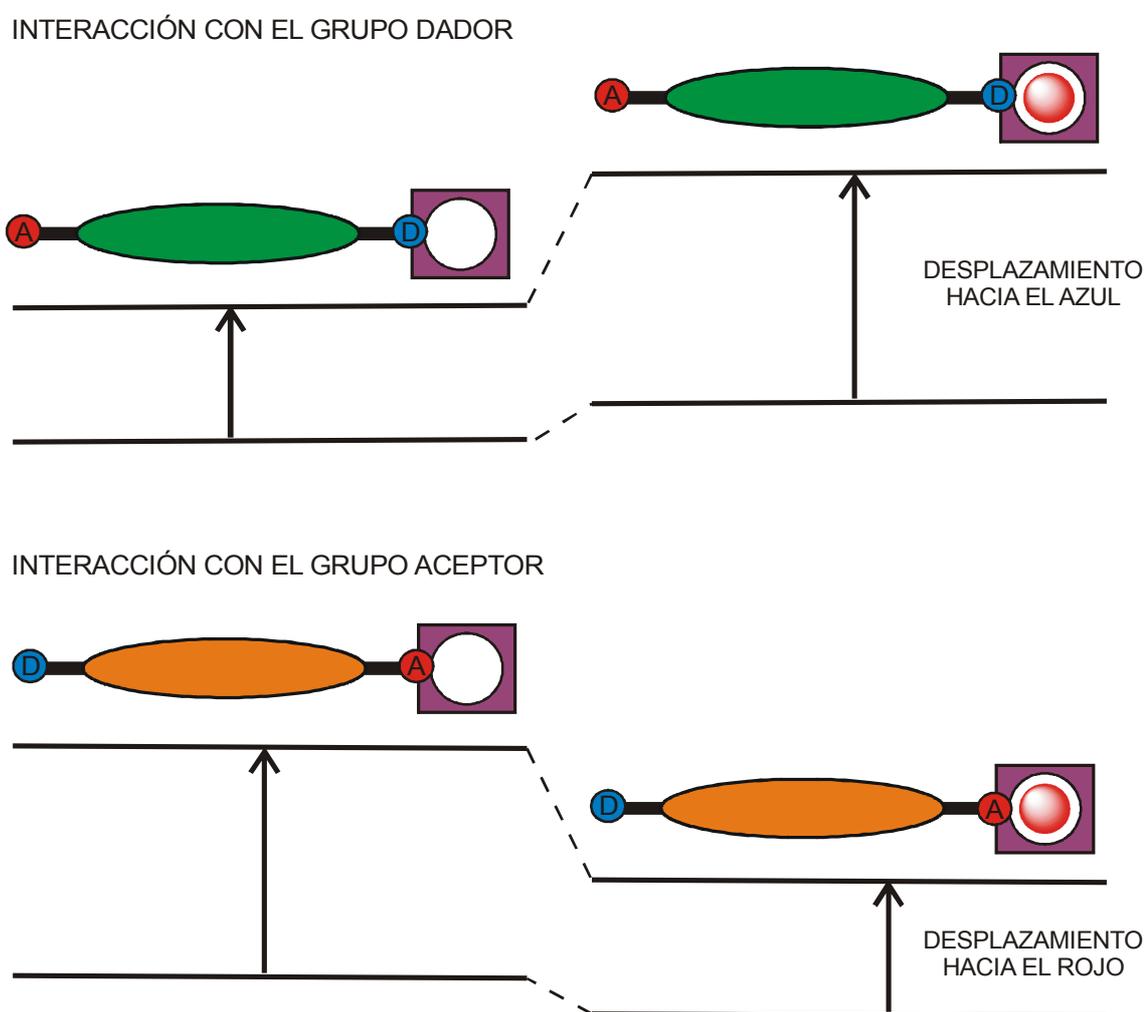


Figura I.6: Mecanismo de transducción del evento de reconocimiento de un catión metálico mediante un sensor PCT.

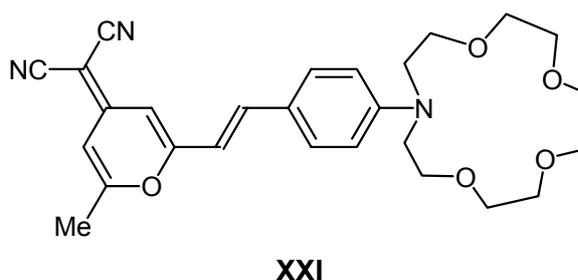
Los cambios fotofísicos en la unión de un catión, también se pueden describir en términos de interacción de dipolo de carga. Consideremos el caso en el que el momento dipolar en el estado excitado es mayor que en el estado fundamental. En

este supuesto, cuando el catión interactúa con el grupo dador, el estado excitado es más fuertemente desestabilizado por el catión que el estado fundamental, y se esperaría un desplazamiento al azul en el espectro de absorción y de emisión. De forma opuesta, cuando el catión interactúa con el grupo aceptor, el estado excitado se estabiliza más que el estado fundamental, lo que conlleva un desplazamiento al rojo en los espectros de emisión y absorción. (fig. I.6)

Pese a no ser tan extensa como la de sensores basados en PET, la cantidad de sensores es muy amplia.

I.4.2.2.1. UNIÓN DEL SUSTRATO SOBRE EL DADOR

El primer sensor que utilizaba este tipo de mecanismo para indicar el reconocimiento, fue el compuesto **XXI**, descrito por Valeur.^{31,32,33}



La popularidad de esta clase de sensores se incrementó notablemente cuando Tsien^{34,35,36,37,38,39} hizo ensayos con receptores de bajo peso molecular, en la detección fisiológica de H^+ , Ca^{2+} , Na^+ y Mg^{2+} . El hecho de que el sensor se pudiera calibrar internamente para eliminar muchas variables microambientales comunes mediante medidas ratiométricas tomadas sobre dos intensidades, hizo que estos sensores tuvieran gran éxito. El compuesto **XXII**⁴⁰ detecta Ca^{2+} , el **XXIII**^{41,42} Na^+ y el **XXIV**⁴³, si bien no es de Tsien, sí que se sirve del mismo principio para detectar Mg^{2+} .

³¹ M.M. Martin, P. Plaza, N. Dai Hung, Y.H. Meyer, J. Bourson, B. Valeur, *Chem. Phys. Lett.*, **1993**, 202, 425.

³² M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, L. Begin, J. Bourson, B. Valeur, *J. Fluoresc.*, **1994**, 4, 271.

³³ M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, F. Badaoui, J. Bourson, J.P. Lefebvre, B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 6879.

³⁴ R.Y. Tsien, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, **1983**, 12, 91.

³⁵ R.Y. Tsien, *J. Physiol.*, **1992**, 263, C720.

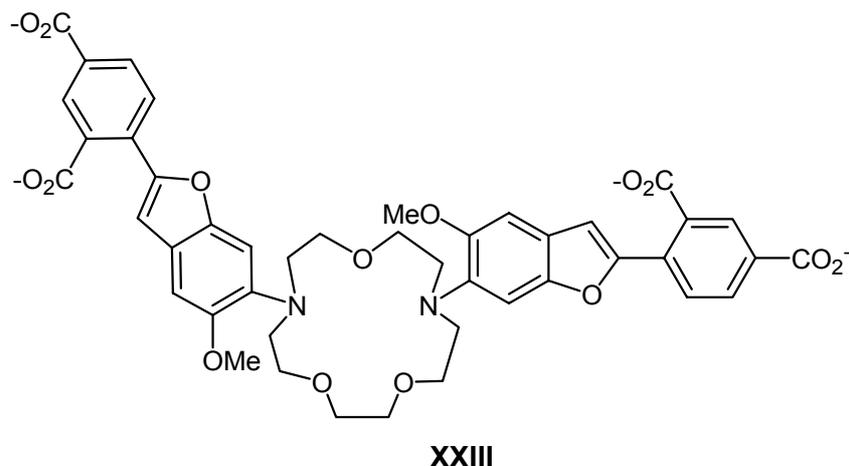
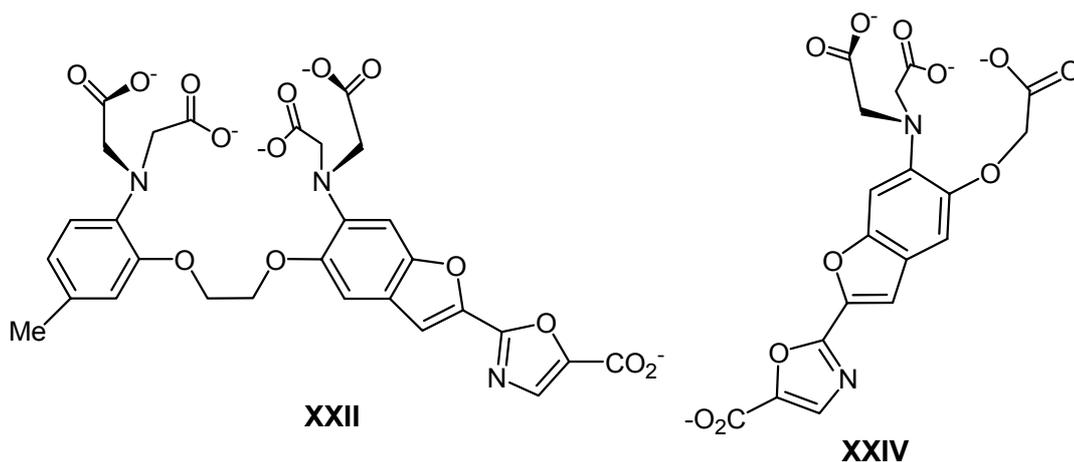
³⁶ R.Y. Tsien, *Trends Neurosci.*, **1988**, 11, 419.

³⁷ R.Y. Tsien, M. Poenie, *Trends Biochem. Sci.*, **1986**, 11, 450.

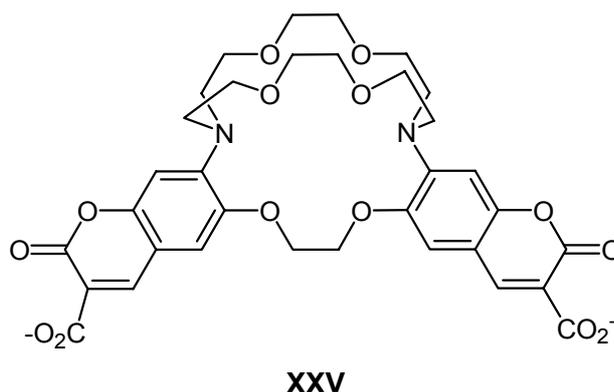
³⁸ R.Y. Tsien, *Annu. Rev. Neurosci.*, **1989**, 12, 227.

³⁹ R.Y. Tsien, "In Optical Methods in Cell Physiology", P. de Weer, B.M. Salzberg, Eds., Wiley, New York, **1986**.

⁴⁰ G. Grynkiewicz, M. Poenie, R.Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 3440.



En un intento de alcanzar mayor selectividad hacia el catión K^+ , Crossley⁴⁴ sintetizó el criptato **XXV**, utilizando como grupo electrón-dador, estructuras de tipo cumarinas.



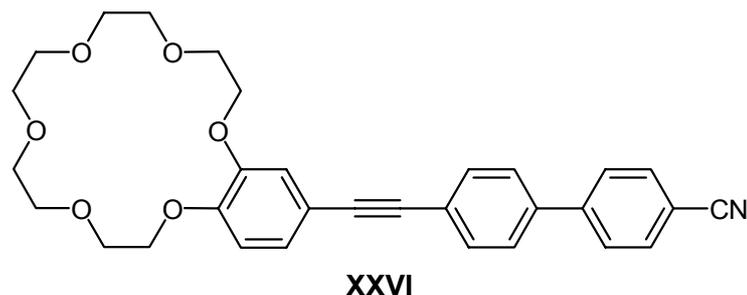
Otros ligandos han sido sintetizados buscando capacidades adicionales a la detección, como el de Shinkai,⁴⁵ cuya molécula **XXVI** posee propiedades estructurales muy similares a las moléculas que originan cristales líquidos termotrópicos.

⁴¹ A. Minta, R.Y. Tsien., *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 19449.

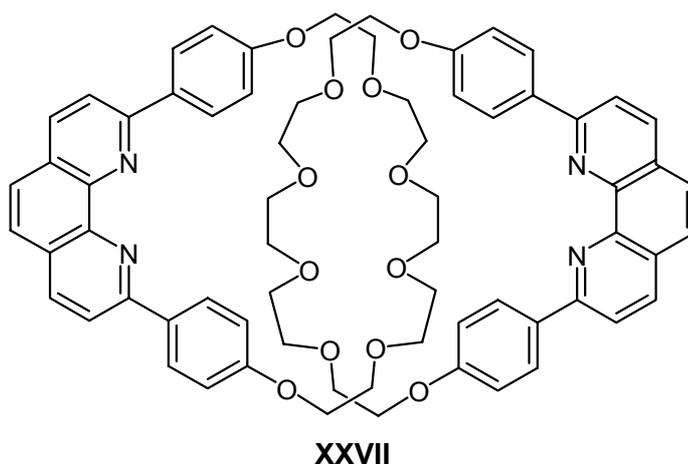
⁴² A.T. Harootunian, J.P.Y. Kao, B.K. Eckert, R.Y. Tsien., *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 19458.

⁴³ B. Raju, E. Murphy, L.A. Levy, R.D. Hall, R.E. London, *Am. J. Physiol.*, **1989**, 256, C540.

⁴⁴ R. Crossley, Z. Goolamali, P.G. Sammes, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 1615.



El catenano de Sauvage⁴⁶ **XXVII** contiene cadenas de polioxoetileno, sin embargo, los receptores efectivos son las subunidades de fenantrolina. El entrecruzamiento mecánico, incrementa la basicidad de **XXVII**, lo que genera catenanos protonados con facilidad. Los diferentes estados de protonación, muestran diferentes espectros de fluorescencia, tanto en longitudes de onda, como en rendimientos cuánticos o tiempos medios de vida del estado excitado. Además la fluorescencia de **XXVII** se puede modular desde 380 a 780 nm con los diferentes sustratos catiónicos. Por eso forma parte de la especie poco común de ligandos regulables.



⁴⁵ G.X. He, F. Wada, K. Kikukawa, S. Shinkai, T. Matsuda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1987**, 1294.

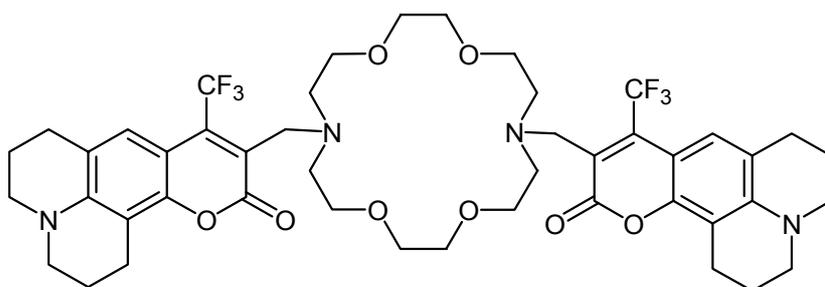
⁴⁶ a) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, J.P. Sauvage, C.O. Dietrich-Buchecker, J.M. Kern, A. Bailal, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 3241. b) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, J.P. Sauvage, C.O. Dietrich-Buchecker, J.M. Kern, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1992**, 88, 553. c) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, C. Hemmert, J.P. Sauvage, *New J. Chem.*, **1994**, 18, 775.

I.4.2.2.2. UNIÓN DEL SUSTRATO SOBRE EL ACEPTOR

Hasta ahora hemos visto sensores en los que el sustrato va unido a la parte dadora de la molécula, con el consiguiente desplazamiento hacia el azul en la emisión de fluorescencia. Muchos ejemplos existen en la actualidad de moléculas en las que el sustrato se une si no directamente en el grupo aceptor, sí suficientemente próximo como para inducir un desplazamiento hacia el rojo en el espectro de emisión.

Así, por ejemplo, en el compuesto de Valeur **IX**, que presentaba un comportamiento de tipo PET OFF/ON al unirse el sustrato en el azacoronando, la presencia del catión cerca del grupo aceptor de cumarina 153 estabiliza la transferencia de carga que tiene lugar entre los extremos de la misma. De esta forma, además del incremento de la fluorescencia por PET, se tiene un desplazamiento hacia el rojo en el espectro de emisión, debido a esta estabilización del estado PCT. Sin embargo, como se ha dicho, este compuesto presenta una pobre capacidad de discriminación entre diferentes cationes metálicos.

Mayor selectividad presenta el compuesto **XXVIII**, muy relacionado con **IX**, en el que existen dos fluoróforos. Los carbonilos de los dos grupos cumarinas participan en la formación de complejos. La interacción entre estos grupos y el catión explica las elevadas constantes de estabilidad y los cambios fotofísicos. Además de los desplazamientos en el espectro de absorción y emisión, se ha observado un interesante incremento del rendimiento cuántico de fluorescencia al unirse cationes K^+ o Ba^{2+} . En los complejos con cationes que ajustan perfectamente en la cavidad de la corona, los grupos carbonilo de las cumarinas se disponen preferentemente en lados opuestos con respecto al catión y de este modo se suprime total o parcialmente el auto-amortiguamiento de la fluorescencia, mientras que con cationes más pequeños que la cavidad, la conformación preferida es aquella en las que los dos carbonilos están del mismo lado y así, la cercanía de ambas cumarinas genera un amortiguamiento estático.

**XXVIII**

I.4.2.2.3. SENSORES TIPO TICT

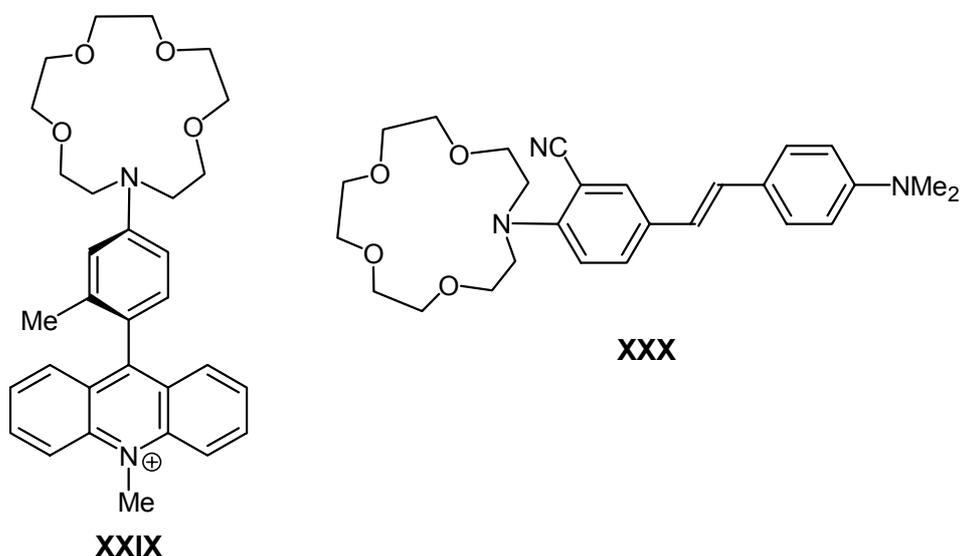
Dentro de los sensores de cationes basados en transferencia de carga, podemos diferenciar otro importante grupo, compuesto por aquellas moléculas en las que, para maximizar esa transferencia de carga, se llega al estado TICT (apéndice A, pág. 240).

Aunque el estado TICT es un estado excitado más, su presencia no siempre se traduce en la aparición de una banda secundaria a diferente longitud de onda en el espectro de emisión. Muchas veces, este estado TICT puede relajar la energía vía IC o por vibraciones internas. Por ello, se puede hablar de estados TICT emisivos y estados TICT no emisivos.

Como en los sensores ICT, el catión podrá enlazarse, bien perturbando las propiedades electrónicas del dador o bien las del aceptor.

Como ejemplo del primer caso tenemos **XXIX**^{47,48}, en el que la unión con el catión Ag^+ , activo desde el punto de vista redox, genera un aumento en la emisión del estado LE en detrimento de la señal del TICT.

En el compuesto **XXX**⁴⁹ se da la situación inversa. El catión Ca^{2+} se une cerca del grupo electro-aceptor, lo que origina a un desplazamiento hacia el rojo en la señal del TICT.



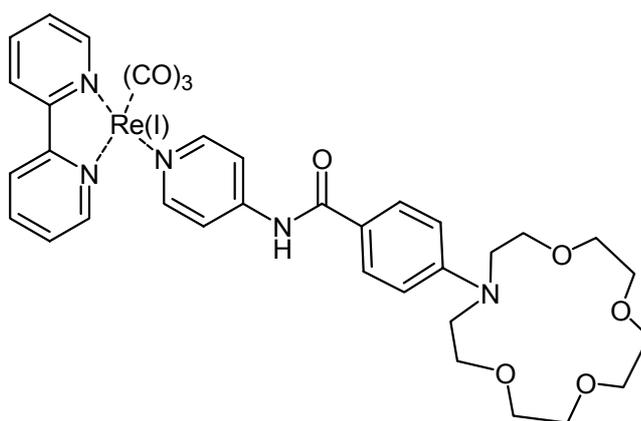
⁴⁷ S.A. Jonker, J.W. Verhoeven, C.A. Reiss, K. Goubitz, D. Heijdenrijk, *Rec. Trav. Chem. Pays Bas*, **1990**, 109, 154.

⁴⁸ S.A. Jonker, S.A. Van Dijk, K. Goubitz, C.A. Reiss, W. Schuddeboom, J.W. Verhoeven, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **1990**, 183, 273.

⁴⁹ S. Delmond, J.F. Létard, R. Lapouyade, R. Mathevet, G. Jonusauskas, C. Rullière, *New J. Chem.*, **1996**, 20, 861.

I.4.2.2.4. SENSORES TIPO MLCT

Las moléculas tratadas anteriormente eran sensores o interruptores de transferencia de carga en los que ésta se da entre un dador y un aceptor de naturaleza orgánica. Existen otros sensores basados en este mismo principio y que dada su importancia es necesario reseñar, si bien brevemente puesto que exceden los límites en los que se centra este trabajo. Se trata de los sensores basados en transferencia de carga del metal al ligando (MLCT, del inglés Metal to Ligand Charge Transfer). Este tipo de sensores están ampliamente descritos en el review escrito por de Silva.⁵⁰ Los sensores MLCT emplean en su estructura metales (básicamente Ru(II) y Re(I)) que fácilmente pueden ceder un electrón en el estado excitado al ligando (normalmente bipyridinas y terpiridinas). La otra subunidad de la molécula constituirá el receptor. En general, el comportamiento de estos ligandos frente a metales es bastante difícil de racionalizar y los mecanismos que intervienen en las interacciones aún está poco claros.



XXXI

A modo de ejemplo representativo, podríamos citar el compuesto **XXXI**,⁵¹ descrito por Moqueen, que aumenta 8 veces su rendimiento cuántico en presencia de Ca^{2+} y 16 veces cuando se protona el nitrógeno del azacoronando. La baja luminiscencia que presenta **XXXI** cuando se encuentra libre, podría explicarse o bien por la evolución del estado excitado generado por MLCT del Re (I) a la bipyridina hacia un estado no-emisivo LLCT (transferencia de carga de ligando a ligando) del arilazacorona a la bipyridina, o bien, también podría considerarse una ruta de amortiguamiento de la luminiscencia, la transferencia electrónica fotoinducida (PET) a través del espaciador

⁵⁰ A.P. de Silva, H.Q.N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A.J.M. Huxley, C.P. McCoy, J.T. Rademacher, T.E. Rice, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1515.

⁵¹ D.B. MacQueen, K.S. Schanze, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 6108.

amídico. En ambos casos, la unión del catión al éter corona reduciría cualquiera de los procesos de amortiguamiento.

I.4.2.3. SENSORES BASADOS EN LA FORMACIÓN DE EXCÍMEROS INTRAMOLECULARES

Este tipo de sensores se caracteriza por la presencia de dos fluoróforos en la misma molécula. El espectro del excímero (apéndice A, pág. 242), normalmente es diferente al de la molécula sin interacción entre sus partes debido al desplazamiento hacia el rojo que genera la estabilización por apilamiento π entre los fluoróforos y a la falta de modos vibracionales disponibles para relajar la energía por medios no-emisivos.

Podemos imaginar dos aproximaciones para el diseño de sensores de tipo excímero intramolecular (fig. I.7 y I.8)

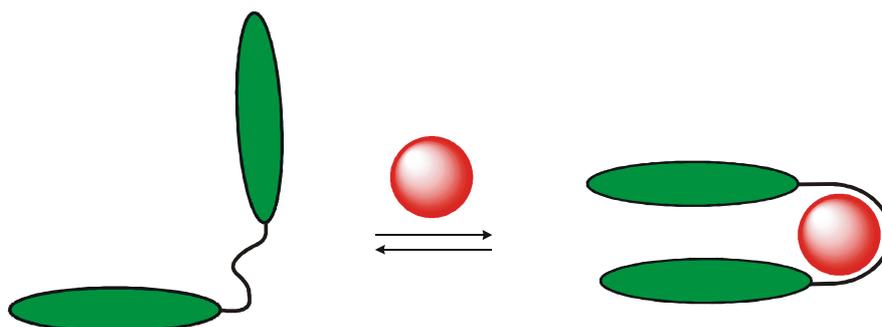


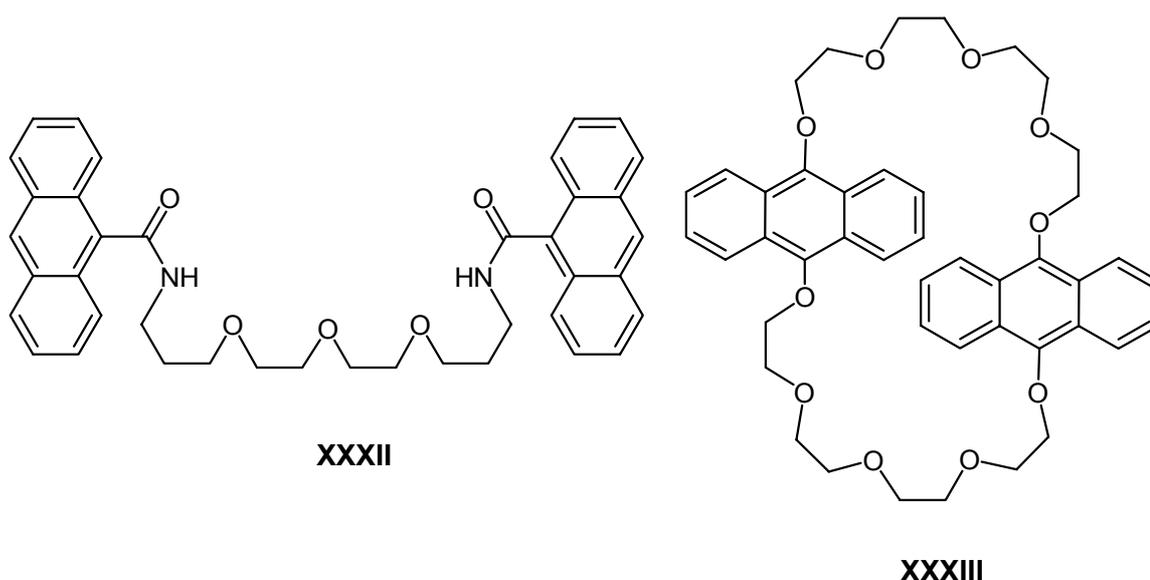
Figura I.7: Molécula en la que la interacción con el metal induce el apilamiento de grupos aromáticos fluorescentes, con la consiguiente aparición de la banda de excímero.

El trabajo de Nakamura⁵² se englobaría dentro del primer tipo (fig I.7). La presencia de Ca^{2+} induce en **XXXII** un elevado incremento en la señal del excímero.

Un ejemplo más de este tipo de estrategia sería el compuesto **XXXIII**, sintetizado por Bouas-Laurent y Desvergne⁵³, en el que la entrada del primer catión de Na^+ , incrementa la señal generada por el excímero, así como preorganiza la molécula para favorecer la entrada de un segundo catión Na^+ .

⁵² Y. Kikazawa, T. Akita, H. Nakamura, *Chem. Lett*, **1993**, 1671.

⁵³ H. Bouas-Laurent, A. Castellan, M. Daney, J.P. Desvergne, G. Guinand, P. Marsau, M.H. Riffaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 315.



A la segunda aproximación (fig. I.8) correspondería el compuesto **XXXIV**, surgido de una colaboración entre los grupos de Lehn y Bouas-Laurent,^{54,55} en el que la presencia del catión 1,6-diamoniohexano, amortigua la señal del excímero, puesto que se intercala entre las nubes electrónicas de cada uno de los antracenos, deshaciendo de este modo el apilamiento π que formaban éstos en su ausencia.

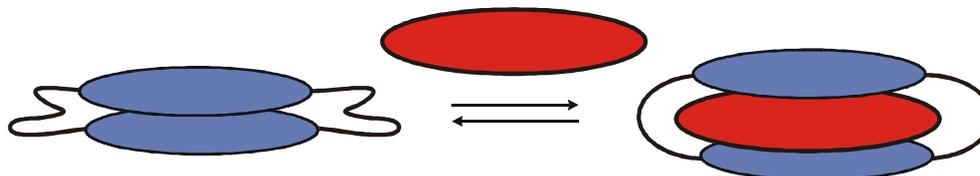


Figura I.8: Molécula en la que la intercalación del sustrato impide la interacción entre dos fluoróforos con la consiguiente desaparición de la banda del excímero.

Siguiendo el mismo razonamiento, el compuesto **XXXV** de Aoki⁵⁶ también presenta un marcado amortiguamiento de la señal del excímero entre agrupaciones pireno al darse el reconocimiento y unión de cationes alcalinos.

También se pueden dar sensores mixtos, en el que dos o más mecanismos intercambian información y así ponen de manifiesto el proceso de reconocimiento. Un bonito ejemplo es el compuesto **XXXVI**, desarrollado por Parker y Williams^{57,58} en el que se mezclan PET y formación de excímeros. El compuesto **XXXVI** presenta un

⁵⁴ F. Fages, J.P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, J.P. Konopelski, P. Marsau, Y. Barrans, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1990**, 655.

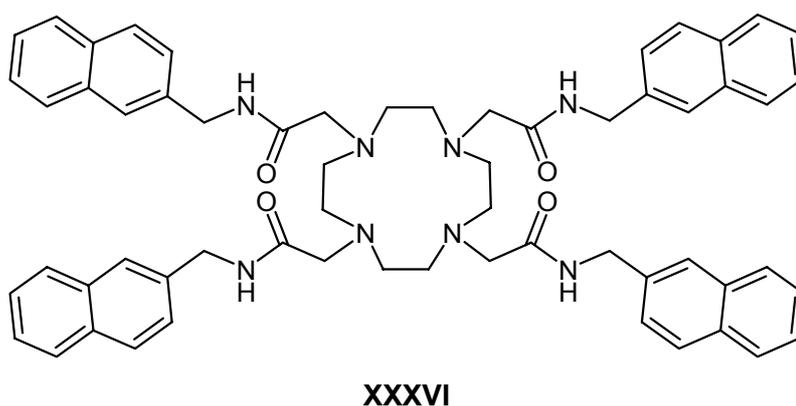
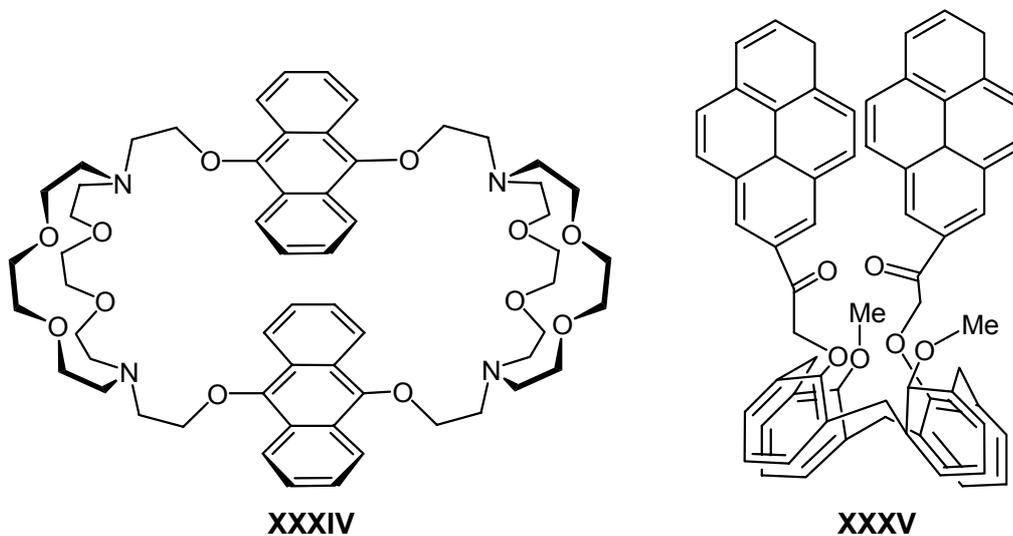
⁵⁵ F. Fages, J.P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, M. Meyer, A.M. Albrecht-Gary, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 3658.

⁵⁶ I. Aoki, H. Kawabata, K. Nakashima, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1991**, 1771.

⁵⁷ D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1995**, 1305.

⁵⁸ A. Beeby, D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1996**, 1565.

aumento de fluorescencia tras la unión de Zn^{2+} (PET tipo OFF/ON, pag X) y a la vez un incremento en la señal del excímero debido a la disposición que adopta el ligando al formar el complejo.



I.4.3. SENSORES FLUORESCENTES EN EL RECONOCIMIENTO DE ANIONES

A diferencia del caso de los cationes, el campo de sensores de aniones no está tan desarrollado y sistematizado. Existe un número limitado de sensores fluorescentes para reconocimiento de aniones, por lo que el estudio de este novedoso campo constituye una de las más atractivas fronteras de la química supramolecular por explorar.

En general, las estrategias utilizadas para reconocer aniones están basadas en las ampliamente desarrolladas en el campo de los cationes, si bien hay que tener

presentes diversas consideraciones muy importantes a la hora de diseñar un receptor selectivo a aniones⁵⁹:

- Los aniones son grandes en comparación con los cationes y consecuentemente, necesitan receptores también más grandes.

- Los aniones presentan una gran diversidad de geometrías, no sólo la típicamente esférica (F^- , Cl^- , Br^-) que caracteriza a la mayoría de cationes, sino que también pueden ser tetraédricos (PO_4^{3-} , SO_4^{2-}), triangulares planos (CO_3^{2-} , NO_3^-), lineales (N_3^- , SCN^-) o más complicados como en el caso del ATP, ADP o ADN.

- En comparación con cationes de igual carga, los aniones tienen energía de hidratación más favorables, por lo que la competencia disolvente-receptor será ahora mayor.

- Muchos aniones tienen un rango de pH de existencia limitado. Es decir, no será igual reconocer al anión PO_4^{3-} que al HPO_4^{2-} , puesto que ni las cargas, ni la disposición de las mismas serán idénticas.

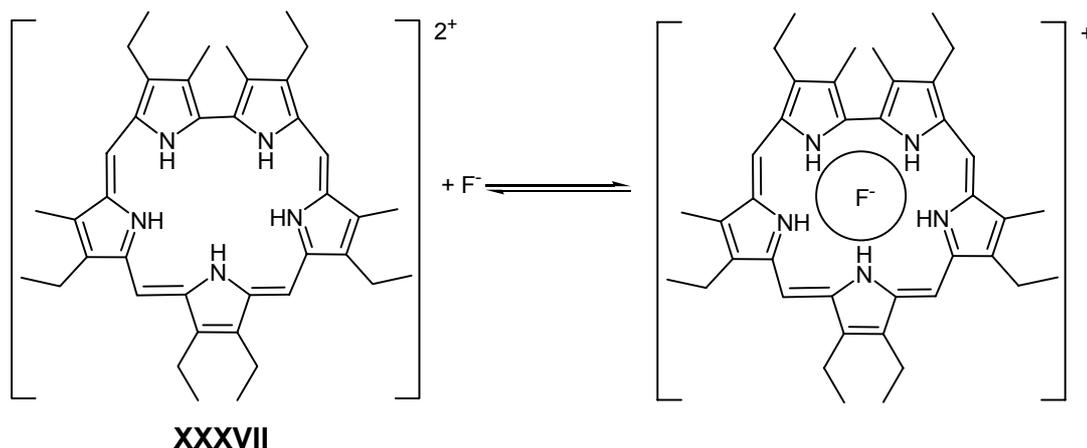
- Tienen esferas de coordinación saturadas y sólo se les puede reconocer a través de interacciones electrostáticas y fuerzas intramoleculares débiles. De ahí la gran importancia que presentan en este tipo de química supramolecular la presencia de puentes de hidrógeno en los lugares apropiados del ligando (y consecuentemente, el antes ya citado control de pH) para conseguir un reconocimiento adecuado.

Todos estos factores hacen de la síntesis de receptores para aniones realmente efectivos, una tarea harto complicada.

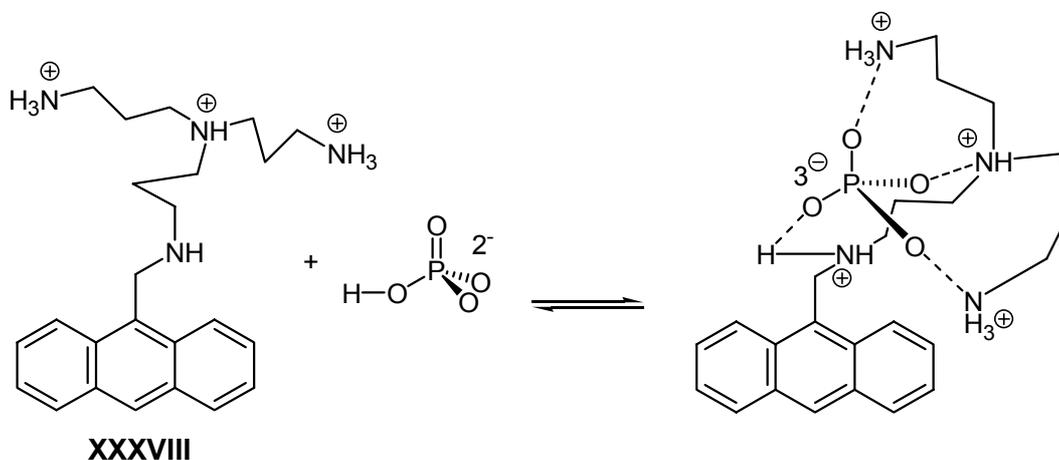
Entre los compuestos que reconocen halogenuros, podemos citar la hexadeciltetrametilsapfirina diprotonada (**XXXVII**),⁶⁰ cuyo núcleo está constituido por un macrociclo con 5 nitrógenos. Este compuesto es muy selectivo a F^- frente al resto de haluros. El F^- tendría un tamaño adecuado para entrar en la cavidad central, mientras que el Cl^- y el Br^- deberían hacer el complejo par iónico fuera del plano. En presencia de F^- , la fluorescencia del compuesto se ve incrementada al doble. Este aumento se podría explicar por el hecho de que la presencia del F^- fijaría los protones internos y así reduciría el amortiguamiento producido por el intercambio de éstos con el disolvente.

⁵⁹ A. Bianchi, K. Bowman-James, E. Garcia-España, “*Supramolecular Chemistry of Anions*”, Wiley-VCH, New York, 1997.

⁶⁰ M. Shionoya, H. Furuta, V. Lynch, A. Arriman, J.L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 14, 5714.

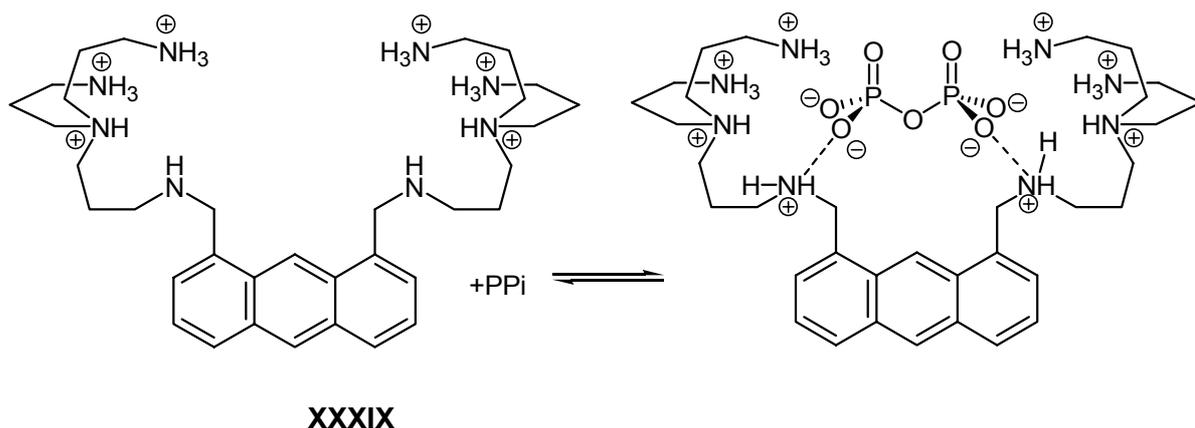


El reconocimiento de fosfato también ha sido objeto de muchos estudios, debido a su importancia en una gran parte de procesos biológicos (tanto en sus diferentes estados de protonación, como en sus diferentes estados de condensación). El anión monohidrogenofosfato se puede detectar por ejemplo con la molécula descrita por Czarnik **XXXVIII**⁶¹. El factor crítico en estos casos es, como ya se ha mencionado con anterioridad, el pH. A pH=6, entre el 70% y el 80% de **XXXVIII** se encuentra triprotonado, quedando el nitrógeno bencílico desprotonado. La fluorescencia del compuesto a este pH está pues amortiguada por PET del nitrógeno bencílico desprotonado al fluoróforo del antraceno.

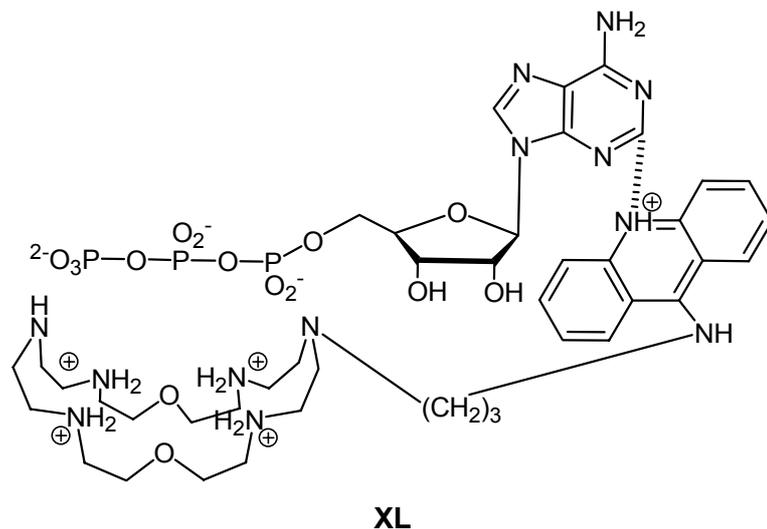


Este triprotonado forma una estructura complementaria (en cargas, disposición de las mismas y flexibilidad) para unir al dianión monohidrogenofosfato, de forma que los 3 átomos de oxígeno interaccionarán con las tres cargas positivas. El grupo -OH restante, se encuentra en una disposición favorable para realizar una transferencia de protón intramolecular con el nitrógeno bencílico, no protonado, impidiendo de este modo el PET que éste realizaba sobre el antraceno.

⁶¹ M.E. Huston, E.U. Acalla, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8735.



La misma estrategia se aplicó en el desarrollo de **XXXIX**^{62,63} enfocado al reconocimiento del ión pirofosfato, $P_2O_7^{4-}$ (PPi). **XXXIX** se une al pirofosfato 2000 veces más fuertemente que al fosfato, permitiendo de este modo, controlar, por ejemplo, el proceso de hidrólisis del pirofosfato.



La incorporación de macrociclos en los sensores, se ha traducido en una mayor eficiencia y selectividad hacia los sustratos. Así, el macrociclo **XL** fue diseñado por Lehn⁶⁴ específicamente para el reconocimiento de una molécula biológica fundamental, el ATP. Consta de una poliamina macrocíclica que actúa como receptor del trifosfato y de un grupo acridina que origina una interacción de apilamiento π con la base del nucleótido. Éste es uno de los pocos casos en la literatura en el que un apilamiento π lleva a un aumento en la fluorescencia.

Beer^{65,66,67,68} desarrolló en 1996 una familia de ligandos relacionados con **XLI**. El objetivo era conseguir una unión efectiva del anión combinando fuerzas electrostáticas

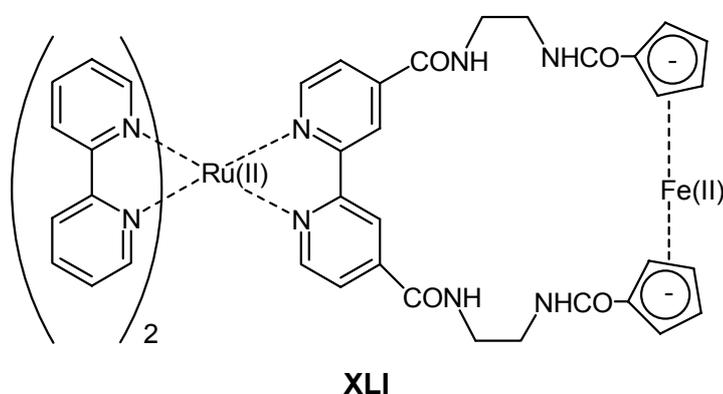
⁶² D.H. Vance, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 9397

⁶³ A.W. Czarnik, *ACS Symp. Ser.*, **1994**, 561, 314.

⁶⁴ M.W. Hosseini, A.J. Blacker, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3896.

⁶⁵ P.D. Beer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1996**, 689.

y acidez por puentes de hidrógeno. El compuesto **XLI** permite una discriminación efectiva de Cl^- frente al H_2PO_4^- , debido al tamaño de su cavidad macrocíclica. Además, el cloruro puede mediar en la PET o EET que se produce entre la subunidad de ferroceno y el tris(2,2'-bipiridil) Rutenio (II). A pesar de que, tras la complejación, el rendimiento cuántico no es muy elevado y la forma del espectro es un tanto anómala, la importancia de este sensor radica en el hecho de que es uno de los pocos ejemplos en el que, a diferencia de los interruptores puramente orgánicos, el cloro produce un incremento en la fluorescencia. Posiblemente se debe a un aumento en la rigidez del receptor introducido por la presencia del cloruro, reduciendo de este modo la eficiencia de la desexcitación no-radiativa.



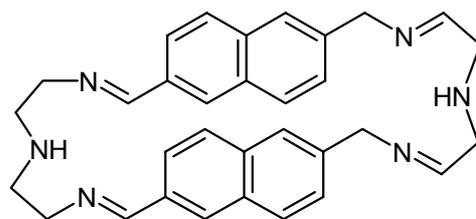
La molécula receptora **XLII**⁶⁹ contiene dos unidades de naftaleno situadas a una distancia adecuada para la intercalación de sustratos dianiónicos planos. A pH = 6, los 4 nitrógenos se encuentran protonados, impidiendo que la cavidad se cierre. Además evita que se produzca amortiguamiento de la fluorescencia por PET desde los nitrógenos bencílicos. Al complejar con el dianión plano (dicarboxilato, especies que contengan guanina,...) la fluorescencia se amortigua en mayor o menor medida. Aquí, tanto los factores electrostáticos como el apilamiento π contribuye a la estabilidad de los complejos, que es mayor al aumentar el número de cargas negativas.

⁶⁶ P.D. Beer, S.W. Dent, T.J. Wear, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 2341.

⁶⁷ P.D. Beer, A.R. Graydon, L.R. Sutton, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2457.

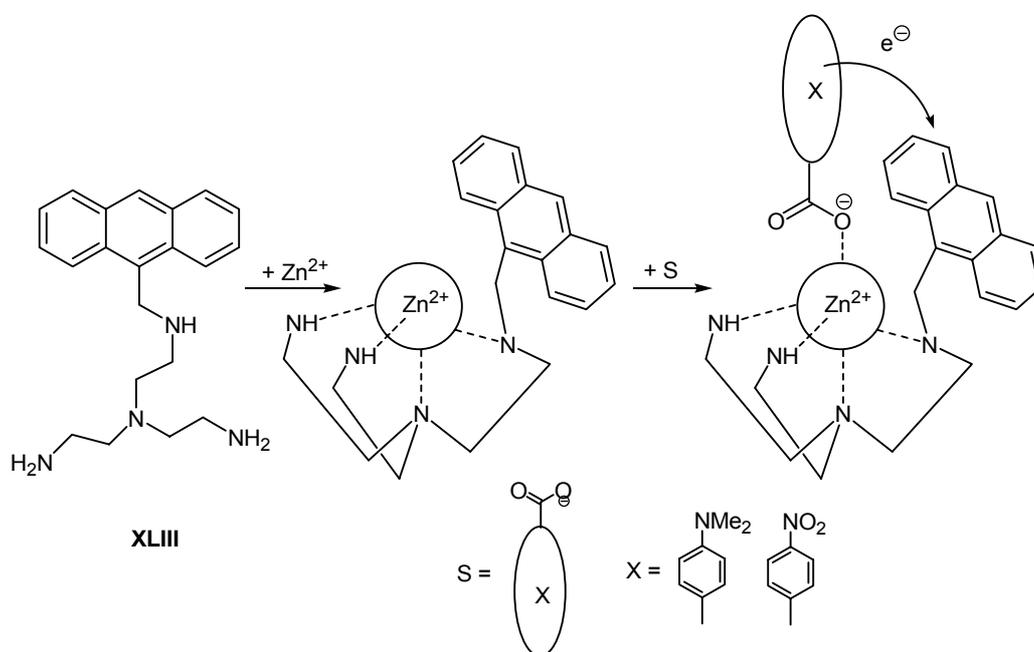
⁶⁸ F. Szemes, D. Heseck, Z. Chen, S.W. Dent, M.G.R. Drew, A.J. Goulden, A.R. Graydon, R. Grieve, R.J. Mortimer, T.J. Wear, J.S. Weightman, P.D. Beer, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 5868

⁶⁹ M. Dhaenens, J.M. Lehn, J.P. Vigneron, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1993**, 1379.



XLII

El compuesto **XLIII**⁷⁰ constituye un buen detector de iones carboxilatos. **XLIII** es un complejo de una antrilamina y Zn(II). El centro metálico tetracoordinado formado tiene una posición de coordinación vacante. Cuando el carboxilato entra en esta posición, se forma una reorganización del entorno del Zn (II) para formar un complejo con geometría de bipirámide trigonal.



La afinidad por el carboxilato es alta y se produce un amortiguamiento de la fluorescencia tras la complejación como resultado de una transferencia electrónica intramolecular del sustrato (por ejemplo 4-N,N-dimetilaminobenzoato) al grupo antraceno excitado. Esta transferencia se ve altamente favorecida por el apilamiento π que se produce entre el benzoato y el antraceno.

También hay sensores que pueden reconocer hebras de ADN polianiónico de doble cadena. Los compuestos **XLIV**^{71,72,73} y **XLV**⁷⁴ presentan un sistema plano de electrones π que se pueden intercalar entre las bases. En estos compuestos se tiene

⁷⁰ G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, A. Poggi, A. Taglietti *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 202.

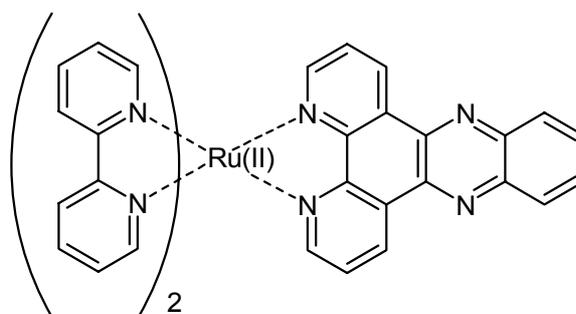
⁷¹ A. Homsí, J.C. Chambrón, J.P. Sauvage, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 1841.

⁷² Y. Jenkins, A.E. Friedman, N.J. Turro, J.K. Barton, *Biochemistry*, **1992**, 31, 10809.

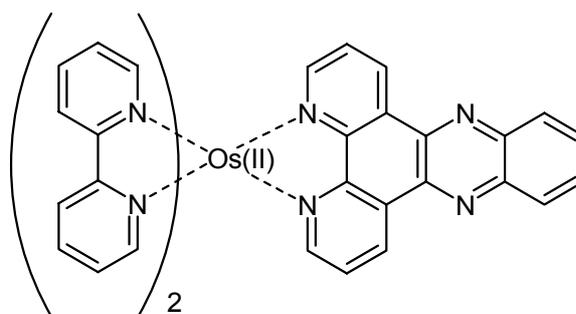
⁷³ N.J. Turro, J.K. Barton, D.A. Tomalia, *Acc. Chem. Res.*, 1991, 24, 332.

⁷⁴ R.E. Holmlin, J.K. Barton, *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 7.

una MLCT del metal a los nitrógenos. De este modo, en el estado excitado, estos nitrógenos presentan mayor carga, es decir, mayor basicidad. El intercambio de protones de estos nitrógenos con el agua ofrece un efectivo mecanismo de amortiguamiento. Al insertarse estas moléculas entre los pares de bases, el estado MLCT se ve protegido del agua, con la consiguiente aparición de la fluorescencia.



XLIV



XLV

I.5. SISTEMAS INTERRUPTORES REDOX

Mediante procesos electroquímicos se pueden efectuar cambios estructurales y electrónicos, ejerciendo de esta forma un control sobre el proceso supramolecular. Estos cambios redox pueden originar un aumento o disminución de la afinidad de un ligando por moléculas o iones, dando lugar a un interruptor redox.

Para que un sistema sea considerado un interruptor redox, el estado oxidado y reducido tienen que presentar diferentes grados de afinidad por una molécula o ion. Por otra parte, la subunidad activa electroquímicamente debe presentar una transferencia electrónica reversible. La técnica de voltamperometría cíclica permite diferenciar entre el receptor libre y el complejo supramolecular si la constante de formación es suficientemente grande, generándose ondas redox separadas y distinguibles para cada una de las especies. Un interruptor redox⁷⁵ se puede describir con la ayuda de un esquema en el que el equilibrio redox se encuentra acoplado con la reacción de unión reversible (fig. I.9).

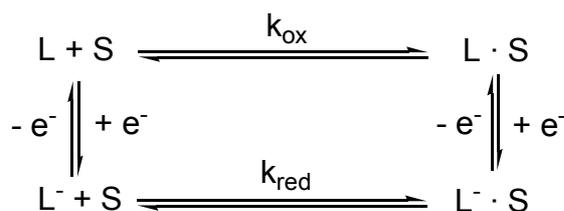


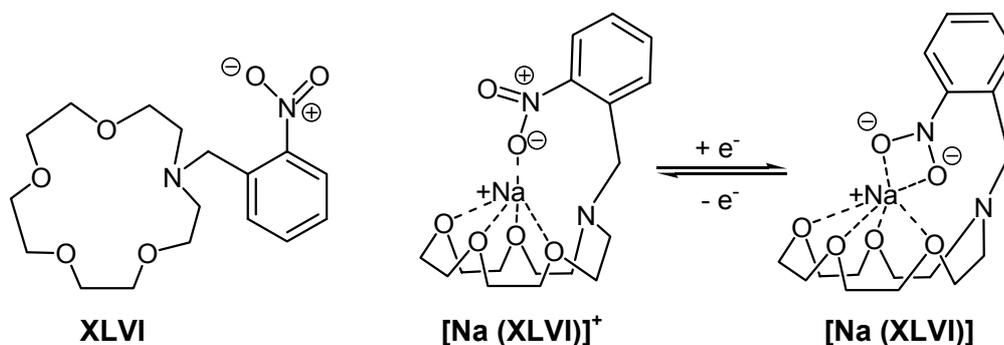
Figura I.9: Ciclo termodinámico para un interruptor redox.

El receptor L forma complejos más estables con el sustrato S cuando está en forma reducida (L^-) que cuando está oxidado (L), por tanto K_{red} es mayor que K_{ox} . La magnitud $K_{\text{red}}/K_{\text{ox}}$ se define como incremento en la capacidad de unión. En general no se observan dos ondas voltamétricas separadas correspondientes a la forma libre (L) y la complejada (LS) para sistemas con valores bajos de K_{ox} (<1) a menos que la velocidad para el proceso de complejación y descomplejación sea elevada. Lo más frecuente es observar desplazamientos del potencial de onda media para el receptor a medida que se le va adicionando el sustrato.

⁷⁵ P.L. Boulas, M. Gómez-Kaifer, L. Echegoyen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 216.

I.5.1. INTERRUPTORES CON CENTROS REDUCIBLES

Como ejemplos de interruptores redox con centros reducibles electroquímicamente podemos citar el macrociclo **XLVI** sintetizado por Gokel et al.⁷⁶ La capacidad complejante de cationes del nitrobenceno al ser reducido aumenta, puesto que se genera una carga real negativa en el grupo nitro.



El proceso de complejación se puede seguir por voltamperometría cíclica, llegándose a distinguir dos ondas de reducción diferentes debidas a la especie libre y a la especie complejada, aunque, como hemos dicho anteriormente, este caso no suele ser el más habitual (fig. I.10).

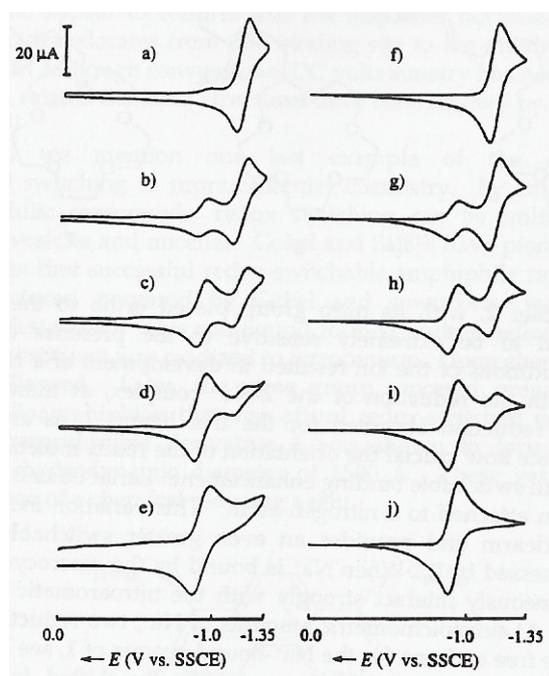
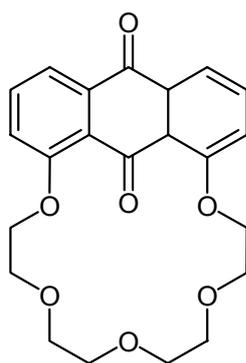


Figura I.10: Voltamperometría cíclica de una disolución del éter **XLVI** en CH_3CN , en presencia de cantidades crecientes de NaClO_4 (0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 equivalentes) en 0.10 M de NBu_4PF_6 , 25°C (a la derecha el voltograma obtenido experimentalmente, a la izquierda el voltograma simulado).

⁷⁶ S.R. Miller, D.A. Gustowski, Z.C. Chen, G.W. Gokel, L. Echegoyen, A.E. Kaifer, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 2021.

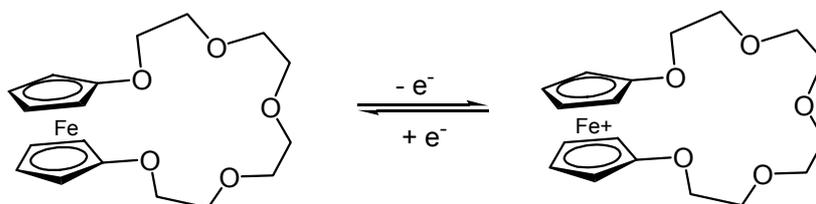
Otros compuestos mencionados en la literatura y que presentan grupos reducibles son los que están basados en la antraquinona. Dicho sistema puede sufrir dos sucesivas reducciones monoeléctricas conduciendo a un anión radical y posteriormente al dianión. En este campo, Echegoyen et al.⁷⁷ han sintetizado el macrociclo **XLVII** en el que la antraquinona se encuentra enlazada a un éter corona.

El compuesto **XLVII** presenta dos ondas de reducción reversible monoeléctrica en ausencia de catión Na^+ . Cuando al ligando se le adicionan 0,5 equivalentes de Na^+ , cada una de estas ondas se divide en dos reflejando el proceso redox del ligando libre y del complejo.

**XLVII**

I.5.2. INTERRUPTORES CON CENTROS OXIDABLES

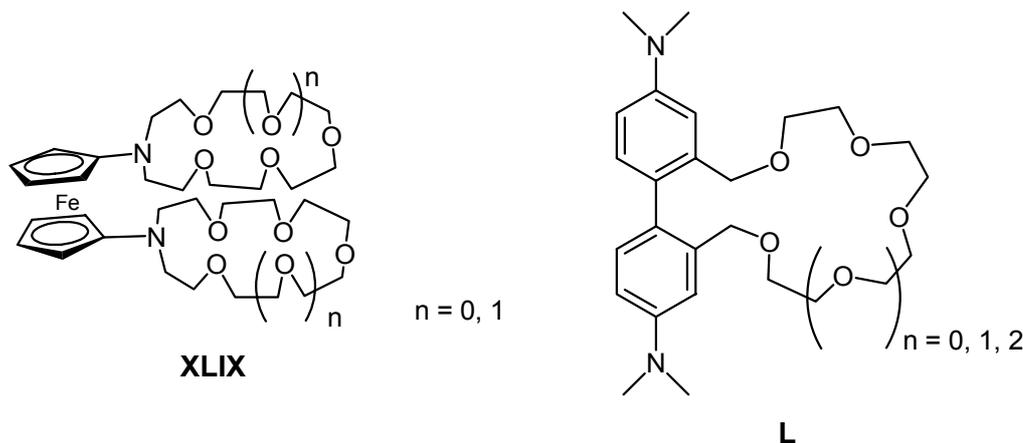
También existen muchos estudios realizados sobre moléculas interruptores redox con centros oxidables electroquímicamente. Uno de los sistemas más estudiados es el ferrocenilo. Saji⁷⁸ publicó la primera evidencia de desplazamiento anódico en el potencial de oxidación del pentaoxa[13]ferrocenofano **XLVIII** como consecuencia de la adición de sales de Na^+ y Li^+ . Este desplazamiento, relacionado con la disminución de la constante de unión del ligando **XLVIII** respecto al ligando oxidado, era debido a una repulsión electrostática entre la carga positiva del ferrocenio y la del ion alcalino.

**XLVIII**

⁷⁷ M. Delgado, D.A. Gustowski, H.K. Yoo, V.J. Gatto, G.W. Gokel, L. Echegoyen, *J. Am.Chem.Soc.*, **1988**, 110, 119.

⁷⁸ T. Saji, *Chem. Lett.*, **1986**, 275.

En la bibliografía se pueden encontrar varios sistemas basados en el ferroceno^{79,80} entre ellos el ferroceno bis(azacoronaéter) **XLIX** sintetizado por Beer et al.⁸¹ en el que un centro ferroceno queda unido a dos azacoronas a través de dos grupos metileno. Según estos autores, la adición de sales de Na⁺, K⁺, Mg²⁺ y Ba²⁺ provoca desplazamientos anódicos del par redox ferroceno-ferrocinio dependientes de la relación carga/radio de los cationes. Por otra parte, los mismos autores han empleado derivados de cobalto para reconocer selectivamente aniones como cloruro y dihidrogenofosfato⁸².



Nuestro equipo de investigación⁸³ ha sintetizado también compuestos de tipo **L** que contienen como sistema electroactivo N,N,N',N'-tetrametilbencidina. Este grupo se puede oxidar electroquímicamente, conduciendo a un catión radical en el que ambos anillos aromáticos están en el mismo plano para permitir la deslocalización del electrón desapareado como se desprende del estudio de Fritsch⁸⁴. Una segunda oxidación de la TMB conduce al catión diradical^{85,86}, conocido como quinonadiimina (TMBox) que conserva la disposición coplanar entre sus anillos(fig. 1.11).

⁷⁹ A. Benito, R. Martínez-Máñez, J. Soto, M.J.L. Tendero, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1997**, 93, 2175.

⁸⁰ J.C. Medina, T.T. Goodnow, M.T. Rojas, J.L. Atwood, B.C. Lynn, A.E. Kaifer, G.W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 10583.

⁸¹ P.D. Beer, Z. Chen, M.G.B. Drew, A.J. Pilgrim, *Inorg. Chim. Acta*, **1994**, 225, 137.

⁸² P.D. Beer, Z. Chen, M.G.B. Drew, A.R. Graydon, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 4129.

⁸³ A.M. Costero, C. Andreu, R. Martínez-Máñez, J. Soto, L.E. Ochando, J.M. Amigó, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8159.

⁸⁴ J.M. Fritsch, R.N. Adams, *J. Chem. Phys.*, **1965**, 43, 1887.

⁸⁵ T. Mizoguchi, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 2058.

⁸⁶ E.T. Seo, R.I. Nelson, J.M. Fritsch, L.S. Marcoux, D.W. Leedy, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 3498.

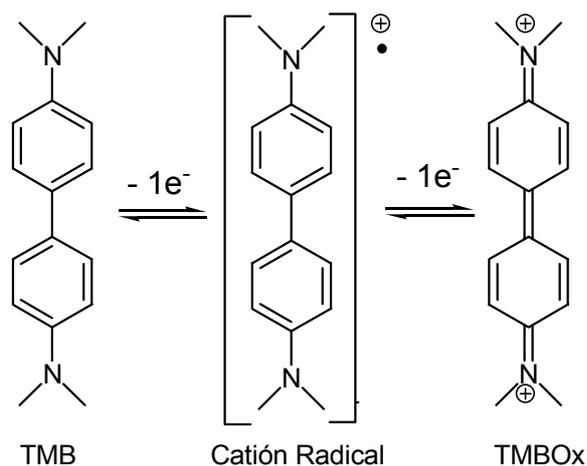


Figura I.11: La tetrametilbencidina al oxidarse por un electrón genera un radical que fuerza la coplanaridad de los dos anillos aromáticos.

De este modo, la unión del catión podría verse regulada por el proceso reversible de oxidación-reducción de la TMB, puesto que al adoptar este fragmento una estructura coplanar forzaría en L un cambio conformacional en la corona que reduciría su afinidad por el sustrato. El mecanismo que regularía este interruptor electroquímico se expone en la figura I.12.

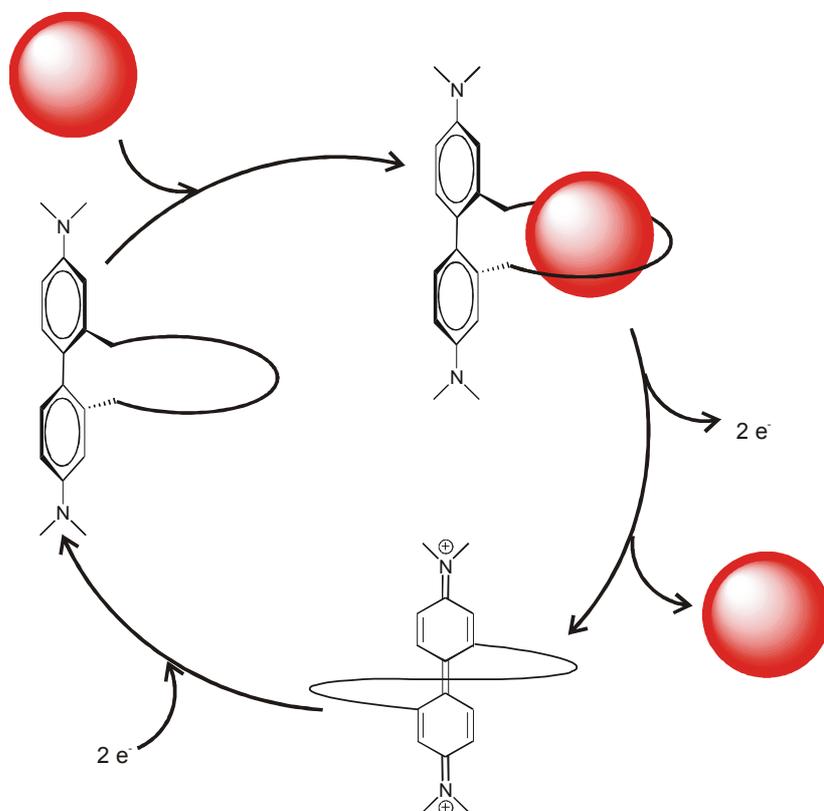


Figura I.12: Interruptor redox. La generación de la TMBOx produce un cambio conformacional en la corona que le impide adaptarse al catión y de esta forma, la constante de complejación disminuye.

I.6. FENÓMENOS DE TRANSPORTE

Los procesos de transporte a través de membrana y el desarrollo de moléculas transportadoras implicadas en los mismos, han cobrado mucho interés en los últimos años, debido al trascendente papel con el que cuentan a nivel biológico principalmente.

El transporte está considerado una de las áreas principales en la química supramolecular, junto con el reconocimiento y la catálisis.^{87,1,88,89}

Tres son los objetivos primordiales en el que se fundamenta el desarrollo de esta importante parte de la Química Supramolecular:

- Diseño de las moléculas transportadoras.
- Comprensión de los procesos implicados en el transporte en cada caso.
- Valoración de las posibles aplicaciones tanto en Química como en Biología.

I.6.1. CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE TRANSPORTE

Este tipo de procesos, se puede clasificar de tres formas diferentes: La primera, atendiendo a la dirección del flujo de las especies transportadas en relación al gradiente de concentración. Una segunda clasificación está basada en función del número de especies transportadas simultáneamente y finalmente, la tercera es en función de la naturaleza del transportador.

En función de la dirección del flujo de las especies transportadas, los procesos se dividen en (fig. I.13):

- transporte pasivo: el sustrato es transportado a favor del gradiente de concentración
- transporte activo: el sustrato es transportado en contra del gradiente de concentraciones. Este comportamiento es posible siempre que un segundo proceso de transporte, a favor de concentración, esté acoplado con el primero y aporte la energía necesaria.

⁸⁷ G.W. Gokel, *Crown Ethers and Cryptands*, The Royal Society of Chemistry. Cambridge. **1991**.

¹ J.M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**.

⁸⁸ T. Osa, J.L. Atwood, *Inclusion Aspects of Membrane Chemistry*, Kluwer Academic Publishers, **1991**.

⁸⁹ R.M. Izatt, K Bradshaw y Pawlak, *Chem. Rev.*, **1995**, 95, 2529.

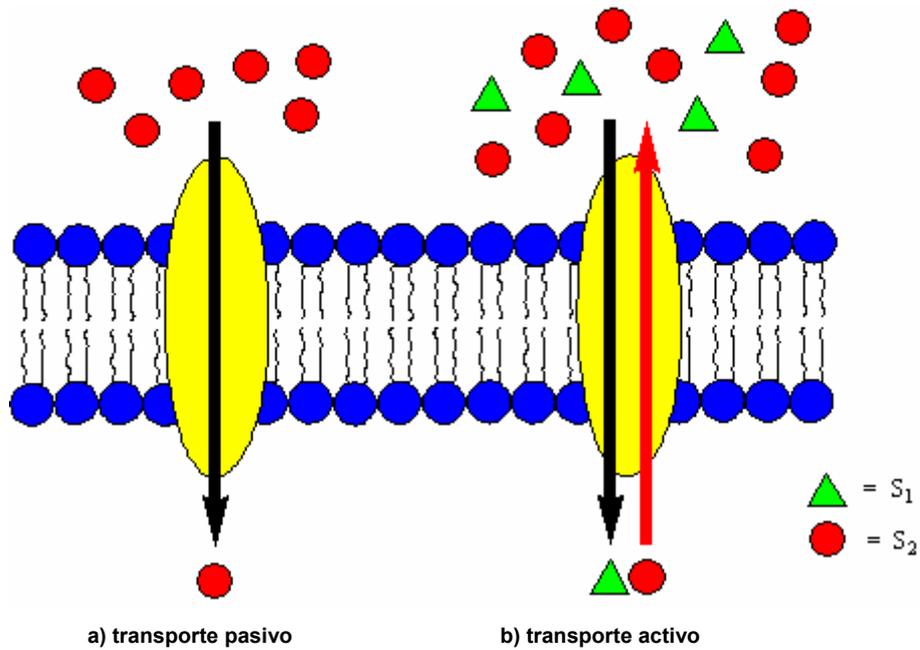


Figura I.13: Principales tipos de transporte a través de membrana en función de la dirección del flujo de especie transportada respecto a los gradientes de concentración de la misma. a) transporte pasivo. b) transporte activo para S_2 (acoplado con transporte pasivo para S_1).

En función del número de especies transportadas simultáneamente, también se puede catalogar el transporte como (fig. I.14):

- monoporte: en el que solamente una especie es transportada.
- cotransporte: una segunda especie es transportada simultáneamente por el transportador. Este cotransporte, a su vez puede dividirse en dos grupos según la segunda especie es transportada sea la misma dirección que la primera (simporte) o en la contraria (antiporte).

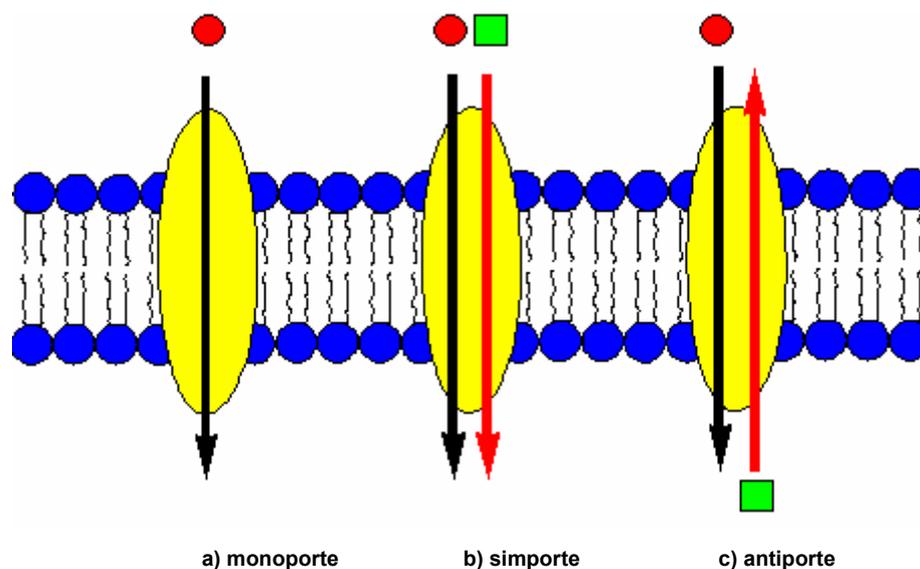


Figura I.14: Principales tipos de transporte a través de membrana en función del número de especies transportadas simultáneamente. a) monoporte. b) simporte. c) antiporte.

I.6.2. MOLÉCULAS TRANSPORTADORAS A TRAVÉS DE MEMBRANA

En este tipo de transporte, el responsable del proceso de transporte es una molécula que se encuentra en la membrana. A esta especie se le denomina transportador (*carrier* en inglés) y al proceso se le conoce como “transporte mediante porteador” (*carrier-mediated transport* en inglés) o difusión facilitada (*facilitated diffusion* en inglés) (fig. I.15).

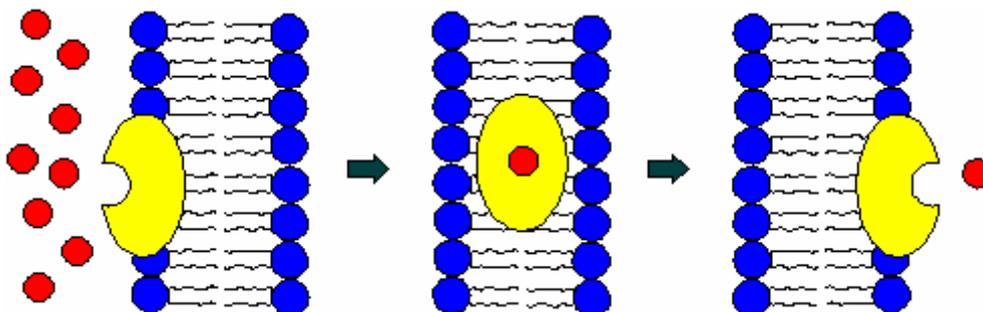


Figura I.15: Transporte a través de membrana mediante molécula transportadora.

Es un proceso cíclico que comprende 4 etapas (figura I.16):

- Formación del complejo sustrato-transportador en una de las interfases.
- Difusión del complejo a través de la fase que constituye la membrana.
- Transferencia del sustrato en la otra interfase.
- Retorno del transportador libre a la primera interfase.

La naturaleza cíclica de este proceso exhibe una cierta analogía con la catálisis molecular y es por esto que algunos autores⁹⁰ lo consideran una catálisis física que permite una translocación del sustrato. Así, la presencia del transportador incrementaría notablemente el proceso de difusión del sustrato a través de la membrana.

El diseño del transportador es pues un parámetro fundamental puesto que él determinará la naturaleza del sustrato transportado, las características físico-químicas del proceso (velocidad y selectividad), y el tipo de proceso (difusión facilitada, acoplamiento de gradientes y flujos simultáneos de otras especies, transporte activo,...). Como, en principio, la estructura del transportador puede modificarse a placer, los transportadores sintéticos ofrecen la posibilidad de estudiar el tipo de proceso y así analizar tanto a nivel cinético como termodinámico la implicación que

⁹⁰ J.M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 89.

tienen las unidades que componen el transportador en factores como la velocidad de transporte o la selectividad.

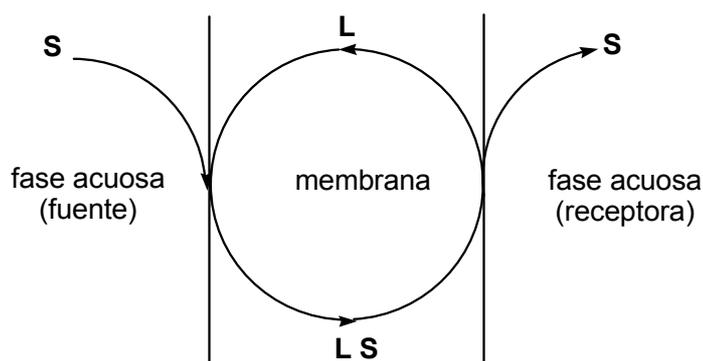


Figura I.16: Esquema de las etapas que transcurren en un proceso de transporte mediante transportador.

Para diseñar un transportador se deberán tener presentes los factores específicos que afectan a estos procesos¹: Así, mientras un receptor molecular debería mostrar una alta constante de complejación hacia el sustrato, una alta selectividad y una velocidad de recambio baja una vez complejado el sustrato; una molécula transportadora deberá ser altamente selectiva, pero no unirse al sustrato demasiado fuertemente y además ser suficientemente flexible para permitir una adecuada velocidad de recambio para así poder coger y soltar el sustrato rápidamente y evitar la saturación. Por otra parte, un transportador deberá mostrar una estructura con un balance lipofílico-hidrofílico equilibrado, adecuado para ser soluble en la fase de la membrana y a la vez ser capaz de llegar a la interfase, entrar en contacto con la fase acuosa y así poder interactuar con el sustrato. Tampoco deberá ser muy voluminoso para que pueda difundir rápidamente y adicionalmente puede contener otros grupos funcionales para acoplar el transporte de sustratos a otros procesos (ácido/base, redox).^{7,91,92}

También habrá que prestar atención a factores externos al efector propiamente dicho, como la naturaleza de la membrana, la concentración de sustrato en la fase acuosa y la presencia de otras especies externas que pudieran participar en el proceso. Cuando se utiliza un ligando neutro para transportar un par iónico, muchas veces el contraión cotransportado también afectará a la velocidad de transporte⁹³.

Muchos son los trabajos que recogen experimentos de transporte de este tipo en los últimos años. Principalmente se centran en el transporte de alcalinos utilizando ligandos neutros.^{94,95,96,97,98,99}

⁹¹ J.M. Lehn, "Physical Chemistry of Transmembrane Ion Motions", Elsevier, Amsterdam, **1983**, 181

⁷ J.M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1.

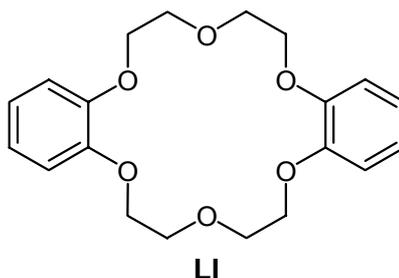
⁹² W. Simon, W.E. Morf, P.C. Meier, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 113.

⁹³ M. Burgard, L. Jurdy, H.S. Park, R. Heimburger, *Nouv. J. Chem.*, **1983**, 7, 575.

⁹⁴ J.J. Christensen, J.D. Lamb, S.R. Izatt, S.E. Starr, G.C. Weed, M.S. Astin, B.D. Stitt, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 3219.

Frecuentemente, las membranas utilizadas en este tipo de experimentos suele ser membranas líquidas.¹⁰⁰ Una membrana líquida es una fase líquida o un quasi-líquido que separa otras fases líquidas en los que la membrana es inmisible. Un ejemplo típico de este tipo de membrana consiste en una fase líquida hidrofóbica, como el cloroformo, separando dos fases acuosas o una fase acuosa separando dos fases clorofórmicas.

El efector de transporte más ampliamente estudiado para este tipo de sistemas es el dibenzo-18-corona-6.^{100,101} (**LI**).



Muchos estudios cinéticos^{100,102} revelan que la velocidad de transporte es proporcional a la concentración inicial de sustrato (gradiente de concentración o de carga), y que tienen una dependencia de tipo acampanada respecto a la constante de complejación.

También hay trabajos en los que se estudia el transporte de metales de transición y de post-transición (Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , $\text{Hg}(\text{II})$) como los llevados a cabo por el profesor Gloe¹⁰³ con compuestos derivados de las 8-hidroxiquinolinas (**LII**, **LIII**) y de amino e imino criptandos (**LIV**).

⁹⁵ J.D. Lamb, J.J. Christensen, S.R. Izatt, K. Bedke, M.S. Astin, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 3399.

⁹⁶ Y. Kobuke, K. Hanji, K. Horigushi, M. Hasada, Y. Nakayama, J. Furukawa, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 7414.

⁹⁷ M. Sugiura, T. Shinbo, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1979**, 52, 684.

⁹⁸ J.D. Lamb, J.J. Christensen, J.L. Oscarson, B.L. Nielsen, B.W. Asay, R.M. Izatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 6820

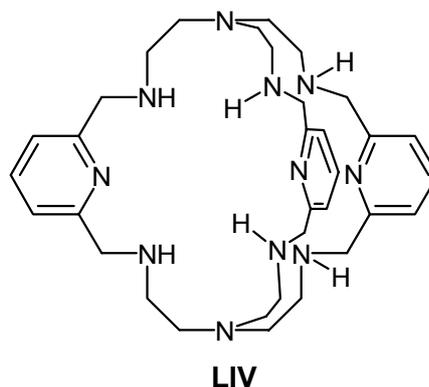
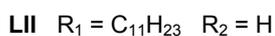
⁹⁹ Y. Marcus, T. Nakashima, *J. Phys. Chem.*, **1983**, 87, 794.

¹⁰⁰ J.D. Lamb, J.J. Christensen, R.M. Izatt, *J. Chem. Edu.*, **1980**, 57, 227.

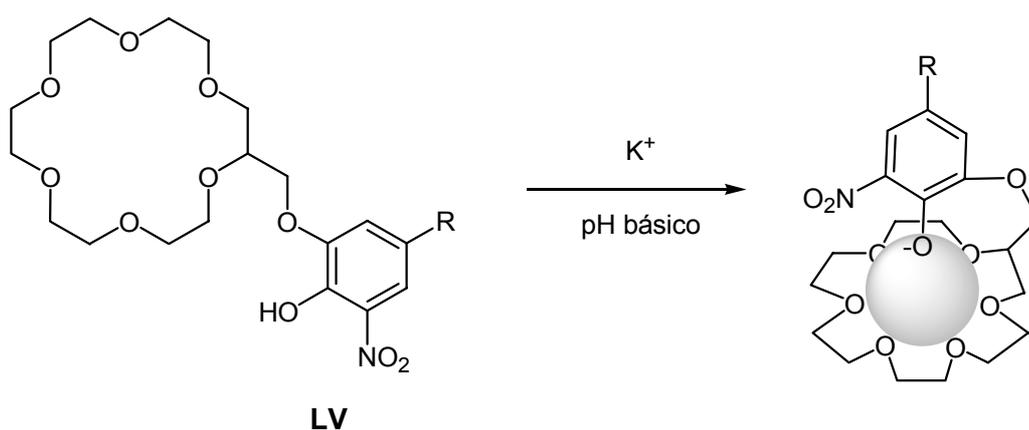
¹⁰¹ S. Yoshida, T. Watanabe, *J. Coord. Chem.*, **1988**, 18, 63-68.

¹⁰² J.P. Behr, M. Kirch, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 241.

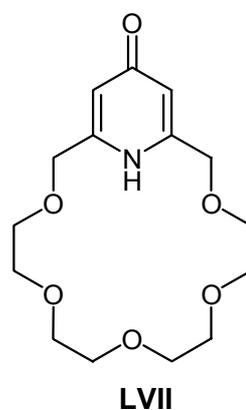
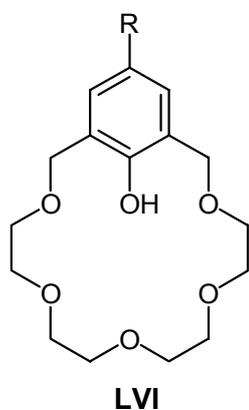
¹⁰³ C. Chartroux, K. Wichmann, G. Goretzki, T. Rambusch, K. Gloe, U. Müller, W. Müller, F. Vögtle, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2000**, 39, 3616.



Existen ejemplos de transportadores cuya capacidad de transporte se ve regulada por el pH. Deben presentar grupos ionizables en alguna parte de la molécula que, al cambiar su estado de protonación, favorezcan o inestabilicen la formación del complejo. Así por ejemplo, el compuesto **LV** incrementa notablemente la capacidad complejante frente al catión K^+ al generarse el grupo fenolato. Una fuente fuertemente básica favorecería la unión ligando- K^+ , mientras que una fase receptora ácida, revertiría el proceso.



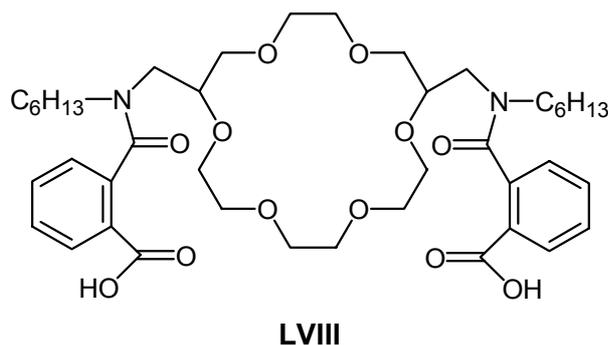
De la misma forma actúan los ligandos **LVI**¹⁰⁴ y **LVII**¹⁰⁵ en el transporte de K^+ .



¹⁰⁴ a) M. Newcomb, S.S. Moore, D.J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6405. b) T.W. Bell, P.G. Chang, M. Newcomb, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 5185. c) T. Kaneda, K. Sigiara, M. Kamiya, S. Misumi, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 4407.

¹⁰⁵ J.S. Bradshaw, J.M. Guynn, S.G. Wood, B.E. Wilson, N.K. Dalley, R. M. Izatt, *J. Heterocyclic Chem.*, **1987**, 24, 415.

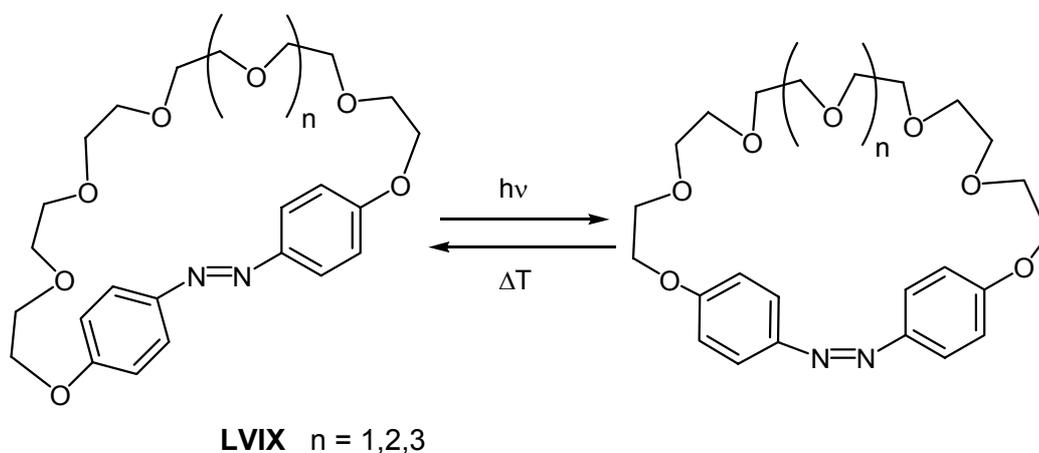
Okahama¹⁰⁶ publicó en 1991 un artículo en el que se describía el comportamiento de **LVIII**, en el que se conseguía un acoplamiento en el transporte, entre dos fases acuosas (una básica y otra ácida) separadas por una membrana de CH_2Cl_2 , de Ca^{2+} (de la fase básica a la ácida) y de K^+ (en sentido inverso). La desprotonación de los grupos carboxilos en la fase básica favorecía la complejación de Ca^{2+} , mientras que la protonación de los mismos en la fase ácida, reducía la capacidad complejante de **LVIII** a la del 18-corona-6, selectivo, por tanto a K^+ .



Otro grupo de ligandos transportadores muy interesante lo constituyen aquellos en los que la capacidad de transporte puede modularse fotoquímicamente.

Entre ellos los más famosos son los desarrollados por el grupo de Shinkai, que contienen un grupo azobenceno en su estructura. La conformación más estable del azobenceno es su forma E, sin embargo, cuando se irradia con una λ adecuada, puede isomerizarse a su forma Z.

El compuesto **LVIX**¹⁰⁷ presenta una baja capacidad complejante en su forma E. La irradiación del mismo a $\lambda = 330 - 380$ nm produce la isomerización a su forma Z, ahora ya adecuada para alojar al metal en su interior.



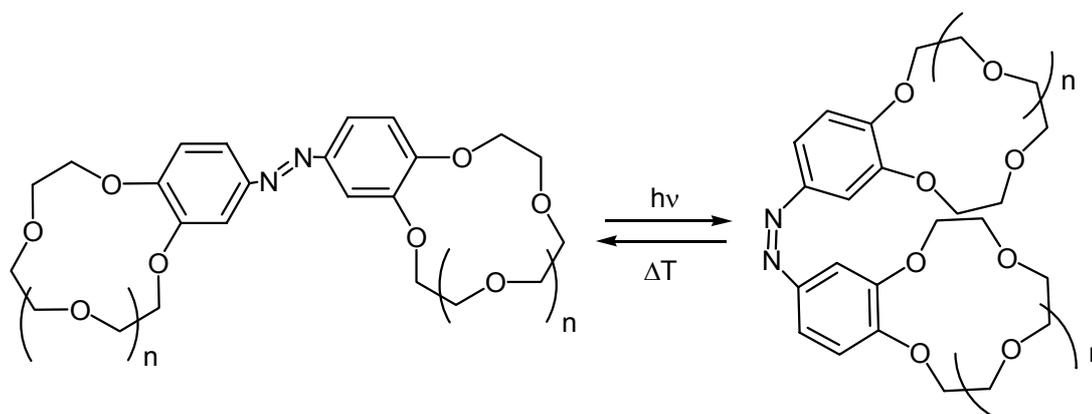
¹⁰⁶ Y. Nakatsuji, T. Inoue, M. Wada, M. Okahara, *J. Incl. Phen. and Mol. Recog. in Chem.*, **1991**, 10, 379.

¹⁰⁷ S. Shinkai, T. Minami, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 1851.

Los compuestos **LX**, **LXI**, **LXII**, también desarrollados por Shinkai¹⁰⁸, presentaban dos coronandos, de tamaño variado, separados espacialmente por la rigidez del grupo azobenceno en su conformación E. Si se irradiaban con una λ adecuada cerca de la fase fuente, se produce un cambio de conformación del grupo azo a Z.

Esta nueva disposición tipo sándwich es ahora capaz de complejar al catión con efectividad. En la fase receptora, la reisolomerización del sistema permite la descomplejación y cesión del catión transportado.

Así, analizando la proporción E/Z al añadir metal en estado fotoestacionario, se deduce que **LXI** forma complejos de tipo sándwich con Rb^+ y Cs^+ , mientras que la forma *trans* extrae Na^+ eficientemente de la fase acuosa. El **LXII** forma sándwich solamente con el Cs^+ y la forma *trans* compleja adecuadamente con Rb^+ , Na^+ y K^+ y el compuesto **LX** presenta una baja eficiencia de extracción independientemente del metal añadido.

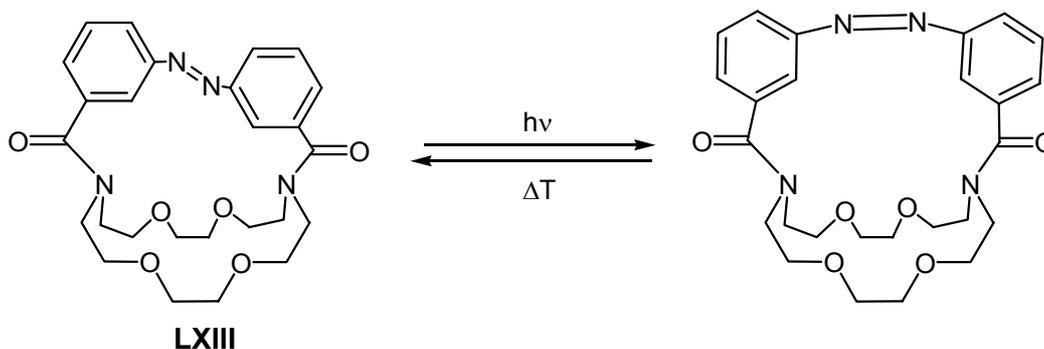


LX, $n = 0$

LXI, $n = 1$

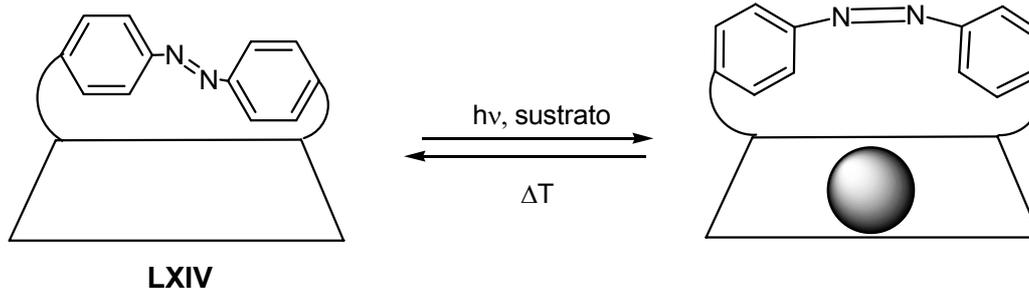
LXII, $n = 2$

También es englobarían en este grupo, y por tanto presentan un comportamiento similar a los anteriormente descritos, el azocriptando **LXIII** y la azociclodextrina **LXIV**.



LXIII

¹⁰⁸ S. Shinkai, T. Ogawa, Y. Kusano, O. Manabe, K. Kikukawa, T. Goto, T. Matsuda, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 1960.



Existen otros tipos de membranas. El grupo de Stolwijk ha realizado numerosos estudios cinéticos de transporte de KClO_4 ¹⁰⁹ y de tiocianato de guanidinio¹¹⁰ en los que el efector (dibenzo-18-corona-6) estaba soportado en una membrana de polipropileno microporoso. Li y colaboradores han desarrollado membranas de tipo emulsión que, aunque son mucho menos conocidas que las anteriores, tienen aplicaciones tan interesantes como las de ejercer como trampas de NaOH acuoso para la eliminación de fenol en aguas contaminadas¹¹¹.

¹⁰⁹ T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 7042.

¹¹⁰ T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 6321.

¹¹¹ N.N. Li, *A. I. Ch. E. Journal*, **1971**, 17, 459.

CAPÍTULO II

Objetivos

Como se ha discutido en el capítulo I, disponer de sistemas que cuenten con una capacidad de reconocimiento y complejación selectiva de cationes de metales pesados (sales de Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , etc.) así como de aniones implicados en procesos biológicos (HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^- , etc.) es de singular importancia puesto que estos ligandos podrían ser empleados, por ejemplo, en la detección y purificación de aguas contaminadas por residuos industriales. Una característica deseable en este tipo de compuestos es la capacidad de generar una señal macroscópica, por ejemplo, una variación en la intensidad de fluorescencia, cuando se produzca el fenómeno microscópico de reconocimiento del sustrato. Si estos compuestos dispusieran a la vez de un sistema de regulación modulable, su utilidad sería considerablemente superior, ya que podrían ser empleados de forma continua. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación en el empleo de la subunidad de TMB como molécula interruptora redox y dado que es una molécula cuya fluorescencia es potencialmente regulable en función de los sustituyentes que se le puedan introducir en la estructura, se definió el objetivo global de esta tesis: La síntesis de **ligandos derivados de bifenilos sustituidos** y la evaluación de su **capacidad de detección de cationes** de metales tóxicos o de **aniones** de interés medioambiental.

Este objetivo general se desarrollará siguiendo las siguientes etapas:

II.1. Síntesis de sensores con diferentes unidades transductoras y receptoras

Así se sintetizarán moléculas cuyas unidades transductoras son:

- 4,4'-nitro derivados de bifenilo
- 4, 4'-amino derivados de bifenilo

Y su unidad complejante es:

- Unidad complejante del tipo podando
- Unidad complejante del tipo azacoronando

II.2. Evaluación de la capacidad transportadora de algunos ligandos

Puesto que el fenómeno de transporte selectivo a través de membrana juega un destacado papel en la inmensa mayoría de procesos bioquímicos, se efectuarán experimentos de transporte a través de membranas para cuantificar la eficacia de los ligandos como moléculas transportadoras.

II.3. Estudio de las propiedades fluorescentes de los ligandos en el reconocimiento de cationes y aniones

Los pasos a seguir, serán pues:

- Estudio de las propiedades fotofísicas de cada molécula en ausencia de sustrato.
- Elección de sustratos catiónicos o aniónicos apropiados para cada molécula según el estudio obtenido en el punto anterior.
- Estudio de las propiedades fotofísicas de cada molécula en presencia de sustrato.
- Formulación de hipótesis acerca de la naturaleza de la interacción entre receptor y sustrato, a través de la determinación de la estequiometría y el cálculo de las constantes de complejación haciendo uso de diversas técnicas espectroscópicas (RMN, UV-visible, IR, etc.).

II.4. Análisis de la posibilidad de regulación de la afinidad complejante de algunos ligandos mediante métodos electroquímicos

Estos estudios se desarrollarán según el siguiente esquema:

- Las propiedades electroquímicas intrínsecas del ligando.
- La determinación, mediante técnicas voltamperométricas adecuadas, de las estequiometrías y las constantes de complejación que forma un determinado sustrato con el ligando reducido.
- comparación de las constantes anteriormente obtenidas con las calculadas para el ligando neutro.

CAPÍTULO III

Síntesis de Ligandos Nitrogenados Derivados de Bifenilo

En el capítulo II se han expuesto los objetivos que se plantearon al inicio de la presente tesis. El hilo conductor de nuestra investigación durante estos años, como se ha mencionado, ha sido el desarrollo de sensores de metales de transición y de aniones, cuya propiedad macroscópica encargada de poner de manifiesto el reconocimiento del sustrato sea la emisión de fluorescencia.

Desarrollar un proyecto lógicamente consta de diferentes fases: una primera fase de diseño, seguido de un esfuerzo sintético. Finalmente, si la síntesis de los productos ideados llega a buen fin, será necesaria una evaluación de la efectividad en el reconocimiento de los sustratos deseados. Las tres partes del proceso están íntimamente relacionadas puesto que un diseño erróneo, una síntesis mal enfocada o unos métodos de estimación inadecuados hacen baldío el trabajo realizado en los otros dos estadios.

Una amplia revisión bibliográfica, así como la inestimable experiencia que el grupo posee en este campo, encauzó desde un principio el diseño de los sensores que se pretendían desarrollar.

Atendiendo a lo comentado en el capítulo I, la estructura de un sensor molecular consta de dos partes fundamentales: un centro que reconozca al sustrato en cuestión y otra subunidad que, a través de algún tipo de comunicación con la encargada del reconocimiento, modifique sus propiedades, en este caso fluorescentes, para indicar a nivel macroscópico que el reconocimiento ha tenido lugar.

Como centro generador de la señal se eligió la tetrametilbencidina (TMB) por diversas razones. La mayoría de los ejemplos de fluoróforos que aparecen en la bibliografía están constituidos por hidrocarburos aromáticos planos y rígidos, como el naftaleno, el pireno o el líder indiscutible: el antraceno. Todos ellos juegan un papel,

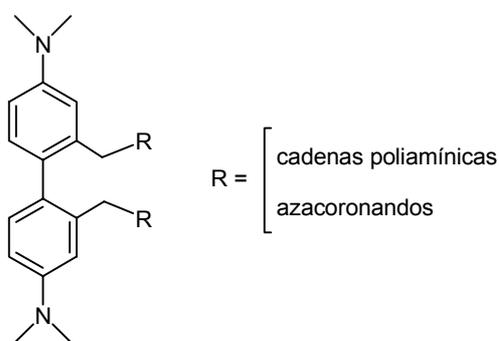
indispensable desde el punto de vista de la transducción, pero eminentemente intrascendente desde el punto de vista de la complejación.

La TMB presenta un comportamiento diferente al de los compuestos anteriores ya que sus características fluorescentes dependen en gran medida del valor del ángulo diedro formado por los dos anillos aromáticos. Debido a este hecho, la presencia de unidades complejantes en las posiciones 2,2' de la TMB podrían dar lugar a ligandos en los que el tipo de complejación modificara el valor del ángulo diedro anteriormente citado y con ello las propiedades fluorescentes del sistema.

Además, la TMB presenta un conocido comportamiento redox, ya descrito en el capítulo I (pág. 37), que podría ser utilizado para modular la capacidad de complejación del sensor.

En cuanto a las subunidades encargadas del reconocimiento, se pensó que podrían ser muy convenientes fragmentos de tipo poliamínico, dado que se pretendía que estos sensores estuvieran enfocados hacia la detección de metales de transición (es decir, metales blandos generalmente) así como de aniones, o bien éteres corona, cuya geometría y topología almacena intrínsecamente información que los hace muy efectivos en el proceso de reconocimiento selectivo de sustratos.

Podríamos reunir las ideas preliminares en el diseño del sensor en el siguiente esquema:

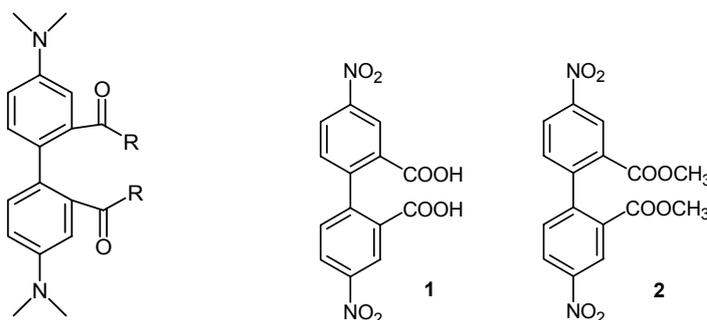


Esquema III.1

III.1. SÍNTESIS DE COMPUESTOS DERIVADOS DE 2,2'-BIS(AMINO-CARBONIL)-4,4'-DINITROBIFENILO

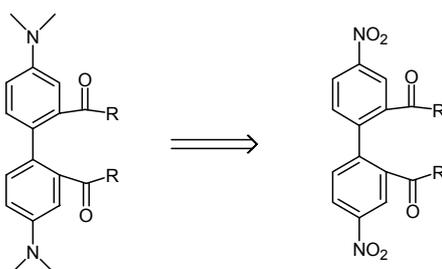
Aunque nuestro fin era sintetizar compuestos fluorescentes derivados de TMB, en un primer momento, y atendiendo a la experiencia del grupo, se decidió sintetizar compuestos con estructura indicada en el esquema III.2, por diversas razones:

- Se tenía muy optimizada la síntesis de compuestos como **1** y **2**, que pudieran ser adecuados como punto de partida en la obtención de los ligandos deseados.
- El grupo 4,4'-dinitrobifenilo era químicamente más inerte que el 4,4'-dimetilaminobifenilo frente a un mayor número de reacciones facilitando así la introducción de los sustituyentes en posición 2,2'.
- Se conocía que la reacción de reducción de 4,4'-dinitro-bifenilo a 4,4'-dimetilaminobifenilo no presentaba ningún problema, independientemente de los residuos en 2,2', siempre y cuando el compuesto a reducir fuera suficientemente soluble en EtOH.



Esquema III.2

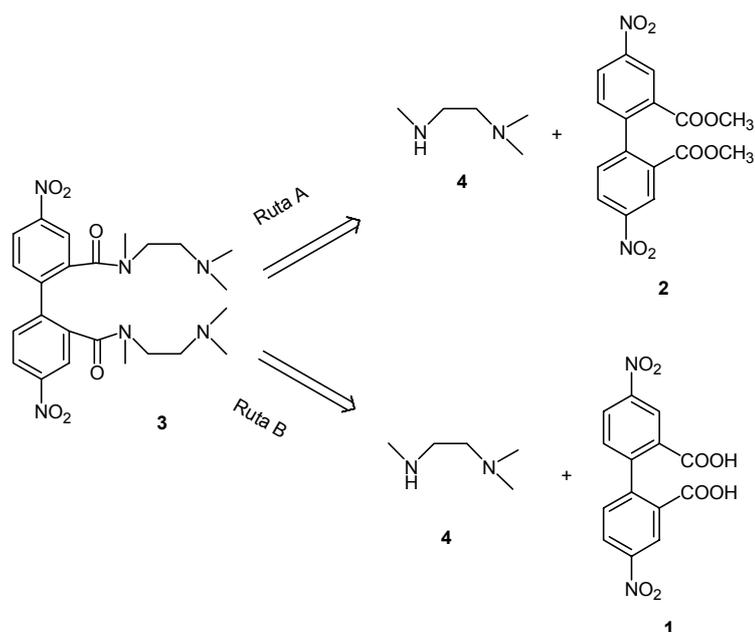
Por ello, se pensó que la opción más conveniente era introducir primero los grupos encargados del reconocimiento en las posiciones 2,2' sobre la subunidad de 4,4'-dinitrobifenilo y posteriormente reducir éste fragmento a TMB (esquema III.3), aunque se era consciente de que muchas veces las amidas acarrearán problemas de solubilidad y se podría tener dificultades en la reacción de reducción.



Esquema III.3

III.1.1. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N,N'-TRIMETILETILENDIAMINOCARBONIL)-4,4'-DINITROBIFENILO (3)

El primer compuesto que se pensó en preparar fue **3**, y para ello se intentaron dos rutas diferentes. La primera se basaba en una reacción de amino-desesterificación (esquema III.4). La segunda implicaba la reacción entre el cloruro del diácido **1** y la trimetiletilenodiamina (**4**).

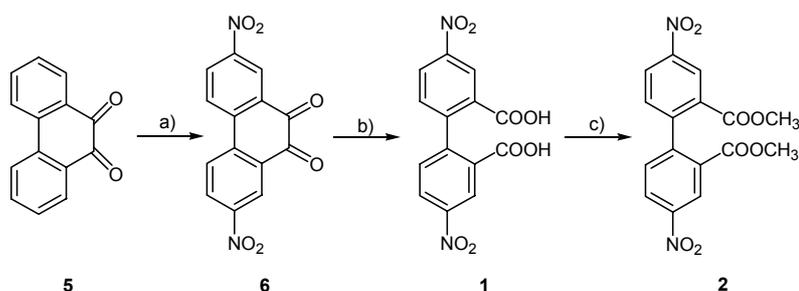


Esquema III.4

III.1.1.1. SÍNTESIS DE 3. RUTA A.

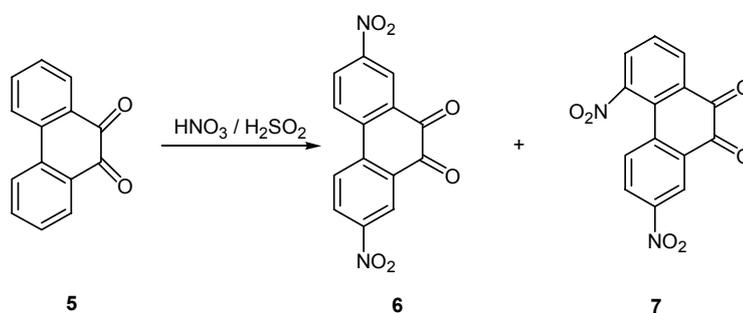
El primer procedimiento por el que se intentó llegar a la diamida **3** fue por reacción directa entre el éster **2** y la amina **4**.

El éster **2** se obtuvo mediante la secuencia sintética que se muestra en el esquema III.5 y que ya había sido previamente optimizada en nuestro grupo de trabajo.



Esquema III.5: a) HNO₃ / H₂SO₄; b) H₂O₂, AcOH; c) MeOH, H₂SO₄

La nitración de 9,10-fenantroquinona (**5**) se realizó calentando a reflujo dicho producto con una mezcla de ácido nítrico fumante y ácido sulfúrico según el método desarrollado por Schmidt y Kampf¹¹², obteniendo una mezcla de dinitrofenantroquinonas¹¹³ (esquema III.6).



Esquema III.6

La separación de los isómeros se realizó mediante cristalización fraccionada de ácido acético glacial, en el que el isómero 2,5-dinitro (**7**) es más soluble. De este modo, se obtuvo 2,7-dinitro-9,10-fenantroquinona (**6**).

A partir de éste último, se realizó una ruptura oxidativa¹¹⁴ del enlace 1,2-dicarbonílico calentando a reflujo con peróxido de hidrógeno, en presencia de ácido glacial, para obtener ácido 4,4'-dinitrodifénico (**1**).

Posteriormente, **1** se esterificó con metanol a reflujo (en presencia de ácido sulfúrico como catalizador) para dar 2,2-bis(metoxicarbonil)-4,4'-dinitrobifenilo (**2**).

Una vez obtenido **2**, se hizo reaccionar con la amina en cantidades estequiométricas y se observó que el producto mayoritario del crudo de reacción fue la mono amida asimétrica **8** y no la diamida **3** como se esperaba (esquema III.7).

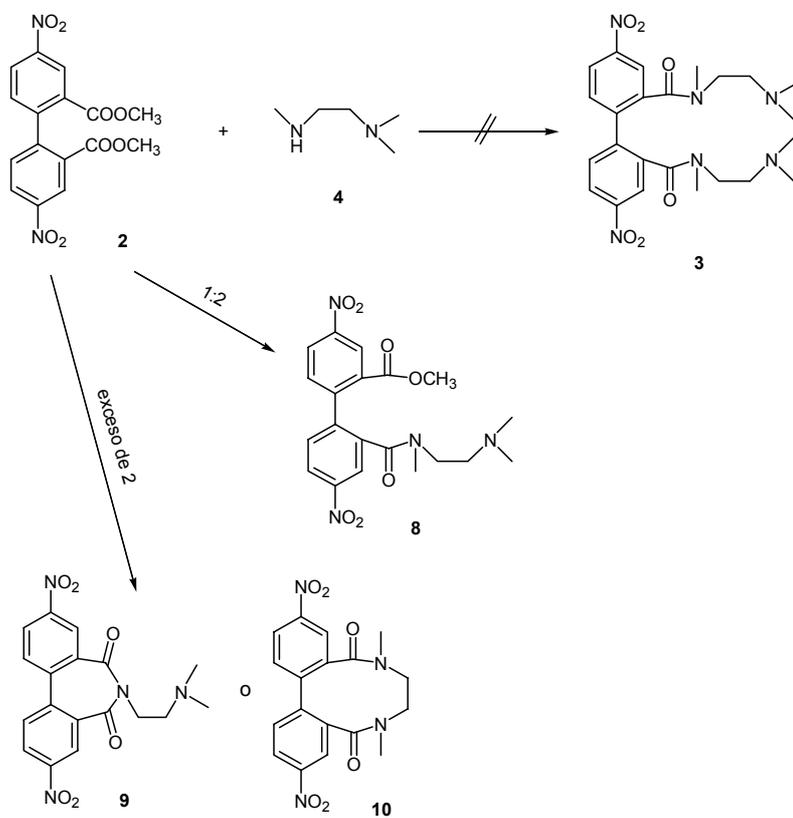
A la vista de éstos resultados se decidió utilizar la diamina como disolvente (con lo cual existiría un gran exceso) y elevar el tiempo y la temperatura de reacción. Sin embargo aunque el producto mayoritario obtenido en estas condiciones era un producto simétrico, atendiendo a las señales aromáticas del espectro de RMN, ninguna de ellas correspondía a la de la diamida **3** objetivo. Hemos formulado dos

¹¹² J. Schmidt, A. Kampf, *Chem. Ver.*, **1903**, 36, 3738.

¹¹³ T.K. Mukherjee, *J. Phys. Chem.*, **1967**, 71, 2277.

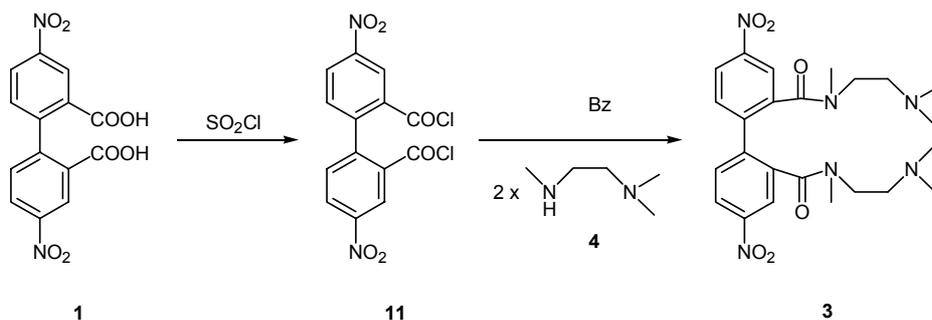
¹¹⁴ Vogel's, "Textbook of Practical Organic Chemistry". Longman Scientific & Tech., 5ª Ed. Pág. 1061.

posibles estructuras **9** y **10** que corresponderían al producto mayoritario, si bien no tenemos argumentos para decantarnos por una o por otra, puesto que no se creyó conveniente seguir por este camino dado que ninguno de ellos era el producto deseado **3**. Por ello se decidió recurrir a la ruta B.



III.1.1.2. SÍNTESIS DE 3. RUTA B

En la bibliografía existen muchos trabajos donde se llevan a cabo este tipo de síntesis. Elegimos la reacción de Schotten-Baumann por parecernos la más sencilla (esquema III.8).



Con este fin, se transformó el ácido dicarboxílico **1** en su correspondiente cloruro de ácido con SOCl_2 ¹¹⁵. Tras lo cual se adicionó la amina **4** disuelta en tolueno seco obteniéndose la diamida **3** como dihidrocloruro. El análisis del crudo de reacción mostró que la reacción había transcurrido en la forma esperada pero los intentos de purificación del producto fueron poco satisfactorios. Además se comprobó que el producto **3** era inestable en medio ligeramente básico y generaba toda una serie de productos de descomposición. Ante la imposibilidad de separación del producto, se planteó la mejora de las condiciones de síntesis para obtener un producto más puro.

Se intentó, siguiendo un trabajo de Szmuszkowicz¹¹⁶, generar el cloruro de ácido mediante reacción con cloruro de oxalilo. El cloruro de oxalilo se puede eliminar fácilmente a temperatura ambiente pasando una corriente de argón por el matraz de reacción, por lo que una vez formado el cloruro ya no se sometería a sobrecalentamiento el crudo para eliminar el disolvente. La amina se adicionó a temperatura ambiente disuelta en tolueno. Sin embargo, el producto obtenido mediante estas condiciones menos drásticas estaba más impurificado que en el caso anterior.

Se intentó la misma reacción, con cloruro de oxalilo como agente halogenante, pero añadiendo a la par que la trimetiletilenodiamina (**4**), otra amina más básica como la trietilamina para que facilitara la reacción de **4**. La introducción de este nuevo factor sólo consiguió empeorar el proceso, al obtenerse muchos más subproductos

En vista de que el cloruro de oxalilo lejos de resolver los problemas los empeoraba, decidimos volver al cloruro de tionilo pero en condiciones más suaves y con una adición lenta del cloruro sobre la trimetiletilenodiamina utilizando benceno como disolvente y en atmósfera de argón. En estas condiciones se obtuvo un precipitado blanco que se separó por filtración, y que correspondía al dihidrocloruro de la diamida **3**. El producto estaba suficientemente puro como para ser utilizado directamente y el rendimiento fue del 64%.

Los valores de las constantes de protonación* de **3** se determinaron por potenciometría en dioxano:agua en relación 70:30 usando como electrolito KNO_3 0.1M. Los valores obtenidos fueron $\log \beta_1 = 7.21 \pm 0.02$ y $\log \beta_2 = 13.15 \pm 0.03$. En estas condiciones $\text{pK}_w = 15.9$, por lo que el pH calculado es aproximadamente 8.68 y 2.70. Es decir, el compuesto gana con facilidad un protón, pero la segunda protonación no se da con tanta sencillez, a pesar de tener un grupo amina libre. Esta segunda protonación se vería desfavorecida por la repulsión que se generaría dentro de la

¹¹⁵ Org. Syn. Coll. Vol. 1: 12, 147 (1941), Vol 3: 169, 490, 547, 555, 712 (1955), Vol. 4: 154, 263, 339, 715, 739 (1963).

¹¹⁶ J. Szmuszkowicz, *J. Org. Chem.*, **1964**, 28, 843.

* Las medidas fueron realizadas en el departamento de Química de la Universidad Politécnica de Valencia por los doctores D. Ramón Martínez-Mañez y D. Juan Soto

molécula al colocar dos cargas positivas en un espacio reducido. Un segundo argumento podría ser que cuando la molécula está monoprotonada, se podría establecer un puente de hidrógeno interno entre el protón y los nitrógenos de las aminas. Este protón estaría fluxionando entre ambas posiciones. Si un segundo protón entrara en la molécula no se podría dar este equilibrio.

No obstante, el compuesto que se obtiene mediante esta secuencia sintética es la especie diprotonada como así lo revelan tanto los experimentos de potenciometría como los datos de análisis elemental de cloro lo que es lógico si se tiene en cuenta las condiciones fuertemente ácidas en las que se lleva a cabo la reacción.

Los estudios de RMN del dihidrocloruro del producto **3** permitieron comprobar la existencia de distintos rotámeros debidos a la presencia de los grupos amida (figura III.1).

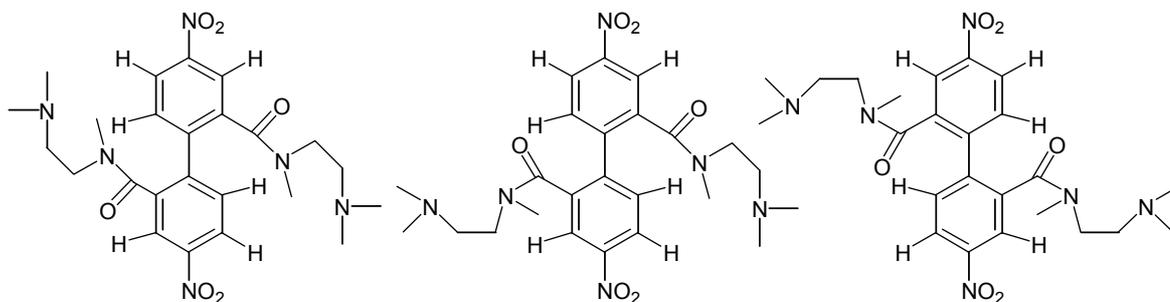


Figura III.1: La existencia de diferentes rotámeros complica el estudio de **3** por RMN debido a los efectos anisotrópicos del grupo carbonilo.

La existencia de estos equilibrios se pone de manifiesto cuando se registran los espectros en distintos disolventes: La utilización de acetonitrilo, disolvente más viscoso que el metanol, reduce la velocidad de interconversión y las diferentes especies originan señales diferenciadas en el espectro tanto en la zona alifática como en la aromática. La existencia de estos equilibrios incrementa el número de señales que aparecen y dificulta marcadamente la asignación de las mismas (figura III.2).

La comparación del espectro del dihidrocloruro de **3** con el de la correspondiente amina libre pone de manifiesto un desplazamiento general de las señales hacia campos más altos, lo que está de acuerdo con la desprotonación experimentada por el compuesto. Los espectros registrados en CDCl₃ muestran señales más anchas que podrían englobar las correspondientes a los distintos rotámeros lo que simultáneamente conduce (en la zona alifática) a una clara simplificación del espectro. Sin embargo no puede decirse lo mismo en la zona aromática, que se complica ligeramente. En los espectros registrados en MeOH la zona aromática permite claramente distinguir a presencia de distintos rotámeros (figura III.3).

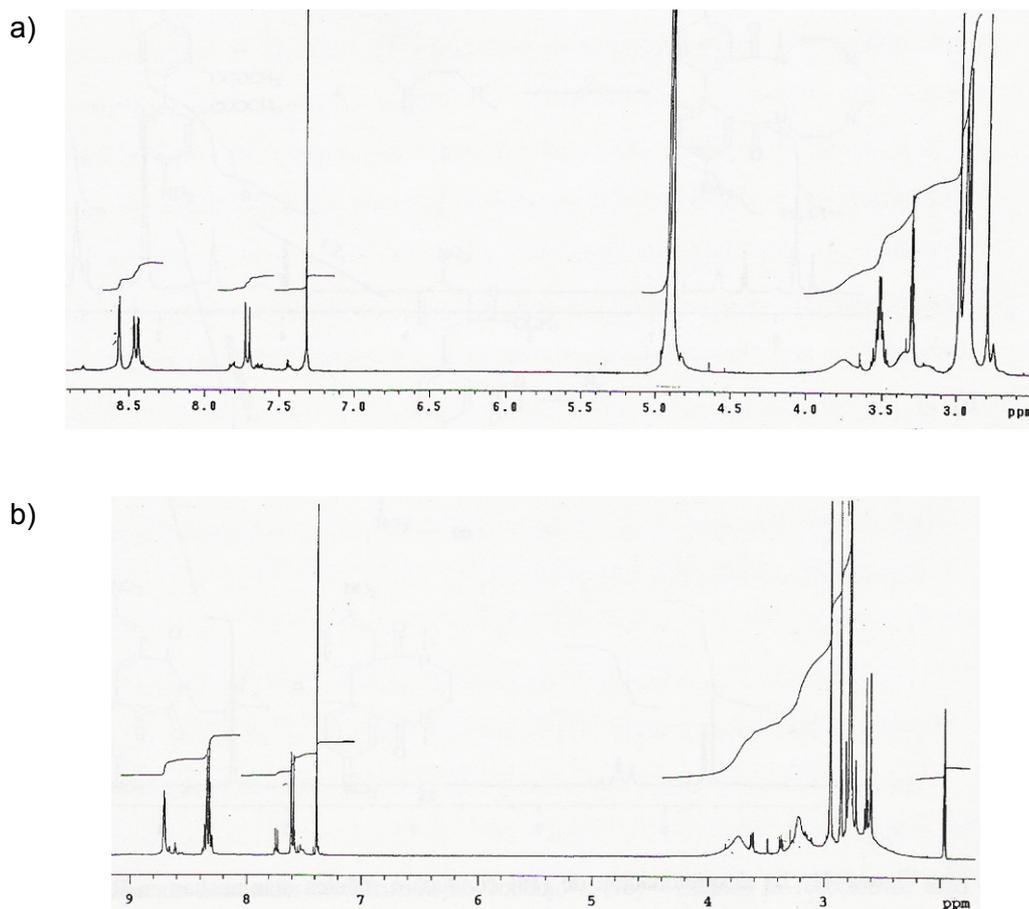


Figura III.2: Los equilibrios entre los diferentes rotámeros de **3** se ven afectados por la viscosidad del disolvente. En un análisis por RMN, un cambio de CD_3OD por CD_3CN incrementa el número de señales como consecuencia de la ralentización de estos procesos, con lo que complica la asignación de las mismas. a) Espectro de **3** en forma de dihidrocloruro. 300MHz, CD_3OD , 25°C. b) espectro de **3** en forma de dihidrocloruro. 400MHz, CD_3CN , 25°C.

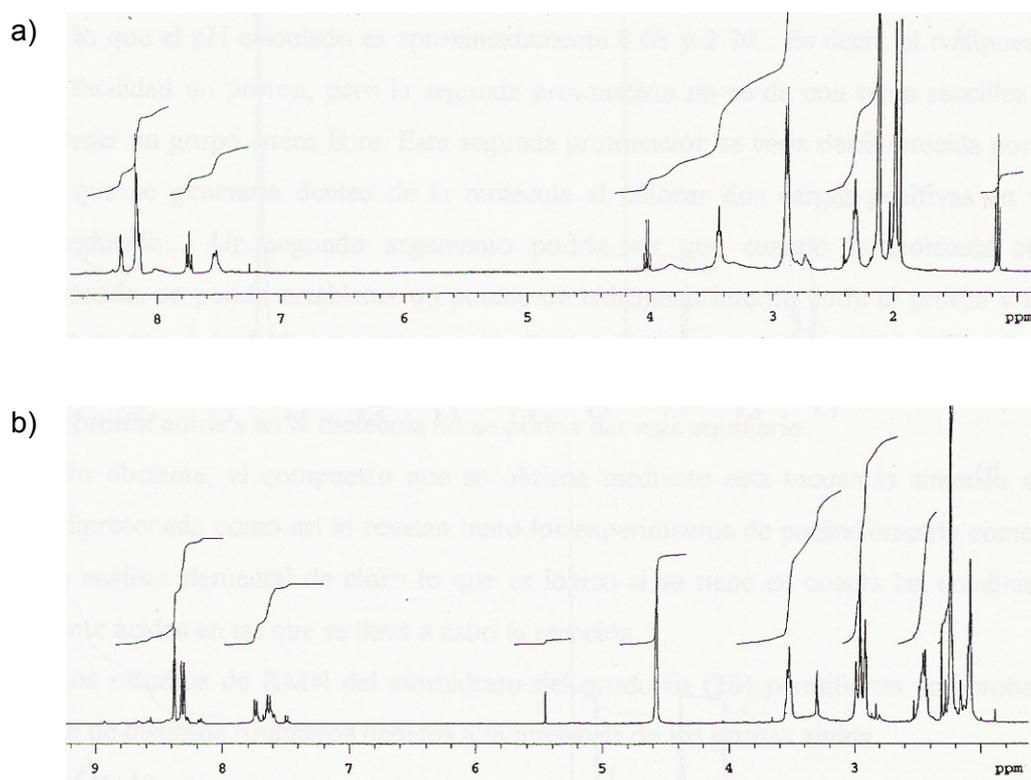
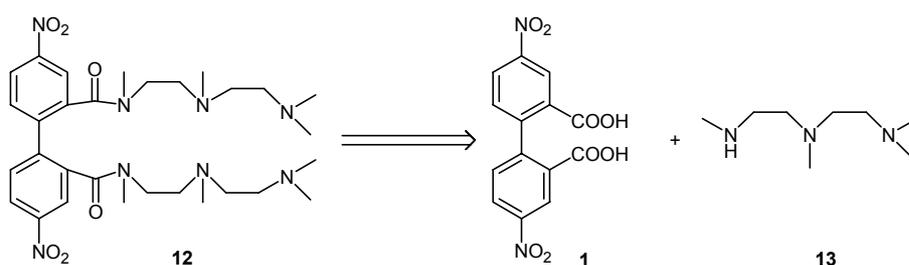


Figura III.3: La desprotonación de **3** conduce a señales más anchas en RMN, que podrían incluir los diferentes rotámeros. Sin embargo se siguen observando diferentes comportamientos al emplear distintos disolventes debido a los equilibrios entre rotámeros. a) Espectro de **3** en forma de amina libre. 400MHz, CDCl_3 , 25°C. b) Espectro de **3** en forma de amina libre. 400MHz, CD_3OD , 55°C.

III.1.2. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(2,5-DIMETIL-2,5,8-TRIAZANONANOCARBONIL)-4,4'-DINITROBIFENILO (**12**)

Los buenos resultados obtenidos en la síntesis de **3** siguiendo el procedimiento reseñado en III.1.1.2. hicieron pensar en plantearse la síntesis del podando **12**, un compuesto homólogo a **3** pero que cuenta con un átomo dador adicional en cada brazo. Esta característica podría mejorar sustancialmente el reconocimiento frente a cationes metálicos y, protonando los nitrógenos, también se podría estudiar frente a aniones. Para obtener **12** se siguió el mismo planteamiento que en **3**, esto es, una reacción de Schotten-Baumann según se muestra en el esquema III.9.

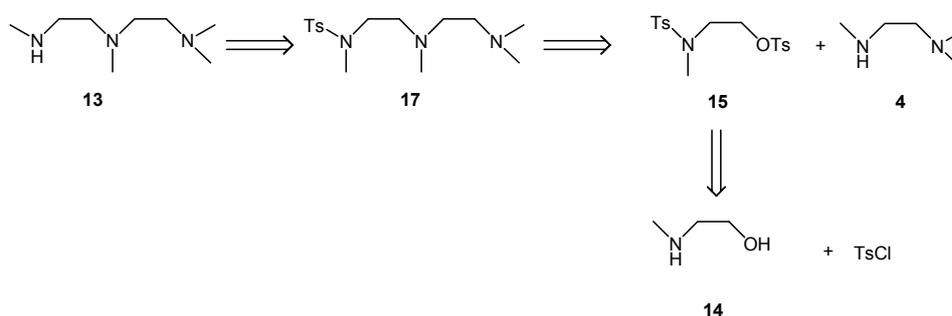


Esquema III.9

Dado que la triamina **13** no se encuentra disponible en los catálogos se tuvo que sintetizar previamente.

III.1.2.1. SÍNTESIS DE 2,5-DIMETIL-2,5,8-TRIAZANONANO (**13**)

En la bibliografía existen innumerables trabajos de síntesis de cadenas poliamínicas. Nosotros, basándonos en un trabajo de de Silva¹¹⁷, diseñamos la siguiente secuencia para nuestro caso (esquema III.10).



Esquema III.10

A partir de la N-metiletanolamina (**14**) se sintetizó el derivado ditosilado **15**. Éste se puede separar por filtración, dando excelentes rendimientos (84%). Al ditosilar la N-metiletanolamina se han conseguido dos cosas: proteger el N frente a posibles reacciones secundarias no deseadas, y activar el hidroxilo para convertirlo en un buen grupo saliente.

De Silva, llegado a este punto, proponía la sustitución del grupo -OTs por un grupo -I, para favorecer aún más la N-alkilación sobre el fragmento diamínico **4**. Se sintetizó N-metil-N-(4-toluensulfonil)yodoetilamina **16** con rendimientos del 70% por simple desplazamiento del -OTs por el anión yoduro proveniente de NaI.

El yoduro **16** se hizo reaccionar con **4** en presencia de carbonato de potasio anhidro en acetonitrilo a reflujo para obtener el compuesto **17**, con un rendimiento del 73%.

Sin embargo, se intentó hacer la reacción directa entre el compuesto ditosilado **15** y la trimetiletilendiamina (**4**) en acetonitrilo seco a reflujo y carbonato potásico como base. Un seguimiento por TLC reveló que el grado de avance era escaso tras 24 horas de reacción. Se decidió añadir, *in situ*, el NaI y tras otras 24 h se paró la reacción y se procesó. Se obtuvo un 75% de producto **17** deseado. Así pues se había eliminado un paso en la síntesis, no siendo necesaria la separación del yoduro.

¹¹⁷ S.M. Tuladhar, C. D'Silva, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 3203.

Tan sólo quedaba la desprotección del grupo amino. En el trabajo citado, se proponía una reducción con LiAlH_4 en DME. Se intentó esta reacción y se obtuvo un rendimiento muy bajo. Lo mismo ocurrió cuando se cambió el disolvente a THF¹¹⁸. El problema, posiblemente residía en que la amina quedaba retenida entre las sales de litio y aluminio que se generaban durante la reacción. Se dejaron bajo agitación durante toda la noche en THF a 50°C pero no se obtuvieron buenos resultados.

Finalmente se decidió probar otro método de destosilación, haciendo reaccionar el compuesto **17** con ácido sulfúrico¹¹⁹ a 100°C obteniéndose la amina **13** deseada. Aunque el rendimiento fue del 29%, este valor no supone ningún problema ya que las etapas anteriores se pueden escalar fácilmente para obtener gramos de sustrato en sólo dos reacciones.

III.1.2.2. SÍNTESIS DE **12**

Una vez obtenidos los dos sintones, estábamos preparados para acometer la síntesis del compuesto **12**. Como anteriormente se ha citado, la semejanza con **3** hacía pensar que las mismas condiciones optimizadas para aquel caso servirían ahora para éste. Se repitió la reacción de formación de **11** y se adicionó sobre la amina recién preparada (**13**) disuelta en benceno. Se obtuvo un sólido marrón.

El espectro de ^1H RMN en CD_3OD (figura III.4) mostraba un complicadísimo patrón con infinidad de señales y acoplamientos en cada señal. Esto se debía, posiblemente a que como en **3**, existían numerosos equilibrios tanto conformacionales como de protonación en diversas posiciones.

Se decidió entonces tratar de minimizar todos estos intercambios añadiendo CF_3COOH directamente al tubo de RMN. El compuesto así forzosamente protonado no era soluble en ninguno de los anteriores disolventes (CD_3CN , CD_3OD), por lo que fue necesario utilizar D_2O . El espectro en estas nuevas condiciones se simplificaba mucho, poniendo de manifiesto que el sólido marrón era, en efecto de **12**, que se obtuvo con un 68% de rendimiento, probablemente en forma de dihidrocloruro.

¹¹⁸ L. Echegoyen, Y. Hafez, T. Torres, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 3814.

¹¹⁹ A. Bencini, A. Bianchi, E. García-España, V. Fusi, M. Micheloni, P. Paoletti, J.A. Ramírez, A. Rodríguez, B. Valtancoli, *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, **1992**, 1059.

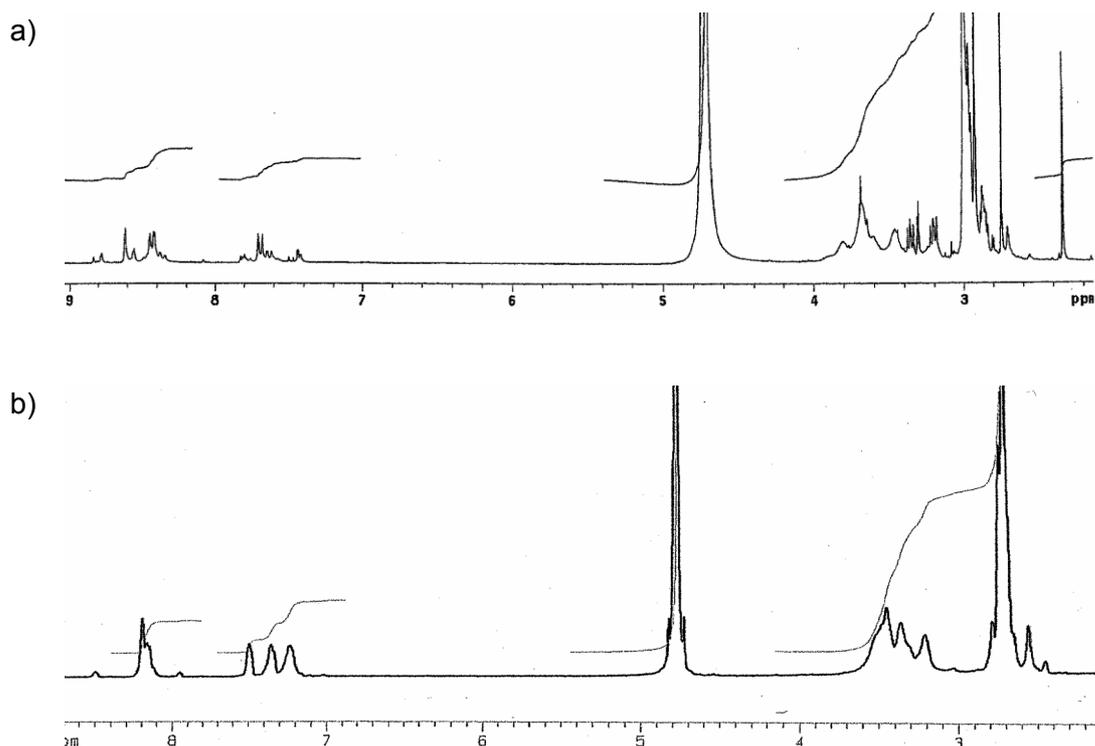
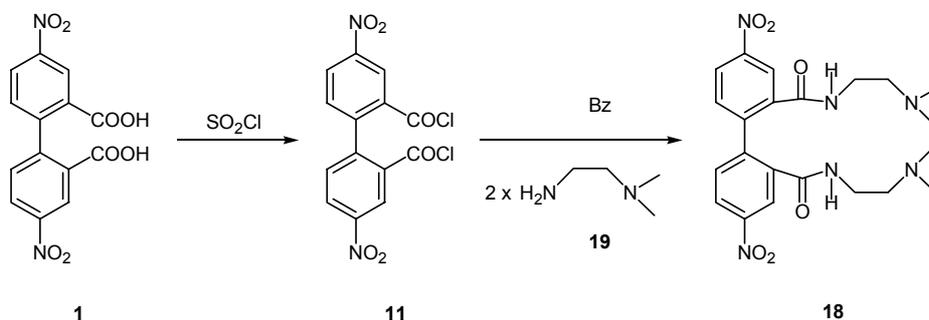


Figura III.4: Los equilibrios entre los diferentes rotámeros y estados de protonación de **12**. a) Espectro de **12** en CD₃OD. 300MHz, 25°C. b) Espectro de **12** en D₂O después de la adición de un exceso de CF₃COOH. 400MHz, 25°C.

III.1.3. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIMETILETILENDIAMINOCARBONIL)-4,4'-DINITROBIFENILO (**18**)

Con el fin de estudiar la influencia del grupo metilo sobre el nitrógeno de amida, se planteó la síntesis de **18**, según el esquema III.11:



Esquema III.11

El compuesto **18** posee un hidrógeno sobre el nitrógeno de la amida, que de ser arrancado por una base adecuada y generarse así una carga negativa neta, podría incrementar notablemente la afinidad del ligando por un centro metálico.

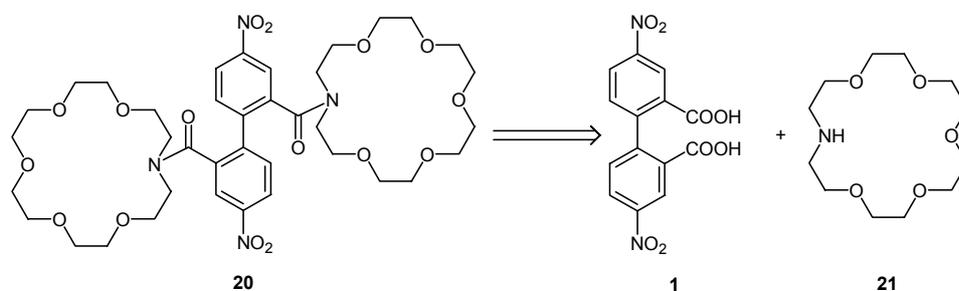
Aplicando el mismo procedimiento que en el caso de **3** y **12**, el producto obtenido fue un sólido marrón, que al analizarlo espectroscópicamente resultó ser **18**.

El hecho de que **19** fuese una amina primaria, hacía pensar en la posibilidad de que una vez reaccionado el primer equivalente se pudiera dar una ciclación interna. Sin embargo este producto no se observó en ningún caso.

Se obtuvo pues **18**, probablemente como dihidrocloruro, de una manera sencilla y con un rendimiento semejante al de **3**, un 65%.

III.1.4. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(1-AZA-18-CORONA-6-CARBONIL)-4,4'-DINITRO-BIFENILO (**20**)

Simultáneamente a los estudios anteriores se pensó en preparar el compuesto **20**. En este trabajo se ha citado ya en numerosas ocasiones que en un sensor molecular, tan importante es la generación de la señal una vez se ha dado el reconocimiento supramolecular como el propio proceso de reconocimiento. En la introducción hemos citado los factores que lo rigen, siendo uno de ellos, la información que hay almacenada en el receptor. Así pues, un ligando podando, tendrá una amplia libertad para disponer los centros de coordinación en cualquier dirección del espacio. La única información será pues el tipo de átomo dador que posea. Un éter corona o un azacoronando y en general, un ciclo, presenta además una información geométrica adicional. No todos los cationes “encajan” en el anillo. Unos son tan pequeños que no dan buenas interacciones con todos los átomos dadores y otros son tan grandes que no pueden introducirse en la cavidad. Así pues, la selectividad que pueden presentar este tipo de compuestos es mucho mayor que en el caso de los podandos. Y ahí reside el interés que presenta esta molécula. Para llegar a **20** se propuso un procedimiento análogo al que se siguió en la síntesis de **3** y de **12** (esquema III.12).



Esquema III.12

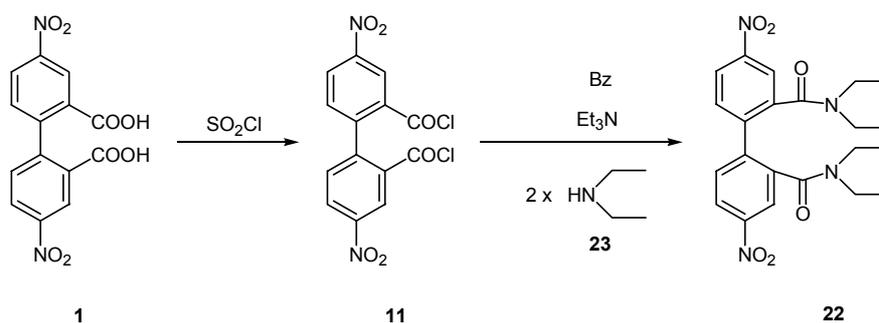
La única diferencia es que ahora, el propio producto de reacción no puede actuar como base, puesto que no cuenta con ese segundo nitrógeno amínico por lo que en la

reacción se agregó trietilamina. En la reacción se obtiene el compuesto **20** con elevada pureza y moderado rendimiento (63%).

III.1.5. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIETILAMINOCARBONIL)-4,4'-DINITRO-BIFENILO (**22**)

Finalmente, se pensó que sería muy conveniente sintetizar una molécula con estructura común a todos los ligandos previamente preparados que no presentara ningún centro complejante más allá del grupo amida. De este modo, se podría estudiar la influencia de los centros receptores de cada uno de los ligandos, por comparación con los resultados obtenidos al realizar experimentos similares sobre **22**. **22** sería pues, un compuesto control.

La síntesis se llevó a cabo siguiendo el procedimiento empleado con anterioridad para **20** a partir de **11** y dietilamina (**23**) (esquema III.16).



Esquema III.13

La reacción tuvo lugar en presencia de trietilamina, actuando como base de igual forma que en el caso de **20**. Se obtuvo un sólido naranja, **22**. Se purificó sin ningún problema en columna cromatográfica para dar un 63% de rendimiento tras purificación.

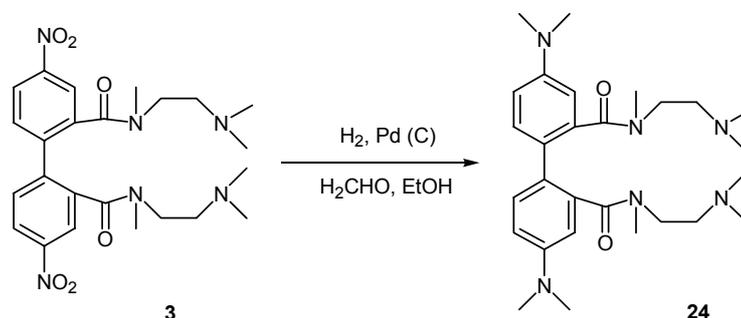
III.2. SÍNTESIS DE COMPUESTOS DERIVADOS DE 2,2'-BIS(AMINO-CARBONIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO

Una vez optimizado el proceso de síntesis de los nitroderivados de bifenilo, se procedió a reducir los grupos nitro de los mismos a dimetilamino para obtener así, subunidades de TMB.

III.2.1. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N,N',N'-TRIMETILETILENDIAMINOCARBONIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (24)

La alquilación reductiva de los grupos nitro en **3** lleva a un compuesto **24** con potencial capacidad complejante frente a diferentes cationes metálicos.

La reacción de alquilación reductiva empleando una hidrogenación catalítica (con Pd al 10% en C) y formaldehído como agente alquilante ya había sido empleada por nuestro grupo anteriormente con resultados satisfactorios. Se aplicaron las mismas condiciones de reacción sobre la molécula **3** (esquema III.14). La reacción fue prácticamente cuantitativa, atendiendo a la cromatografía de capa fina en alúmina, sin embargo, el espectro de RMN revelaba que **24** no estaba totalmente puro. Existía una señal muy intensa debida a la formación de un polímero del formaldehído. **24** se purificó por lavado de columna cromatográfica, dando un rendimiento de 72%. En alguna ocasión, durante la etapa de purificación de **24**, se ha observado que la columna adquiere una tonalidad rojiza. Esto es debido a que la TMB, en presencia de aniones Cl⁻ o radicales Cl· (provenientes del CH₂Cl₂) forma un radical coloreado. Trazas de este radical dan este color rojo a pesar del cual, **24** se recupera de la columna sin haberse visto prácticamente afectado.

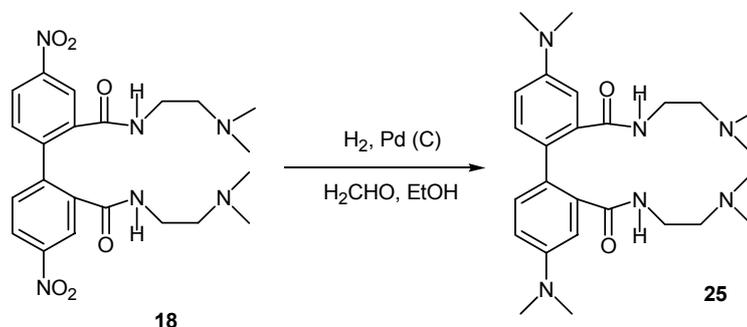


Esquema III.14

Además **24** presenta emisión de fluorescencia perceptible a simple vista al ser irradiado con el tubo de luz UV empleado para revelar placas de TLC.

III.2.2. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIMETILETILENDIAMINOCARBONIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (25)

Siguiendo el mismo procedimiento (esquema III.15) que en el caso de **24**, obtuvimos **25** a partir de **18**.

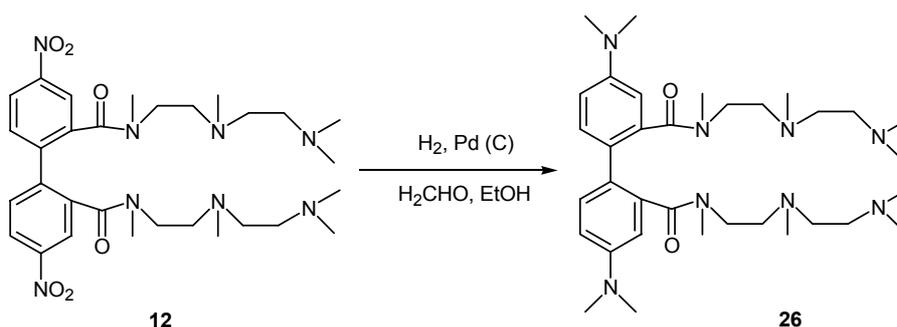


Esquema III.15

Al igual que en el caso anterior, la reacción fue cuantitativa. Finalmente se obtuvo un 68% de **25** como un aceite verdoso fluorescente.

III.2.3. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(2,5-DIMETIL-2,5,8-TRIAZANONANO-CARBONIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (26)

La síntesis de **26** se realizó siguiendo nuevamente el esquema de reacción que llevó a **24** (esquema III.16). A partir de **12**, se obtuvo **26** con un rendimiento del 73%, pero que tras su purificación cromatográfica se redujo al 33%.

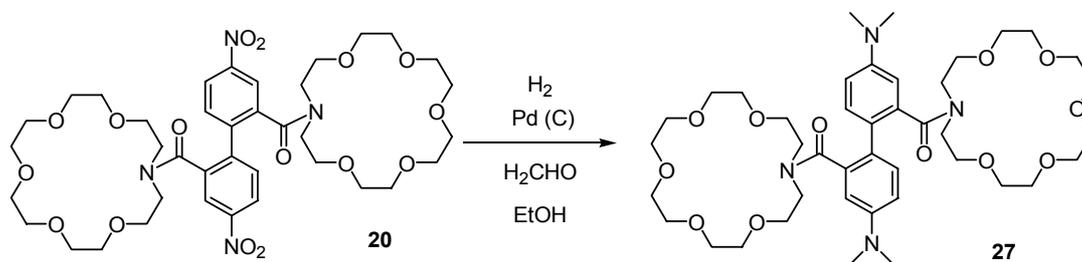


Esquema III.16

Al igual que en el caso de **12**, el compuesto **26** dio innumerables señales y acoplamientos en el espectro de ^1H y ^{13}C , debido a los diferentes equilibrios rotacionales y de protonación en que podría verse implicado. Incluso muchas señales estaban cerca de coalescencia y algunas veces a penas se podían distinguir de la línea base. Por todo ello se decidió protonar con CF_3COOH en D_2O . De este modo se obtuvo un espectro mucho más racionalizable.

III.2.4. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(1-AZA-18-CORONA-6-CARBONIL)-4,4'-BIS-(DIMETILAMINO)-BIFENILO (27)

La síntesis de **27** se acometió a partir de **20** siguiendo el procedimiento estándar utilizado en la síntesis de **24** (esquema III.17).

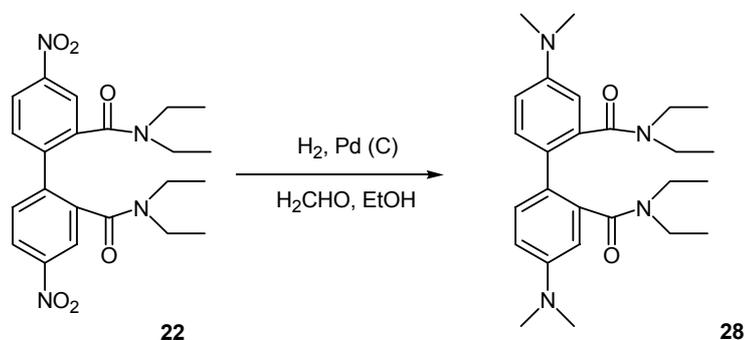


Esquema III.17

Sorprendentemente la reacción, tras el filtrado del catalizador solamente dio lugar a un 58% del producto. Pero por el contrario, la pérdida de producto en la purificación fue menor que en los casos anteriores obteniéndose un rendimiento final del 50%.

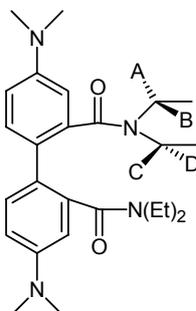
III.2.5. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIETILAMINOCARBONIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (28)

Finalmente, se redujo también **22** con el fin de obtener un producto que sirviera de control para los experimentos de complejación de esta nueva familia de compuestos derivados de la TMB (esquema III.18). La síntesis y sobre todo, la purificación de **28** tampoco planteó ningún problema al no contener ningún grupo amino alifático. Se obtuvo un rendimiento del 60%. A diferencia del resto de compuestos pertenecientes a esta generación, este es el único producto sólido cristalino, con un elevado punto de fusión (164-166 °C).



Esquema III.18

Es de reseñar que, mientras que en el espectro de ^1H del compuesto de partida **22**, los protones A y B resultaban homotópicos, al igual que C y D entre ellos, en el del recién sintetizado **28**, ahora A y B eran, al igual que C respecto a D, diastereotópicos según se desprendió del análisis de espectros bidimensionales de tipo HSQC (esquema III.19).



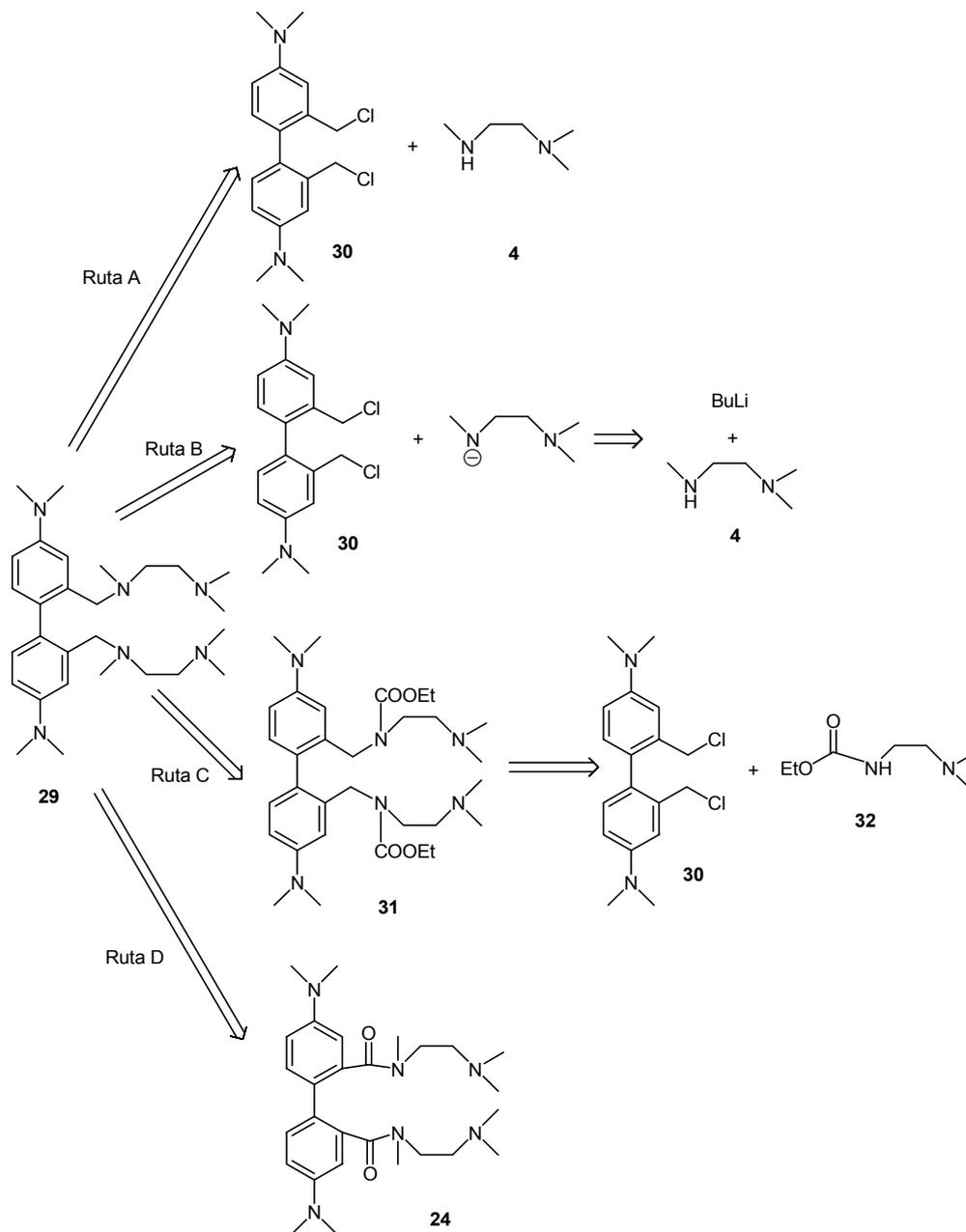
Esquema III.19

III.3. SÍNTESIS DE COMPUESTOS DERIVADOS DE 2,2'-BIS(AMINOMETILEN)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO

Una reducción de los compuestos 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenílicos daría compuestos de tipo 2,2'-bis(aminometilen)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenílico, muy interesantes también desde el punto de vista de la detección de cationes o aniones mediante la medida de la fluorescencia, puesto que contarían con un fluoróforo diferente a los primeros. Pero la experiencia del grupo indicaba que los compuestos de tipo éster o amida bencílica derivados de TMB no siempre eran fáciles de reducir por su inercia y su baja solubilidad. Es por esto que, simultáneamente a la síntesis de los 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenilos, se decidió llevar a cabo la preparación de derivados de 2,2'-bis(aminometilen)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenilo por otras vías diferentes.

III.3.1. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N,N'-TRIMETILETILENDIAMINOMETILEN)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (29)

Para hacer frente a la síntesis de **29** decidimos plantear los análisis retrosintéticos que se muestra en el esquema III.20.



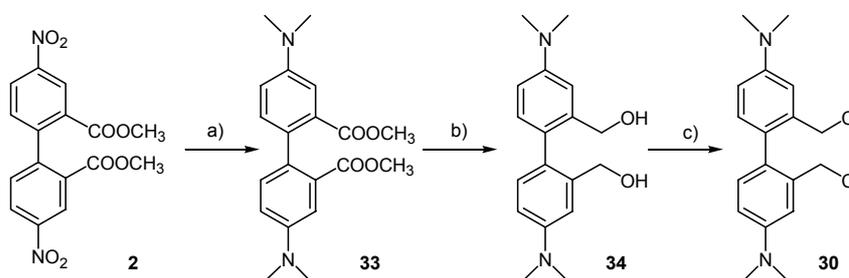
Esquema III.2.

La ruta A sería una reacción de sustitución nucleofílica entre la trimetiletilendiamina (**4**) y un compuesto bifenílico adecuadamente funcionalizado (**30**). La ruta B consistiría en hacer reaccionar nuevamente **4** y **30** pero esta vez bajo condiciones cinéticas, a través del amiduro de **4**. La ruta C implicaría la transformación de **30** en el carbamato **31** por reacción con **32** y una posterior reducción del grupo etoxicarbonilo. La ruta D consistiría en la reducción de **24**.

El compuesto **30** es común a las tres primeras rutas, por ello dedicaremos el primer apartado a describir su síntesis, y en los siguientes se estudiará cada una de las rutas, así como los resultados obtenidos.

III.3.1.1. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(CLOROMETIL)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (**30**)

El compuesto **30** se obtuvo a partir del compuesto **2** mediante la secuencia sintética mostrada en el esquema III.21 y que ya había sido previamente optimizada en nuestro grupo de trabajo.



Esquema III.21: a) H₂ / Pd (C), H₂CO, EtOH; b) LiBH₄, Et₂O; c) SOCl₂

La reducción de los grupos nitro de **2** a dimetilamino para dar la N,N,N',N'-tetrametilbencidina se llevó a efecto fácilmente mediante una metilación reductiva¹²⁰ con hidrógeno, utilizando como catalizador Pd/C y como agente alquilante formaldehído en disolución acuosa (30%) obteniéndose **33**.

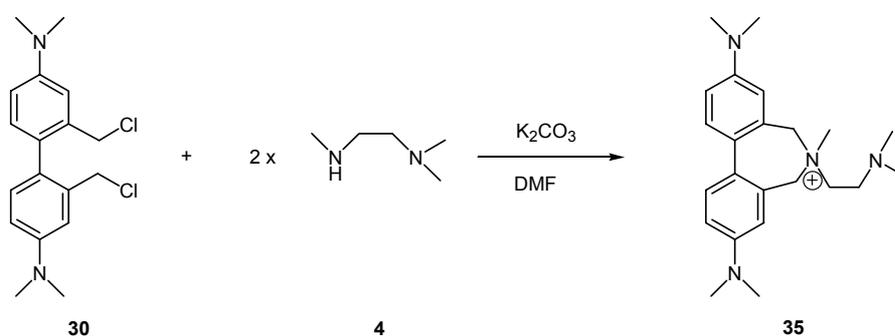
El grupo éster se redujo al alcohol correspondiente **34** empleando LiBH₄, puesto que la experiencia del grupo demostraba que éste era el mejor agente reductor frente a otros frecuentemente empleados como el LiAlH₄, NaBH₄ o Red-Al, etc.

Finalmente, a partir del diol **34** se obtuvo por tratamiento con SOCl₂ el dicloruro deseado **30**. La síntesis de **30**, aunque larga, emplea reacciones sencillas que no dan problemas, ni en la propia reacción ni en la posterior purificación del producto y es una secuencia que está bien optimizada.

¹²⁰ P. Newman, P. Rutkin, K. Mislaw, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 465.

III.3.1.2. SÍNTESIS DE 29. RUTA A

Esta ruta parecía en principio la más conveniente dada la facilidad de obtención de **30** y que **4** es un compuesto comercial y asequible. La reacción se hizo en DMF y como base se empleó el K_2CO_3 . Sin embargo el producto que se obtuvo no fue el esperado **29** sino **35** (esquema III.22). Parece pues, que una vez que ha entrado la primera molécula de diamina **4**, el intermedio prefiere evolucionar a través de un ataque intramolecular para dar una sal de amonio cuaternario frente a un ataque intermolecular, a pesar de que se forma un anillo de 7 miembros. Este tipo de comportamiento, en principio inusual, ya se había observado en compuestos relacionados como los descritos por Insole et al.¹²¹.



Esquema III.22

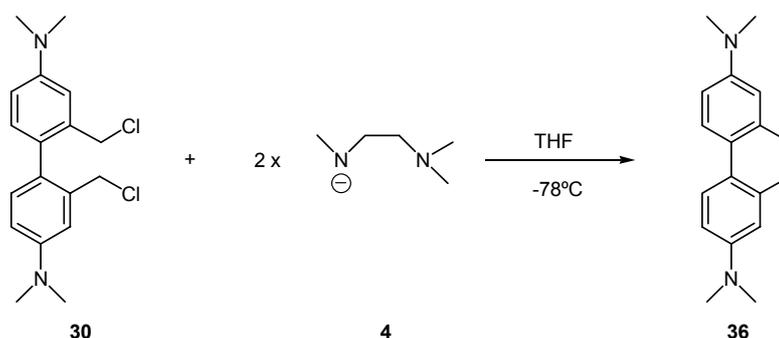
III.3.1.3. SÍNTESIS DE 29. RUTA B

La ruta B (esquema III.23) se planteó a partir del resultado obtenido en la ruta A. Para evitar la reacción intramolecular favorecida por el control cinético frente a la intermolecular, se acrecentó la nucleofilia del reactivo y se trabajó a baja temperatura. A partir de la diamina **4** se generó el correspondiente amiduro empleando $BuLi$ ¹²² y el dicloruro **30** se adicionó sobre éste a $-78^\circ C$. El análisis de la mezcla de reacción demostró que el producto mayoritario obtenido fue **36**.

La obtención de **36** se cree que está favorecida por la gran basicidad del amiduro que arranca un protón de uno de los metilenos bencílicos, generándose un carbanión capaz de dar una reacción de sustitución intramolecular de cloruro, para formar un nuevo ciclo que evolucionaría hasta el esqueleto aromático de fenantreno por eliminación de HCl.

¹²¹ D.M. Hall, J.M. Insole, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1972**, 1164.

¹²² E.M. Brun, S. Gil, M. Parra, *Tetrahedron Asym.*, **2001**, 12, 915.



Esquema III.23

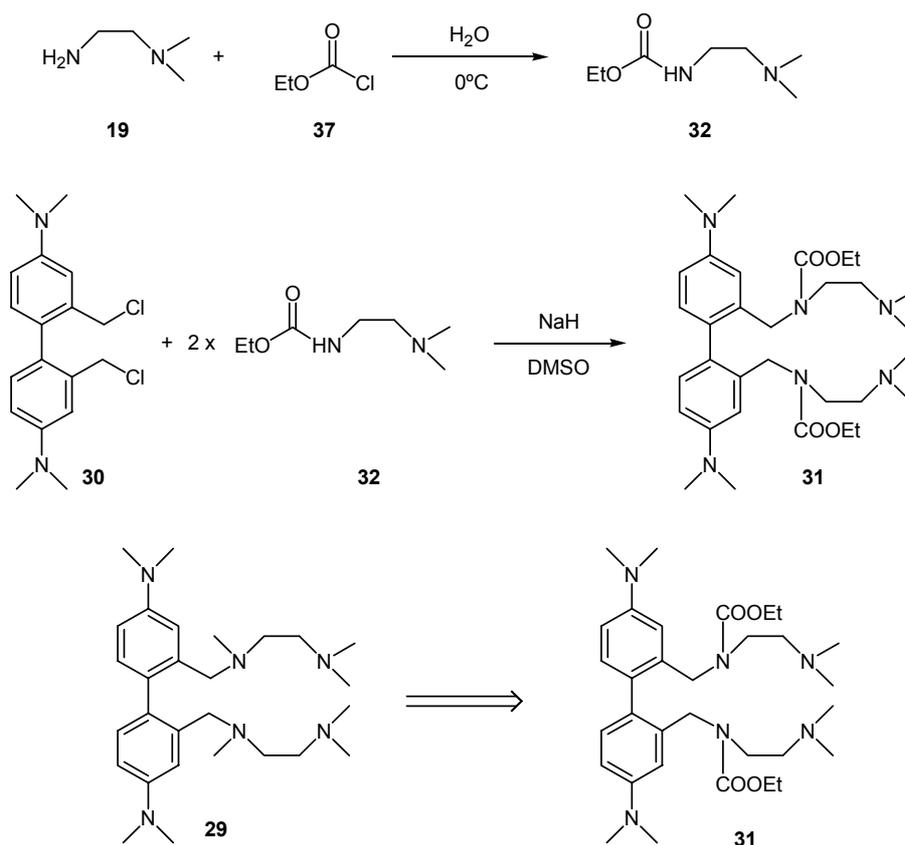
Para confirmar esta hipótesis se trató el dicloruro **30** a -78°C en THF con dos equivalentes BuLi, obteniéndose nuevamente el compuesto **36**.

III.3.1.4. SÍNTESIS DE 29. RUTA C

Considerando los resultados obtenidos en las rutas A y B, en la ruta C se ajustaron las condiciones de reacción para evitar las posibles ciclaciones para lo cual se recurrió al empleo de carbamidas que ya habían sido utilizadas por Sutherland et al.¹²³ en reacciones similares. A partir de la reacción de la N,N-dimetiletlenodiamina (**19**) con cloroformiato de etilo (**37**) en agua a baja temperatura se obtuvo fácilmente la N-etoxicarbonil-N',N'-dimetiletlenodiamina (**32**) con un rendimiento del 64% (esquema III.24). La sencillez del proceso de purificación y el hecho de que los productos de partida son comerciales y baratos, compensa con creces el moderado rendimiento obtenido en la reacción.

El siguiente paso fue la reacción de **32** con **30**. Empleando NaH en DMSO se generó el anión sobre el nitrógeno carbamídico y una vez formado, se añadió el compuesto **30** también disuelto en DMSO. La purificación del crudo de reacción fue muy difícil, por lo que sólo pudieron conseguirse 12 mg de producto **31** y no totalmente puro.

¹²³ D.P.J. Pearson, S.J. Leigh, I.O. Sutherland, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, **1979**, 3113.

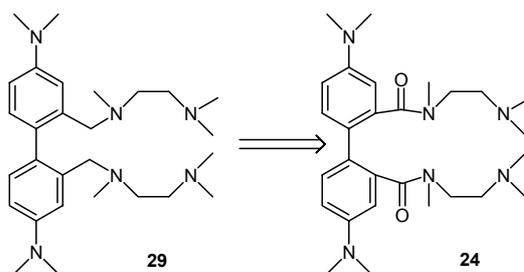


Esquema III.24

La experiencia del grupo en compuestos similares indicaba que sería factible reducir los grupos N-etoxicarbonil a N-metil empleando LiAlH_4 en éter seco, con lo que se **31** se transformaría en **29**, aunque el requisito previo, obviamente era obtener suficiente cantidad de **31** para poder llevar a cabo la reacción. Sin embargo, este trabajo no se continuó ya que en este momento se había encontrado una ruta alternativa de preparación de este compuesto que presentaba grandes ventajas.

III.3.1.5. SÍNTESIS DE 29. RUTA D

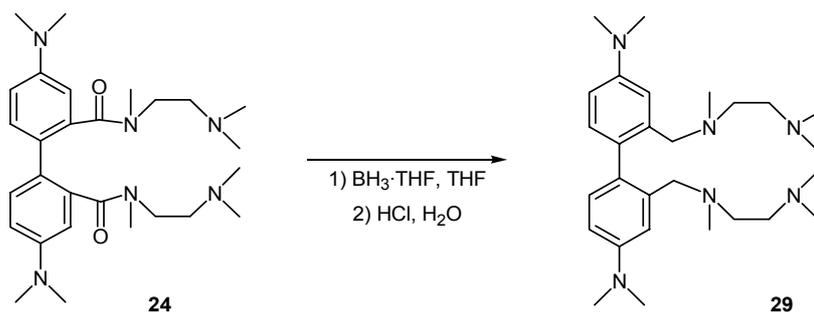
A estas alturas de trabajo, se había conseguido preparar ya los compuestos de tipo 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-bis(dimetilamino)-bifenilo a partir de los 2,2'-bis(aminocarbonil)-4,4'-dinitrobifenilo. Por ello, y en vista de las dificultades observadas para las 3 rutas anteriores, se decidió probar una reducción de la amida **24** a amida, que nos daría el compuesto **29** (esquema III.25).



Esquema III.25

Recurriendo a la bibliografía, dos fueron los reactivos propuestos para llevar a cabo dicha reducción: LiAlH_4 y $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$.

Sin embargo, el primer hidruro fue desechado directamente a favor del segundo porque la experiencia del grupo en reducciones similares había demostrado que el LiAlH_4 era un agente demasiado agresivo que en multitud de ocasiones más que una reducción lo que hacía era romper el enlace carbono-nitrógeno de la amida. Por el contrario, pruebas hechas con $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ en THF habían reducido satisfactoriamente la amida a amina. Por ello, se decidió probar directamente con el diborano en THF. Se adaptó el procedimiento experimental descrito por Brown.¹²⁴ Éste consigue reducciones sobre, por ejemplo, la N,N-dimetilbenzil amida a N,N,N-dimetilbenzil amina con tan sólo 1h de reacción, obteniendo un 98% de rendimiento. En nuestro caso (esquema III.26), 1 hora no fue suficiente y hubo de incrementarse el tiempo hasta las 48h además de añadirse un elevado exceso (entre 1:10 y 1:50) de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ con respecto a la amida a reducir. Tras una hidrólisis del complejo N-B formado y una extracción en medio básico, se obtuvo el producto **29** con un rendimiento del 91%.



Esquema III.26

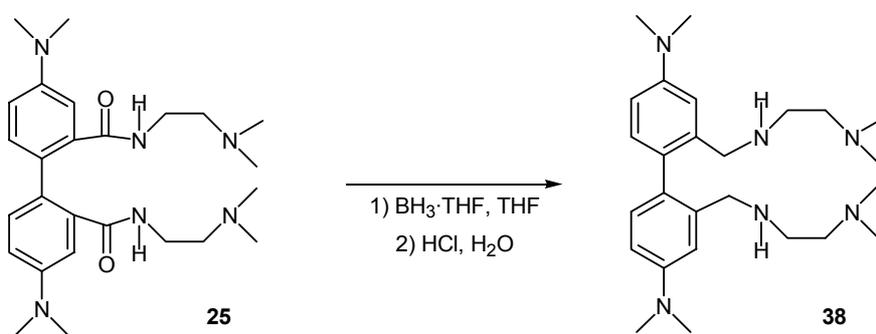
El espectro de ^1H RMN, aunque libre de equilibrios conformacionales, se complicaba ya que aumentaba el número de posibles equilibrios de protonación puesto que el número de aminas en el apéndice podando se duplicaba. La complejidad del

¹²⁴ H.C. Brown, P. Heim, *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 3566.

espectro nos llevó a cambiar el disolvente habitual (CD_3CN) a D_2O para añadir CF_3COOH como se había hecho en ocasiones anteriores. El espectro se simplificaba y así se pudo caracterizar espectroscópicamente el compuesto **29** sin dificultad.

III.3.2. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIMETILETILENDIAMINOMETILEN)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (38)

El compuesto **38** se obtuvo por reducción con $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ según el procedimiento descrito (esquema III.27) con un rendimiento del 34% después de su purificación cromatográfica.

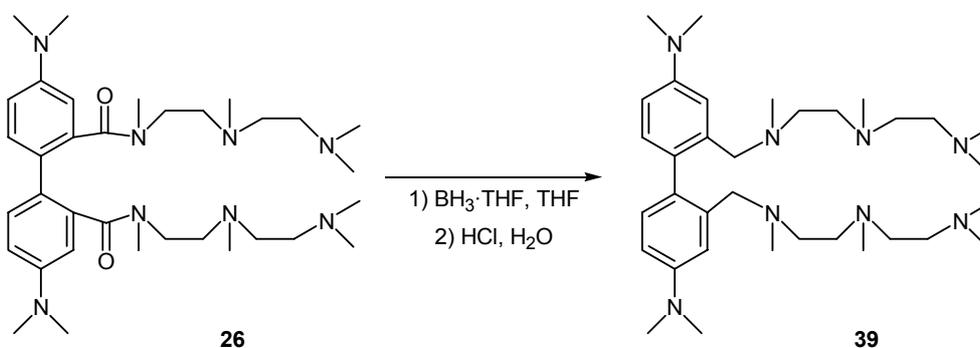


Esquema III.27

Nuevamente **38** poseía un espectro complicado de ^1H RMN en CD_3CN y se pensó en el empleo de $\text{D}_2\text{O} + \text{CF}_3\text{COOH}$ para desplazar los equilibrios de protonación como en el caso de **29**. Sin embargo, surgió un inconveniente que hizo que acudiésemos a una técnica hasta ahora nunca empleada. El compuesto **38** es bastante soluble en D_2O , pero al adicionar el CF_3COOH aparece un precipitado blanquecino que enturbiaba el tubo. La solubilidad de dicho precipitado es suficiente para adquirir el espectro de ^1H sin problemas, pero no para adquirir un espectro de ^{13}C . Muchas de las señales no aparecen incluso después de 8 horas de acumulación de señal. Este hecho hizo que tuviésemos que recurrir a espectros bidimensionales en el que se excitara el ^{13}C , pero se leyera el canal del ^1H , mucho más sensible. En este caso, concretamente, se dedujo los desplazamientos de los C empleando la secuencia HMBC, un espectro de correlación ^1H - ^{13}C a larga distancia (3 enlaces o a veces incluso 5 si los núcleos se encuentran en disposición W).

III.3.3. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(2,5-DIMETIL-2,5,8-TRIAZANONANOMETILEN)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (39)

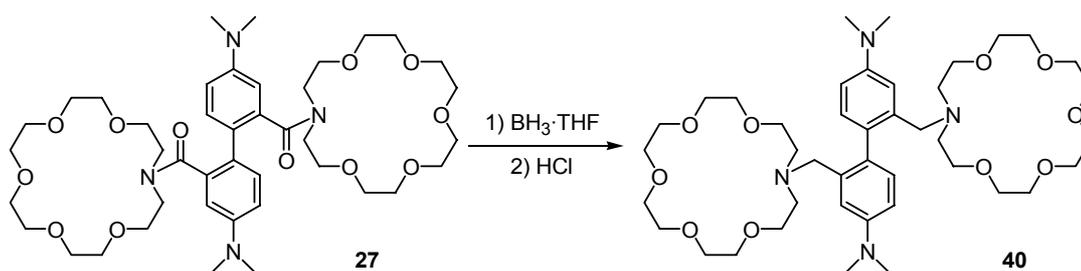
Siguiendo el procedimiento general de reducción con $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ se obtuvo **39** a partir de **26** (esquema III.28).



El rendimiento general fue del 45%. El problema de la elevada multiplicidad en las señales en el espectro de ^1H en CD_3CN nuevamente se resolvió cambiando el disolvente a D_2O y añadiendo CF_3COOH .

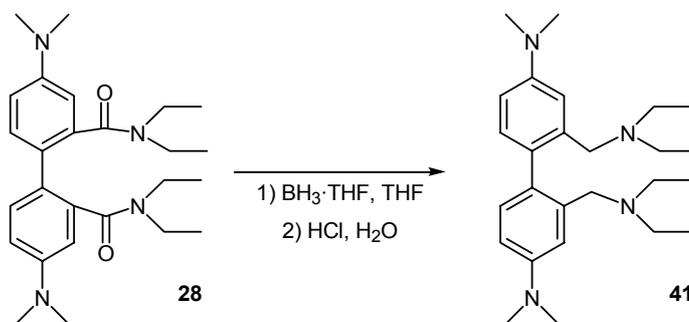
III.3.4. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(1-AZA-18-CORONA-6-METILEN)-4,4'-BIS(DIMETILAMINO)-BIFENILO (40)

De igual manera que los compuestos anteriores se redujo **40** a partir de **27** (esquema III.29) con un rendimiento del 54%.



III.3.5. SÍNTESIS DE 2,2'-BIS(N,N-DIETILAMINOMETILEN)-4,4'-BIS-(DIMETIL-AMINO)-BIFENILO (41)

Por último, se llevó a cabo la síntesis de **41** a partir del compuesto amídico **28** (esquema III.30) con un 70% de rendimiento.



Esquema III.30

Este compuesto presentó el mismo problema que **38**. El espectro de ¹³C no se resolvía (al menos, todas las señales) en un tiempo prudencial de acumulación. Por ello se usaron técnicas de resonancia bidimensional. Así con la secuencia HSQC (correlación ¹H-¹³C a corta distancia) se determinaron los desplazamientos de los carbonos primarios y secundarios, y mediante el HMBC se estableció el de los cuaternarios.

III.4. CONCLUSIONES

A modo de resumen, la figura III.5 presenta los 15 potenciales sensores preparados durante este periodo de síntesis. Con ellos se pasó, como se describe en los capítulos sucesivos a estudiar su comportamiento frente a metales alcalinos, alcalino-térreos, de transición, de post-transición y aniones.

Síntesis de Ligandos Nitrogenados Derivados de Bifenilo

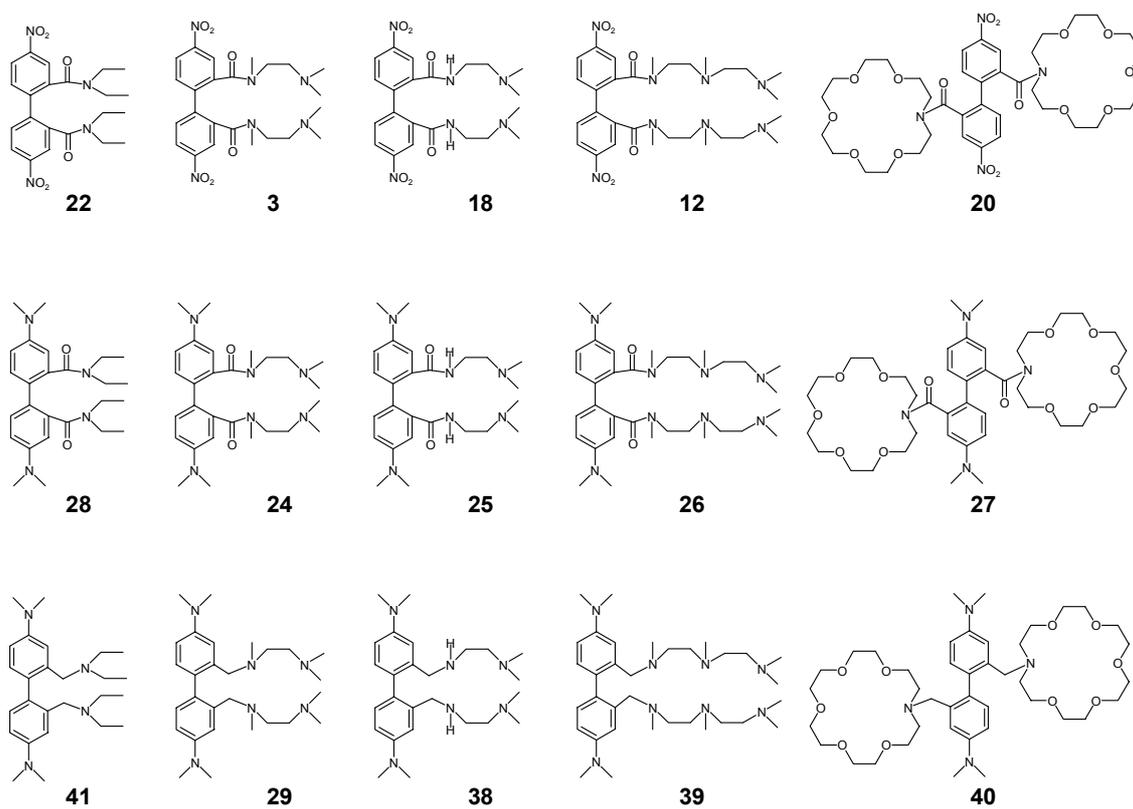


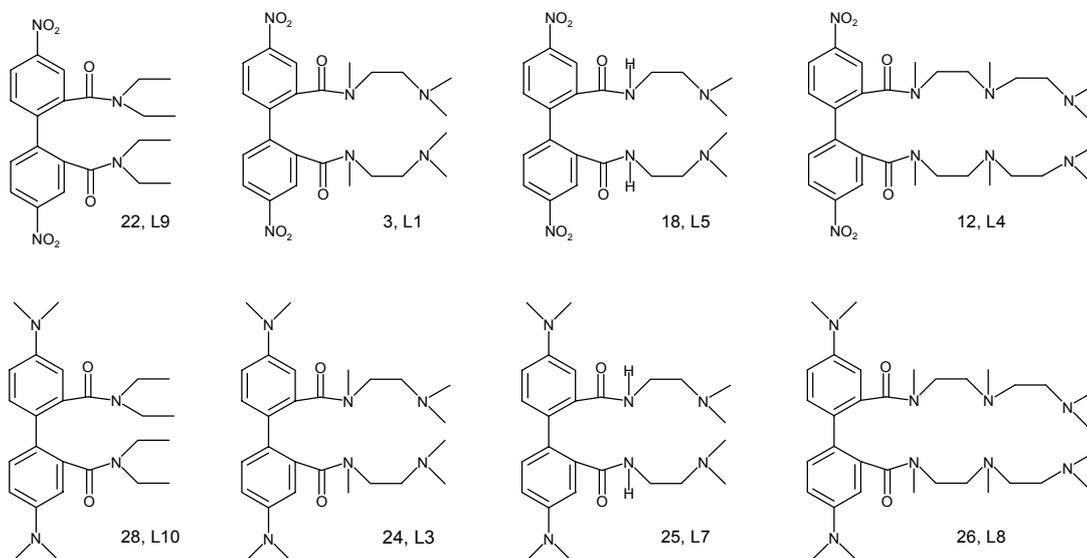
Figura III.5: Resumen de todos los ligandos sintetizados en este capítulo.

CAPÍTULO IV

Poliazapodandos Derivados de 2,2'-bis(aminocarbonil)-bifenilo

En el capítulo III se ha abordado la síntesis de los compuestos que pueden ser potenciales sensores frente a la complejación de cationes o aniones. Sin embargo este desarrollo sintético no tuvo lugar aisladamente, sino que estuvo apoyado, evaluado y retro-alimentado por estudios paralelos que iban dirigidos a comprobar la utilidad de las moléculas obtenidas para los fines propuestos.

Los compuestos que se estudiarán en este capítulo son los siguientes:



Con el fin de simplificar el texto en esta parte de experimentos de complejación, se ha considerado oportuno utilizar una nomenclatura diferente para los ligandos. Así, como se puede apreciar en el esquema anterior, los ligandos **22**, **3**, **18**, **12**, **28**, **24**, **25** y **26** pasarán a denominarse **L9**, **L1**, **L5**, **L4**, **L10**, **L3**, **L7** y **L8** respectivamente.

IV.1. ESTUDIOS PRELIMINARES DE LA CAPACIDAD COMPLEJANTE DE L1 FRENTE A CATIONES DE METALES PESADOS

En primer lugar, se decidió estudiar el comportamiento químico de L1 frente a una batería de metales pesados. Así, por el procedimiento general de síntesis de complejos se adicionó, separadamente, a L1 disuelto en metanol, CdI_2 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, HgI_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{AcO})_2$ y $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ también disueltos en MeOH. Todas las sales produjeron precipitados copiosos, excepto $\text{Cu}(\text{AcO})_2$ que dio un cambio de color y $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ que produjo un aceite amarillo. La formación de complejos era evidente en todos los casos.

Se aislaron los sólidos y se determinaron sus puntos de fusión (tabla IV.1). La gran disminución en la temperatura de fusión del precipitado con respecto al punto de fusión de las sales inorgánicas iniciales nos permitió establecer que el complejo se había formado. El punto de fusión de L1 es superior a 350 °C por tratarse del diclorhidrato. L1 cuando está no protonado se presenta como un aceite. También se descartó la posibilidad de que el precipitado obtenido fuera el cloruro de los cationes metálicos que pudieran generarse por intercambio aniónico con el dihidrocloruro de L1.

Tabla IV.1: Puntos de fusión de los complejos de L1 obtenidos con diferentes sales metálicas.

Sal adicionada	P. f. Sal inorg. (°C) ¹²⁵	P. f. M^{2+}Cl_2 (°C) ¹²⁵	P. f. Complejo (°C)
CdI_2	387	tr. 34 ($\cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$)	135
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (anh.)	350	tr. 34 ($\cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$)	130
HgI_2	tr. 127	276	115-117
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	d 470	501	320
$\text{Cu}(\text{AcO})_2$	115	620	135
$\text{Zn}(\text{AcO})_2$	237	293	aceite

IV.1.1. ESTUDIOS ESPECTROSCÓPICOS POR IR Y UV

Para determinar la naturaleza de los complejos se estudiaron sus espectros de absorción en el IR y en el UV.

El análisis de los espectros de IR desveló que no existían diferencias acusadas entre los complejos y el ligando inicial (tabla IV.2) excepto en la banda de carbonilo. En los compuestos formados a partir de sales metálicas con carácter covalente (CdI_2 y HgI_2) ésta se desplaza hacia números de onda menores (en torno a 1606 cm^{-1}) y

¹²⁵ "The Merck Index", Merck & Co. Inc., New Jersey, 1996. 12ª Ed.

aparece un pequeño hombro a números de onda ligeramente superiores. La tendencia observada en los compuestos formados a partir de sales de metales con mayor carácter iónico es la inversa. La banda de carbonilo sale en estos casos en torno a 1635 cm^{-1} , pudiéndose distinguir un hombro a frecuencias ligeramente inferiores.

Tabla IV.2: Bandas de C=O y de -NO₂ en el espectro de IR de los complejos formados a partir de L1.

Complejo	Banda	Hombro nº onda	Banda N=O	Banda N=O
	C=O (cm ⁻¹)	ligeramente:	asim (cm ⁻¹)	sim (cm ⁻¹)
L1	1637.17	Inferiores	1523.06	1347.84
L1 · [CdI ₂] _n	1607.11	Superiores	1523.93	1348.90
L1 · [HgI ₂] _n	1607.05	Superiores	1523.48	1348.25
L1 · [Cd(NO ₃) ₂] _n	1637.42	Inferiores	1525.13	1350.33
L1 · [Pb (NO ₃) ₂] _n	1635.11	Inferiores	1524.7	1351.38
L1 · [Cu (AcO) ₂] _n	1634.07	Inferiores	1523.64	1348.66
L1 · [Zn (AcO) ₂] _n	1635.84	Inferiores	1524.12	1349.16

Esta evidencia nos llevó a pensar que en los complejos de las sales covalentes el carbonilo establece una interacción metal-L1 adicional. Esta interacción podría disminuir el carácter doble del enlace carbonílico con la consiguiente disminución en el número de onda de dicha banda. Este comportamiento no se observó en las sales iónicas probablemente como consecuencia de las repulsiones que aparecerían al aproximarse en el espacio dos centros cargados positivamente (fig. IV.1).

También se realizaron pruebas de absorción de radiación UV (fig. IV.2). En todos los complejos se vio un incremento en la absorbancia molar respecto a L1, aunque los cambios más notables se observaron para los complejos obtenidos a partir de compuestos metálicos covalentes (tabla IV.3). Así en los casos de L1·[CdI₂] y L1·[HgI₂] aparecía en ambos una nueva banda debida al enlace Metal-Yodo y se apreció un notable desplazamiento de la banda original de L1 hacia longitudes de onda mayores (batocrómico) para el compuesto con Hg. En los restantes complejos no se apreció el desplazamiento de esta banda, si bien se observaron cambios en su intensidad.

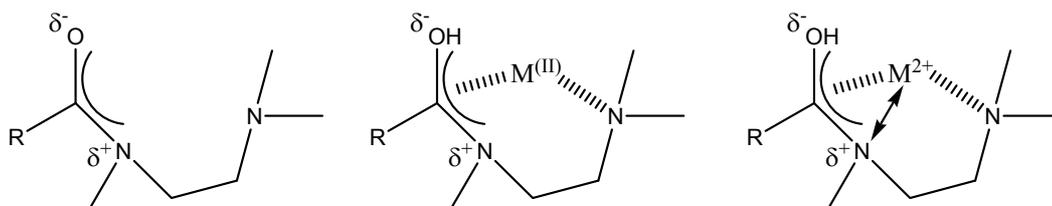


Figura IV.1: El grupo amida distribuye la nube electrónica de forma que sobre el nitrógeno queda una ligera deficiencia de carga (δ^+) y sobre el oxígeno un ligero exceso (δ^-). En los compuestos de tipo covalente se podría establecer una interacción entre el carbonilo y el metal, sin embargo, en los complejos de sales iónicas, esta interacción podría verse dificultada por la repulsión que aparecerían al aproximarse dos centros cargados positivamente.

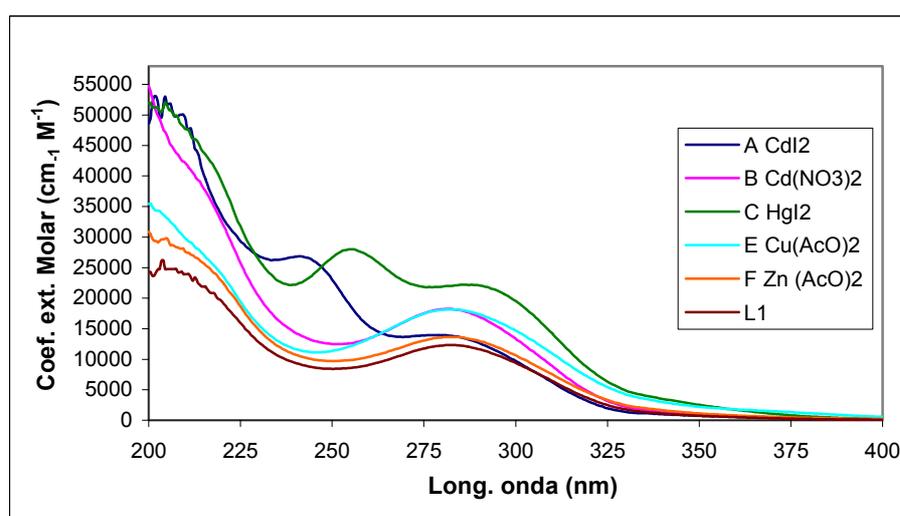


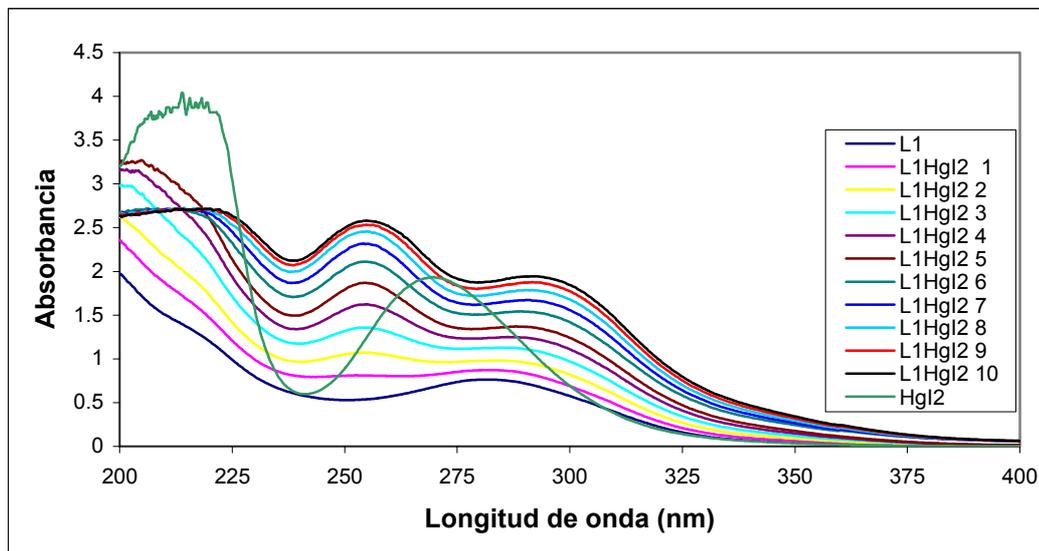
Figura IV.2: Espectros de absorción en el UV para los complejos de L1 en CH_3CN .

Tabla IV.3: Valores de λ_{max} de absorción en el UV y coeficientes de extinción molar para los diferentes complejos de L1 en CH_3CN .

Complejo	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1}\cdot\text{M}^{-1}$)
L1	280.5	12264.2
L1 · [CdI ₂] _n	240.0 / 279.5	26795.5 / 13973.6
L1 · [HgI ₂] _n	254.2 / 295.0	28032.0 / 22149.4
L1 · [Cd(NO ₃) ₂] _n	282.5	18223.0
L1 · [Cu (AcO) ₂] _n	282.0	18148.5
L1 · [Zn (AcO) ₂] _n	282.0	13652.9

Con el fin de determinar las estequiometrías de los complejos formados, se usó el método de la razón molar (apéndice B, pág. 251), aplicable a cualquier técnica espectroscópica que genere una respuesta proporcional a la concentración de analito.

a)



b)

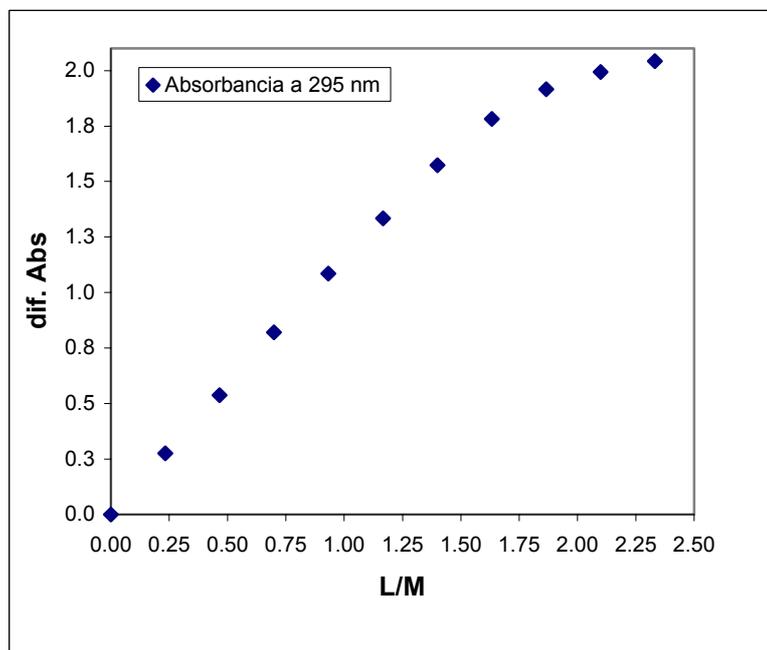


Figura IV.3: Aplicación del método de determinación de estequiometrías mediante espectroscopía de absorción en el UV al complejo L1 · [HgI₂]_n. a) espectros de absorción del experimento. b) representación de la variación de la absorción en uno de los máximos ($\lambda = 295$ nm) frente a la relación M/L. En este caso el cambio de pendiente se da a M/L = 2, con lo que se tiene n = 2.

El método esta basado en el cambio en la respuesta de la señal al ir añadiendo alícuotas de sal metálica a una concentración conocida de ligando. Cuando un ligando

puede formar diversos complejos con diferentes estequiometrías, la respuesta, por ejemplo, frente a UV de un complejo no tiene por qué ser igual que la del otro de diferente estequiometría. Así, cuando se representa Δ señal frente a M/L, un cambio en la pendiente implica un cambio en la estequiometría del complejo. De esta forma, la relación M/L permite hallar la fórmula molecular del complejo formado.

Para realizar el estudio se decidió utilizar la absorción en el UV, por ser la técnica en la que se observan mayores diferencias entre la señal del **L1** libre y la de sus complejos. Por la misma razón elegimos de entre todos los metales, los complejos **L1** · [HgI₂]_n. Los resultados se muestran en la figura IV.3.

Para hacer las representaciones de Δ Abs frente a M/L se tomaron los valores a $\lambda = 295$ nm que corresponde a uno de los máximos de absorción. Se obtuvo una inflexión a M/L =2, correspondiente a una estequiometría M₂L, es decir al complejo **L1** · [HgI₂]₂. En general, cuando se estudia mediante UV la formación de un único complejo se suele apreciar la aparición de un punto isobéptico. En nuestro caso no fue así, por lo que se realizó un análisis elemental de combustión del producto obtenido con el fin de disipar cualquier género de duda. Los resultados confirmaron la misma estequiometría para el complejo que la deducida para el método de la razón molar.

IV.1.2. ESTUDIOS DE DIFRACCIÓN DE RX

En los intentos de obtención de un monocristal del complejo, que permitiera desvelar la topología exacta de los átomos en el mismo, se usaron diversas técnicas para favorecer la cristalización tales como mezclas de disolventes MeOH/Hexano, CH₃CN/Hexano, difusión lenta de mal disolvente en buen disolvente, etc. Finalmente, se consiguió obtener el deseado monocristal por difusión lenta líquido-líquido en MeOH en un tubo en forma de H de **L1**·2 HCl y HgI₂. En la rama horizontal se depositaron varios cristales de los que se obtuvo una buena difracción de rayos X y consecuentemente, la resolución refinada de su estructura.

Se obtuvo una red cristalina inesperada. Así una celdilla unidad contiene dos moléculas dicatiónicas de **L1**·2H⁺ y dos “aniones-mitad” (es decir, dos aniones compartidos por dos celdas) independientes, de [Hg₂I₂Cl₄]²⁻ y [Hg₂I₆]²⁻. Se establece un par iónico entre el ligando diprotonado y el anión, pero cada uno de ellos permanece independiente de su contraión no apareciendo los enlaces de coordinación típicos de un complejo. Los aniones están constituidos por dímeros metálicos, [Hg₂I₂Cl₄]²⁻ y [Hg₂I₆]²⁻ en los que los centros metálicos están relacionados por un centro de inversión en el punto medio Hg·····Hg (fig. IV.4.a). En los dímeros los átomos de mercurio presentan una geometría tetraédrica con dos átomos de yodo formando un

punteo asimétrico [Hg(1)-I(1) 2.8422(9), Hg(1)-I(1)ⁱ (i: -x, 1-y, 1-z) 2.9426(10), Hg(2)-I(4) 2.9319(15), Hg(2)-I(4)ⁱⁱ (ii: 2-x, 2-y, -z) 2.8033(14) Å.

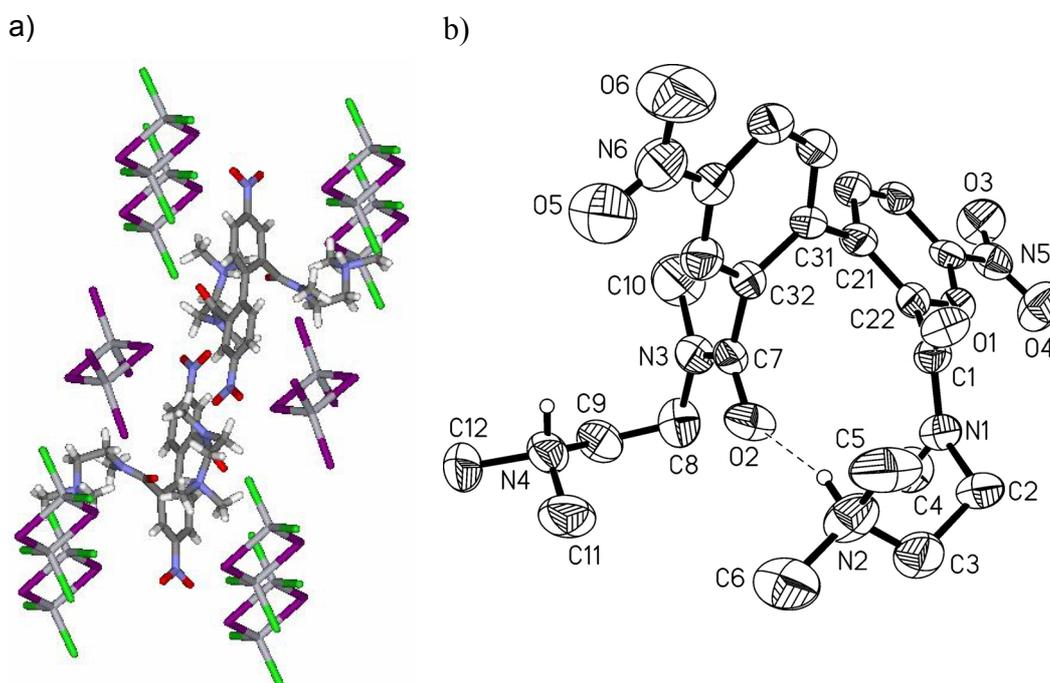


Figura IV.4: a) Esquema de la estructura de rayos X b) Gráfico elipsoide (50% de probabilidad) del catión del compuesto **L1**, mostrando las etiquetas de los átomos. Los átomos de hidrógeno se han omitido por claridad (excepto los NH).

Más interesante resultó la disposición mostrada por el ligando (fig. IV.4.b). El análisis de esta estructura dicatiónica (diprotonada) reveló que **L1** se encuentra presente en la estructura cristalina en una conformación cisoide-cisoide [O(2)-C(7)-N(3)-C(8) 1.0(15)°, O(1)-C(1)-N(1)-C(2) 13.4(14)°]. Los nitrógenos de amina de **L1** se encuentran ambos protonados. Pero lo más interesante de la estructura es el hecho de que ambos enlaces N-H actúan como enlaces de hidrógeno dadores, uno formando un enlace intramolecular N-H···O [N(2)···O(2) 2.761(12), H(2)···O(2) 1.88 Å, N(2)-H(2)···O(2) 163.0°] con el oxígeno carbonílico de la rama opuesta a su posición y el otro un enlace intermolecular con un cloruro de una molécula de [Hg₂I₂Cl₄]²⁻, [N(4)···Cl(5) 3.392(10), H(4)···Cl(5) 2.63 Å, N(4)-H(4)···Cl(5) 141.1°]. De esta forma, la conformación cisoide, aparentemente más energética, se estabiliza por una interacción de tipo enlace de hidrógeno.

El ángulo diedro entre los anillos aromáticos de bifenilo es de 64° [C(32)-C(31)-C(21)-C(22) 63.6(13)°].

Es también digno de mención, la existencia de una cierta distorsión en los ángulos tetraédricos de los átomos en las cadenas alifáticas, siendo este efecto mayor en la

rama cuyo N-H establece la interacción intermolecular que en la que la establece intramolecular [N(3)-C(8)-C(9) 115.0(10)°, C(9)-N(4)-C(11) 118.0(11)° para la primera y N(1)-C(2)-C(3) 113.1(9)°, C(5)-N(2)-C(3) 114.7(11)° para la segunda].

IV.2. DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE PROTONACIÓN DE L1, L5 Y L4 POR MÉTODOS POTENCIOMÉTRICOS

Dado que estábamos trabajando con compuestos de tipo poliamínico, se consideró muy interesante el conocimiento de las constantes de protonación de estos ligandos. La constatación experimental de que **L1** no forma complejo con Hg (II) se atribuyó a la protonación del ligando **L1**, durante el proceso de su síntesis. La protonación de los pares electrónicos no enlazantes de los nitrógenos amínicos evitarían la interacción de los mismos con el metal y sería así menos probable la formación del complejo.

Por este motivo, se decidió determinar las constantes de protonación por valoración potenciométrica del ligando, por el procedimiento estandarizado basado en la medida del pH a lo largo de una valoración ácido-base. Esta medida se efectúa con un electrodo de vidrio en presencia de agua. Se puede determinar constantes en mezclas de disolvente orgánico y agua, manteniendo siempre el exceso (molar) de agua respecto al disolvente orgánico.

De esta forma, los valores obtenidos servirán para prever la capacidad de protonación del ligando en función del pH del medio, si bien la limitación radica en que las experiencias de complejación se realizan en disolventes polares apróticos (principalmente con CH₃CN).

Se decidió utilizar una mezcla dioxano:agua (70/30, v/v). Se calibró la celda electroquímica y los valorantes mediante el método de GRAN¹²⁶, y se determinó que el pK de esta mezcla es pK = 15.9, es decir, superior al del agua.

Posteriormente se realizaron los ensayos sobre **L1**, **L5** y **L4** y se obtuvieron los valores reflejados en la tabla IV.4.

Tabla IV.4: Constantes de protonación de **L1**, **L5**, **L4** en dioxano:agua (70:30), 298 K.

Ligando	log β ₁	log β ₂	log β ₃	log β ₄
L1	7.21 ± 0.02	13.15 ± 0.03	----	----
L5	13.39 ± 0.03	20.96 ± 0.05	27.61 ± 0.05	----
L4	9.42 ± 0.03	17.64 ± 0.03	24.94 ± 0.04	29.01 ± 0.05

¹²⁶ G. Gran, *Analyst*, (London), **1952**, 77, 661.

Los diagramas de predominio de especies obtenidas con el programa HYSS¹²⁷ a partir de los valores de las constantes de protonación muestran la proporción de especies que coexisten a un mismo pH (fig. IV.5). Se pudo observar que, prácticamente a cualquier pH se tiene mezclas de diferentes estados de protonación.

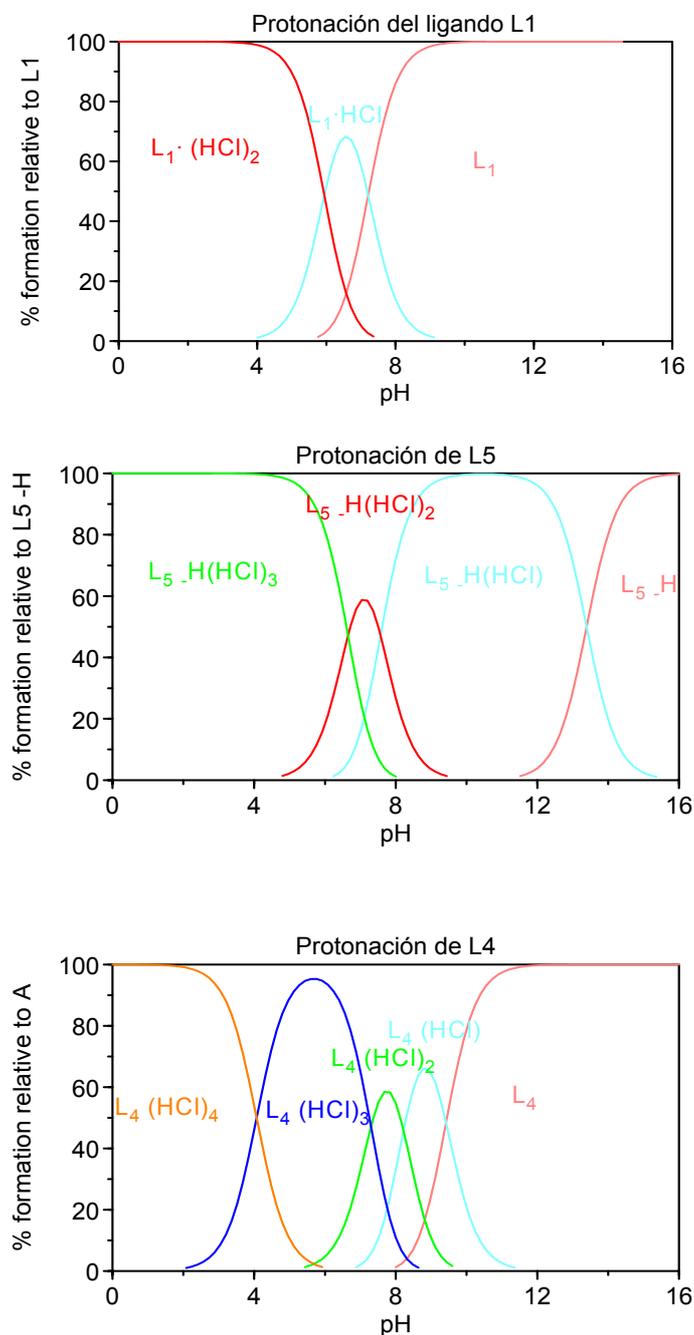


Figura IV.5: Diagramas de predominio de especies de protonación para los ligandos L1, L5 y L4 en dioxano:agua (70/30). $pK_{dis} = 15.9, 298 \text{ K}$.

¹²⁷ HYSS. Hyperquad Simulation and Speciation. Desarrollado por: L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coordination Chemistry Reviews*, **184** (1999) 311-318. Software disponible en www.hyperquad.co.uk/hyss.htm (enlace revisado 24.01.2005).

Como era de esperar, pese a la presencia del agua como disolvente mayoritario, no se observó la protonación del nitrógeno amídico en ninguno de los casos incluso en condiciones muy ácidas. Igualmente es interesante el hecho de que tampoco es posible la desprotonación del segundo grupo amida en **L5**, incluso a pH = 16.

Estos estudios revelaron el comportamiento ácido-base de las cadenas poliamínicas en fase acuosa, si bien los resultados no son enteramente extrapolables a los experimentos en los que no se utiliza agua como disolvente.

IV.3. ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA Y UV DE LOS LIGANDOS **L3**, **L7**, **L8** Y **L10**

La reducción de los grupos nitro en **L1**, **L5**, **L4** y **L9** condujo, como se ha dicho ya, a los compuestos **L3**, **L7**, **L8** y **L10** respectivamente. Éstos presentan la agrupación **TMB** y por tanto son fluorescentes. Berlman¹²⁸ estableció en 1970 que existía una relación entre las propiedades fluorescentes de derivados de bifenilo y el ángulo diedro formado por los dos anillos aromáticos. Esta dependencia conformacional de la emisión se ha utilizado en el diseño de diferentes quimiosensores fluorescentes.^{129,130} Los ligandos preparados por nuestro grupo pueden modificar su conformación por rotación alrededor de sus anillos aromáticos. Además, poseen un número variable de átomos de nitrógeno que pueden modular la complejación del metal de transición. Por ello se llevaron a cabo numerosos experimentos seguidos por espectroscopia de emisión de fluorescencia para estos ligandos.

IV.3.1. CARACTERÍSTICAS FOTOFÍSICAS DE LOS LIGANDOS

Se decidió en un principio, estudiar las características fotofísicas de los ligandos preparados y llevar a cabo su comparación con las del sistema base **TMB**.

Los espectros de UV de estos ligandos en CH₃CN mostraron máximos de absorción a 290, 280, 295 y 294 nm para **L3**, **L7**, **L8** y **L10** respectivamente (tabla IV.5). Todos los ligandos mostraban un claro desplazamiento hipsocrómico con respecto a la **TMB** ($\lambda_{\text{max}} = 310$ nm). Este desplazamiento hacia el azul, parece estar relacionado con la pérdida de la extensión de la conjugación de los anillos en el bifenilo debida a una reducción en la coplanaridad de los mismos.

¹²⁸ I.B. Berlman, *J. Chem. Phys.*, **1970**, 52, 5616.

¹²⁹ S.A. Mc Farland, N.S. Finney, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 1260.

¹³⁰ S.A. Mc Farland, N.S. Finney, *Chem. Commun.*, **2003**, 388.

Cálculos teóricos¹³¹ de modelización realizados tanto para la **TMB** como para el resto de ligandos indicaron valores de 38.7, 56.9, 74.9, 63.3 y 57.1° para **TMB**, **L3**, **L7**, **L8** y **L10** respectivamente para el ángulo diedro. Estos valores estaban de acuerdo con la hipótesis de una disminución de la coplanaridad indicada anteriormente.

Los valores obtenidos pueden explicarse por la presencia de sustituyentes en las posiciones 2,2' que introducen efectos estéricos de repulsión y, en el caso de **L7**, por un enlace de hidrógeno intramolecular.

Tabla IV.5: Parámetros de la absorción de UV y la emisión de fluorescencia en disolución de CH₃CN. λ_{exc} para **TMB** = 310 nm y λ_{exc} para **L3**, **L7**, **L8** y **L10** fue 340 nm. El error estimado para el valor de tiempo medio de vida (τ) fue ± 0.2 ns. Los rendimientos cuánticos (ϕ) se determinaron utilizando sulfato de quinina en H₂SO₄ (1M) como patrón, y la incertidumbre asociada fue $\pm 20\%$.

Ligando	$\lambda_{absorción}$ ($\epsilon / \text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)/nm	$\lambda_{emisión}$ /nm	ϕ	τ /ns
TMB	310 (34668)	401	0.043	11.6
L3	290 (18180)	482	0.041	2.0
L7	280 (15338)	473	0.035	3.1
L8	295 (23059)	483	0.035	2.1
L10	294 (27306)	478	0.041	2.3

Las propiedades fluorescentes de los ligandos preparados también presentan modificaciones claras, respecto a las de la **TMB**, que están de acuerdo con las observaciones hechas para la absorción en el UV respecto a la relación entre emisión y ángulo diedro.^{128,132}

El espectro de emisión de fluorescencia presentaba un máximo que, en todos los casos (482, 473, 483 y 478 nm) estaba a mayor longitud de onda que el de la **TMB** (tabla IV.5). Posiblemente, en el estado excitado se daría un PCT (ver apéndice A, pág. 240) entre el nitrógeno del dimetilamino y el carbonilo del anillo adyacente con un elevado momento dipolar (estado LE). Este elevado momento dipolar, polarizaría las moléculas de disolvente cercanas, lo que rebajarían la energía del estado S₁ (estado ICT). En el caso de la **TMB**, al no contar con ningún grupo electrón-atrayente, este PCT tendría un momento dipolar mucho menor y por tanto, el efecto de estabilización por el disolvente se daría en menor extensión y así la diferencia energética entre S₁ y S₀ sería mayor (fig. IV.6).

¹³¹ La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MMX como campo de fuerza incluidos en el programa PcModel para Windows versión 8.00.1, 14 junio 2001, Serena Software (www.serenasoft.com).

¹²⁸ I.B. Berlman, *J. Chem. Phys.*, **1970**, 52, 5616.

¹³² A.M. Costero, S. Gil, J. Sanchis, S. Peransí, V. Sanz, J.A.G. Williams, *Tetrahedron* **2004**, 60, 6327.

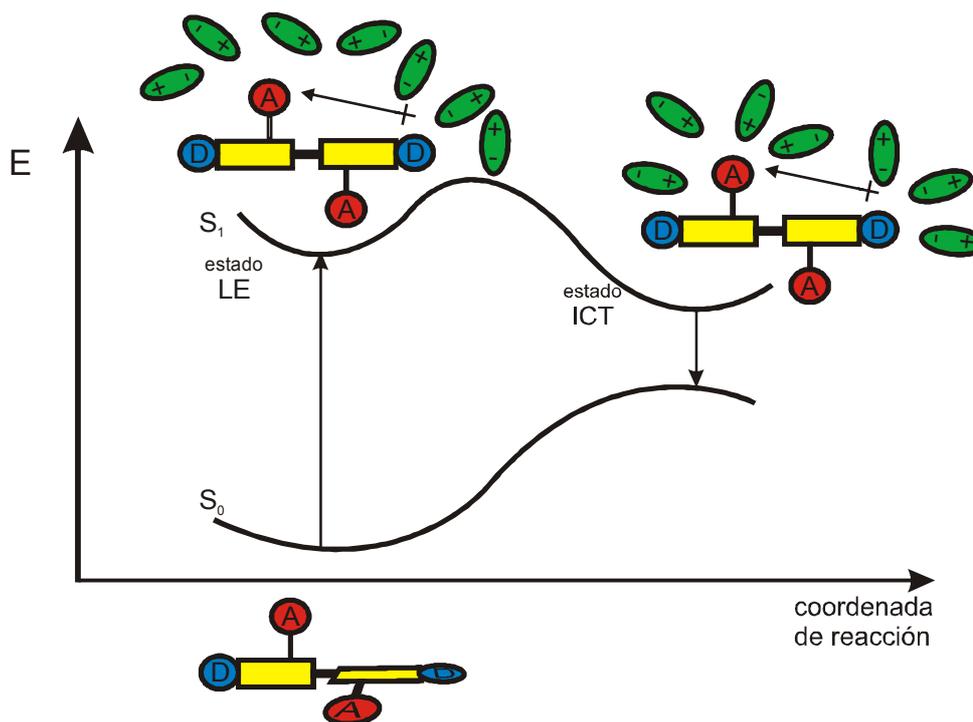


Figura IV.6: Relajación de un estado excitado en el que se da una PCT por las moléculas de disolvente.

Los rendimientos cuánticos y tiempos medios de vida también están reflejados en la tabla IV.5.

IV.3.2. EFECTO DE LA PROTONACIÓN

Dado que los ligandos preparados son aminas, parecía lógico estudiar el comportamiento de la fluorescencia en diferentes condiciones ácido-base.

La **TMB** presenta una baja basicidad y por esta razón se usó un ácido fuerte (ácido trifluoroacético) para protonarla. Al adicionar este ácido se produjo un apreciable desplazamiento hipsocrómico en el espectro de emisión (de 401 a 373 nm), acompañado de una disminución en el rendimiento cuántico (fig. IV.7.a).

Ácidos más débiles (como el ácido cítrico), no fueron capaces de protonar los grupos dimetilamino, y no se produjo ninguna modificación en el espectro de emisión en presencia de un exceso de este ácido como era de esperar.

De igual forma, la fluorescencia del compuesto **L10**, preparado para ser usado como control en los experimentos de complejación, no ve veía afectada por la presencia de ácido cítrico (fig. IV.7.b). Lo que era lógico ya que el grupo amida tampoco debía protonarse en este medio con esta fuerza ácida.

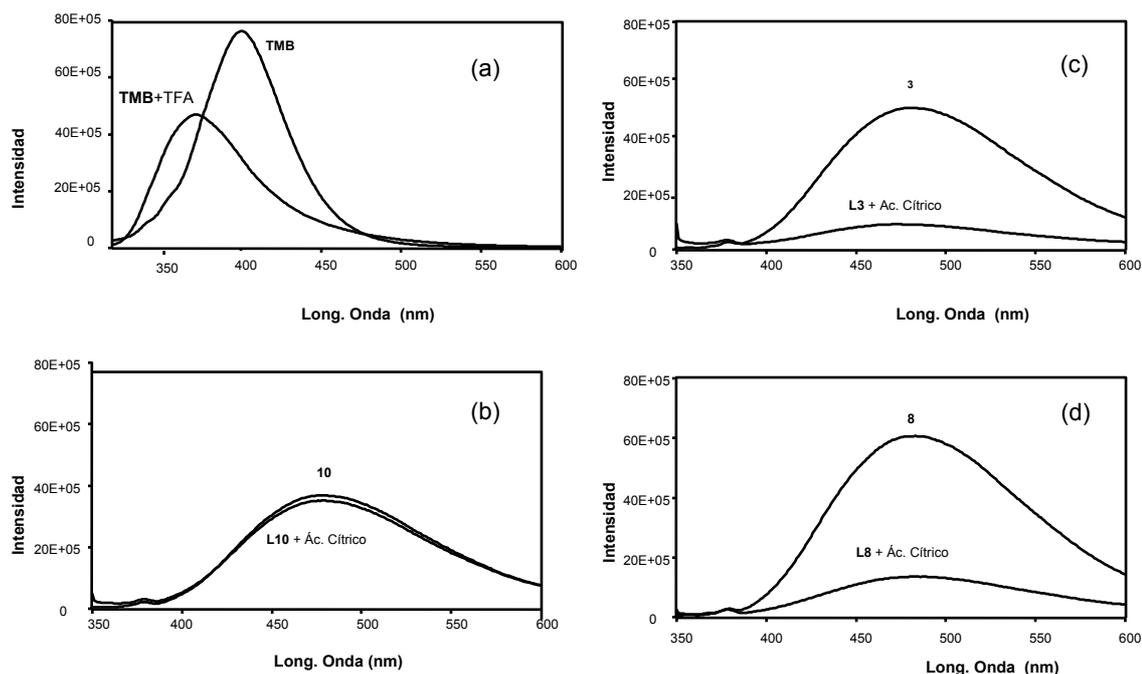


Figura IV.7: Espectros de fluorescencia bajo condiciones neutras y ácidas a 20°C en acetonitrilo. (a) TMB y TMB + ácido trifluoroacético (TFA): $\lambda_{exc}=310\text{nm}$, la concentración inicial de TMB fue $6.37 \cdot 10^{-7}$ M. Se añadió TFA en un gran exceso. (b) Compuesto patrón **L10** and **L10** + ácido cítrico: $\lambda_{exc}=340$ nm, la concentración inicial de **L10** fue $4.73 \cdot 10^{-6}$ M, la concentración final de ácido cítrico fue $4.25 \cdot 10^{-4}$ M (c) **L3** y **L3** + ácido cítrico: $\lambda_{exc}=340$ nm, la concentración inicial de **L3** fue $5.92 \cdot 10^{-6}$ M, la concentración final de ácido cítrico fue $6.39 \cdot 10^{-5}$ M (d) **L8** y **L8** + ácido cítrico: $\lambda_{exc}=340$ nm, la concentración inicial de **L8** fue $4.90 \cdot 10^{-6}$ M, la concentración final de ácido cítrico fue $2.39 \cdot 10^{-4}$ M.

Por otra parte, **L3** y **L8** en presencia de ácido cítrico sufrían un sustancial amortiguamiento de la fluorescencia (alrededor del 70%) (fig. IV.7.c y IV.7.d), mucho mayor que para **L7** en las mismas condiciones (20%).

Una explicación para este hecho, sería la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular, en las condiciones ácidas de trabajo. La presencia de una interacción por enlace de hidrógeno entre el grupo carbonilo de una de las cadenas y un grupo amino protonado en la otra podría influir en el ángulo diedro y bloquear el sistema en una conformación más rígida susceptible de una desactivación no-radiativa y que rebajase este modo la intensidad de emisión.

El mismo razonamiento explicaría los resultados obtenidos para el ligando **L7**. La presencia de un grupo amida monosustituída en el ligando **L7**, puede producir un enlace de hidrógeno permanente entre este hidrógeno y el oxígeno del grupo carbonilo de la rama opuesta. El ligando, de esta forma, ya contaría con una estructura rígida con un ángulo diedro fijo entre ambos anillos aromáticos, y por ello la protonación solamente induciría pequeñas variaciones en su geometría a diferencia de las grandes modificaciones que se producían en **L3** y **L8**.

IV.4. ESTUDIOS DE COMPLEJACIÓN

Se llevaron a cabo estudios de complejación de los ligandos **L3**, **L7**, **L8** con algunos cationes de metales de transición (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} y Ni^{2+}) en CH_3CN . Igualmente se usó el ligando **L10** y **TMB** en experimentos paralelos de control.

Un método válido para ver la evolución de la interacción metal-ligando, es realizar valoraciones de ligando añadiendo cantidades crecientes de metal y seguir la respuesta por espectroscopía de UV y, sobre todo, por emisión de fluorescencia después de cada adición. Para facilitar la interpretación de la gran cantidad de datos obtenidos a lo largo de una valoración, se representa la intensidad relativa (es decir, la intensidad de emisión de fluorescencia a una longitud de onda determinada dividida por la intensidad inicial antes de añadir metal) frente a la relación metal/ligando. Así, valores de ordenadas menores que 1 implican amortiguamientos de la fluorescencia, mientras que valores mayores que 1 significan incrementos en el rendimiento cuántico de emisión. En todos los experimentos se añadieron 30 equivalentes de $\text{N}(\text{Bu})_4\text{PF}_6$ como tampón de fuerza iónica.

La lectura de los datos obtenidos para los ligandos patrones **L10** (fig. IV.8) y **TMB** (fig. IV.9), al ser valorados con los metales propuestos, fue similar. Con excepción del Cu^{2+} , la presencia de cualquiera de los restantes metales no influía en la fluorescencia del compuesto. Esto confirmaba que ni el grupo amida ni los grupos dimetilamino unidos directamente sobre el bifenilo eran susceptibles de complejar o interaccionar de un modo cuantificable con los metales.

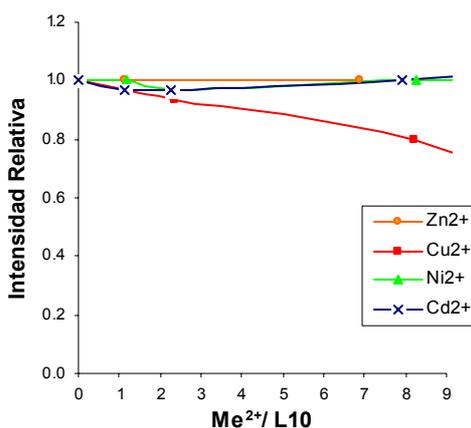


Figura IV.8: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L10** con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C . La concentración inicial de **L10** fue aprox. $3.6 \times 10^{-6} \text{ M}$, de TMAOH $7.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ y de TBAPF_6 fue $1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

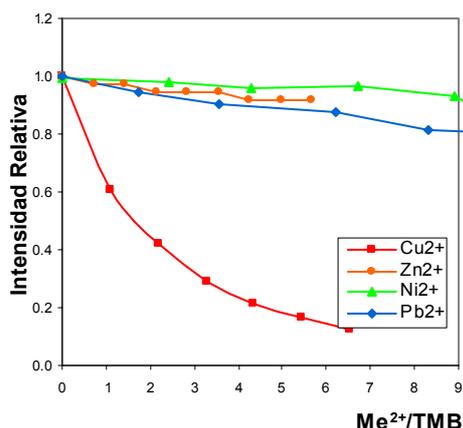


Figura IV.9: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 310$ nm) en la valoración de TMB con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C. La concentración inicial de TMB fue aprox. 1×10^{-6} M y no se le añadió ninguna base extra.

Sin embargo el Cu^{2+} , produjo un amortiguamiento de la fluorescencia. Este hecho es muy frecuente para este catión, puesto que es capaz de dar un amortiguamiento dinámico intermolecular controlado por difusión sin necesidad de unión previa con el ligando (ver apéndice A, pág. 236). Además, tampoco se podían descartar interacciones débiles con los nitrógenos de los grupos dimetilamino.

Por otro lado, el comportamiento de **L3**, **L7** y **L8** fue totalmente distinto al mostrado por los compuestos control. Estos compuestos reflejaban perturbaciones evidentes en sus espectros de fluorescencia tras la adición de iones metálicos. Estas modificaciones están asociadas a interacciones con los grupos amino alifáticos en estos ligandos.

Utilizando los datos obtenidos en las valoraciones, se determinaron las constantes de complejación para cada uno de los cationes (en forma de sales de triflatos). Para ello, se utilizaron los máximos en la intensidad de emisión en el modelo de ajuste directo a la ecuación estequiométrica (ver apéndice B, pág. 254). Los valores que se obtuvieron se muestran en la tabla IV.6.

Tabla IV.6: Constantes de complejación (M^{-1}) para los complejos 1:1 (L:M) formados por los ligandos **L3**, **L7** y **L8** en acetonitrilo a 20°C. Todas las sales metálicas fueron triflatos. El error de la medida fue en todos los casos menor del 10%.

Ligando	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Ni^{2+}	Pb^{2+}
L3	$2.34 \cdot 10^4$	$2.46 \cdot 10^4$	$1.95 \cdot 10^4$	$1.95 \cdot 10^4$	$1.37 \cdot 10^4$
L7	$3.40 \cdot 10^4$	$3.75 \cdot 10^4$	$2.70 \cdot 10^4$	$2.70 \cdot 10^4$	$2.43 \cdot 10^4$
L8	$2.45 \cdot 10^4$	$2.30 \cdot 10^{4(a)}$	$3.85 \cdot 10^{2(a)}$	$4.93 \cdot 10^4$	$1.83 \cdot 10^4$

(a) Esta constante se refiere a una estequiometría LM_2 , (M^{-2}).

La mayoría de los compuestos se ajustaron al modelo de estequiometría 1:1, y solamente $\text{L8}\cdot\text{Cd}^{2+}$ y $\text{L8}\cdot\text{Zn}^{2+}$ mostraron un comportamiento diferente pues su estequiometría era LM_2 .

Teniendo en cuenta los resultados experimentales obtenidos, la complejación de estos ligandos puede responder a las geometrías propuestas en la figura IV.10.

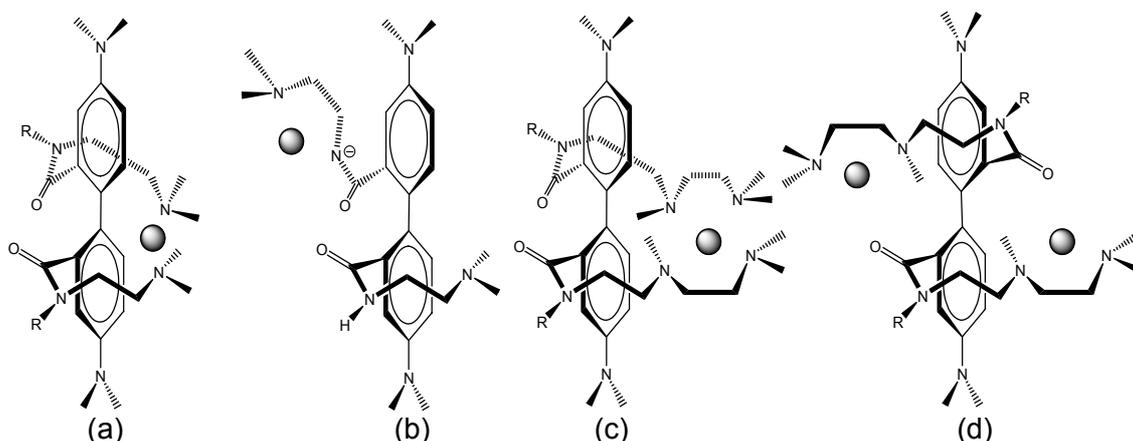


Figura IV.10: Posibles disposiciones de complejación, que explican los resultados obtenidos en los ensayos de fluorescencia, para diferentes ligandos y cationes. Se supone que las moléculas de disolvente completan los sitios de coordinación y no se han representado por claridad.

Así, para el ligando **L3** ambas cadenas están implicadas en la formación del complejo con el metal. Este tipo de interacción induce una restricción en la rotación de ambos anillos de fenilo. Este hecho explica el amortiguamiento de la fluorescencia observada en presencia de iones metálicos (alrededor del 90% tras la adición de 1 equivalente (fig. IV.11)) y la estequiometría 1:1 determinada.

El ligando **L7** da lugar a geometrías diferentes dependiendo del catión empleado como consecuencia de la presencia de los protones de la amida (fig. IV.12 y IV.13).

Así por ejemplo, en el caso del Zn^{2+} (fig. IV.14), que es un metal de post-transición sin energía de estabilización por campo de ligandos, la complejación del metal con **L7** no es favorable, energéticamente y no se ve acompañada de la eliminación del hidrógeno de la amida. Por ello **L7** interacciona con el Zn^{2+} de manera similar a como lo hace **L3** (fig. IV.10.a), dando un 80% de amortiguamiento de la fluorescencia.

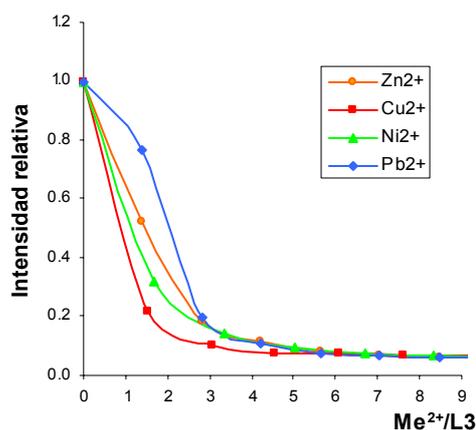


Figura IV.11: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L3** con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C. La concentración inicial de **L3** fue aprox. $6 \times 10^{-6} \text{ M}$, de TMAOH $1.3 \times 10^{-5} \text{ M}$ y de TBAPF₆ fue $1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Esta afirmación se ve ratificada por el comportamiento observado en presencia de un exceso de base que arranque el protón amidico. En esta situación, el Zn^{2+} se implica en la formación de un complejo quelato con los nitrógenos de una misma rama (fig. IV.10.b). Esta disposición no constriñe el ángulo diedro entre los anillos del bifenilo, y por tanto no se produce amortiguamiento. Cuando sólo se añaden 2 equivalentes de base, la basicidad del medio no es suficientemente fuerte para extraer el protón cuantitativamente, y entonces se produce una situación intermedia.

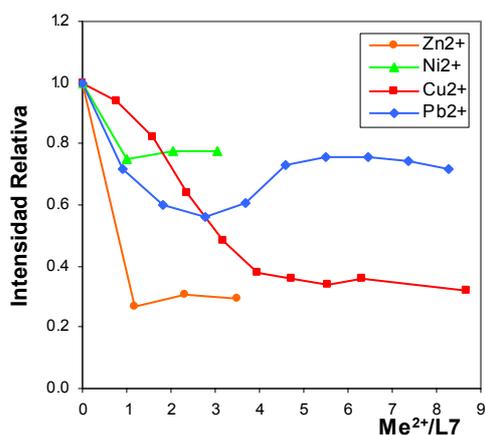


Figura IV.12: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L7** con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C. La concentración inicial de **L7** fue aprox. $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ y no se añadió ninguna base extra.

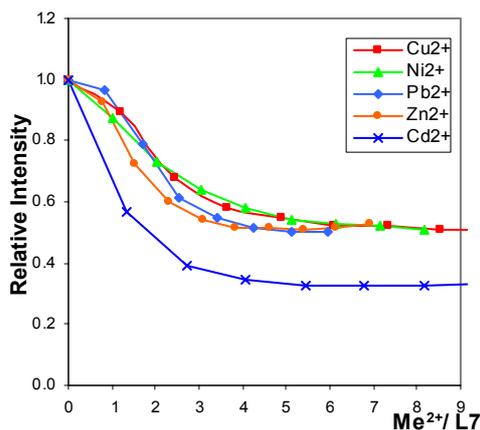


Figura IV.13: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L7** con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C. La concentración inicial de **L7** fue aprox. $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, de TMAOH $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ y de TBAPF₆ fue $1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

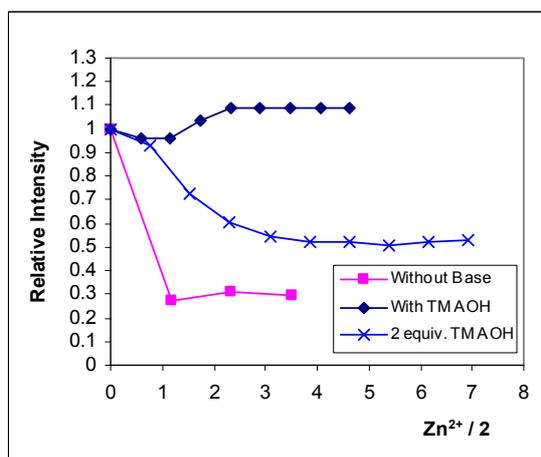


Figura IV.14: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L7** con Zn^{2+} en acetonitrilo, 20°C. a) La concentración inicial de **L7** fue aprox. $1.6 \times 10^{-5} \text{ M}$. b) La concentración inicial de **L7** fue aprox. $3.5 \times 10^{-5} \text{ M}$, con un gran exceso de TMAOH antes de la adición del metal. c) La concentración inicial de **L7** fue aprox. $5.2 \times 10^{-6} \text{ M}$, de TMAOH $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ y de TBAPF₆ fue $1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

El caso opuesto lo constituye el Ni^{2+} (fig. IV.15). Para este catión, la formación del quelato con **L7** se ve ahora estabilizada por el campo de ligandos favoreciéndose la eliminación del protón incluso en ausencia de base adicional. Por esto, el perfil de la valoración de **L7** con Ni^{2+} con o sin base añadida es muy similar.

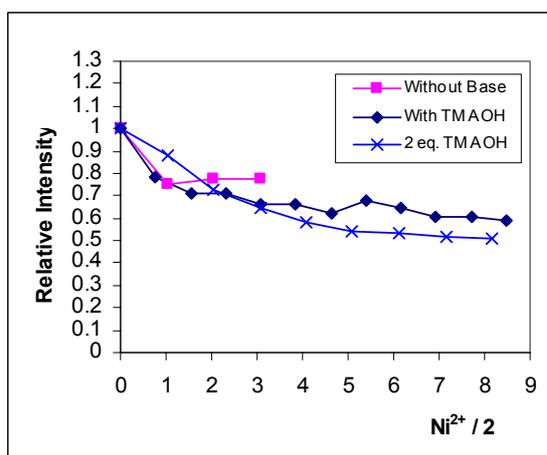


Figura IV.15: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340$ nm) en la valoración de **L7** con Ni^{2+} en acetonitrilo, 20°C. a) La concentración inicial de **L7** fue aprox. 2.5×10^{-5} M. b) La concentración inicial de **L7** fue aprox. 3×10^{-5} M con un gran exceso de TMAOH antes de la adición del metal. c) La concentración inicial de **L7** fue aprox. 4.7×10^{-6} M, de TMAOH 1×10^{-5} M y de TBAPF₆ fue 1×10^{-4} M.

Por último, el ligando **L8** presenta dos estequiometrías de complejación diferentes dependiendo de la identidad del ión metálico. Así para Cu^{2+} , Ni^{2+} y Pb^{2+} , los datos se ajustan al modelo para una estequiometría 1:1, incluso a altas concentraciones de catión. En todos los casos se observa amortiguamiento de la fluorescencia (fig. IV.16), con un considerable desplazamiento en los máximos de emisión para Cu^{2+} y Pb^{2+} . Las constantes de complejación fueron similares a las determinadas para los ligandos **L3** y **L7** lo que está de acuerdo con una geometría como la propuesta en la figura IV.10.c en la que las dos cadenas poliamínicas estuvieran implicadas en la complejación. Como se ha sugerido anteriormente, la influencia que este modo de coordinación sobre el ángulo diedro de las unidades del bifenilo es la causa del amortiguamiento en la fluorescencia (> 70% en todos los casos).

Por el contrario, la adición de Cd^{2+} y Zn^{2+} daría lugar a complejos 1:2 en presencia de un exceso de metal, lo que está de acuerdo con las observaciones experimentales ya que inicialmente se observa un amortiguamiento de la fluorescencia y a un marcado desplazamiento hacia el rojo, sin embargo, la adición de cantidades superiores de catión da lugar a un incremento en la intensidad (fig. IV.17), llegándose a reponer la intensidad de la emisión original.

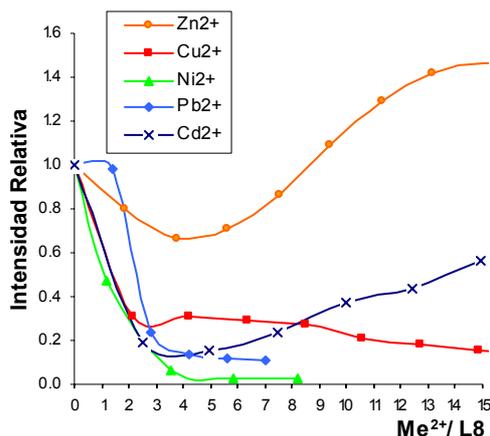


Figura IV.16: Intensidad relativa de emisión de fluorescencia ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) en la valoración de **L8** con diferentes metales divalentes en acetonitrilo, 20°C. La concentración inicial de **L8** fue aprox. $4.4 \times 10^{-6} \text{ M}$, de TMAOH $1.4 \times 10^{-5} \text{ M}$ y de TBAPF₆ fue $1 \times 10^{-4} \text{ M}$.

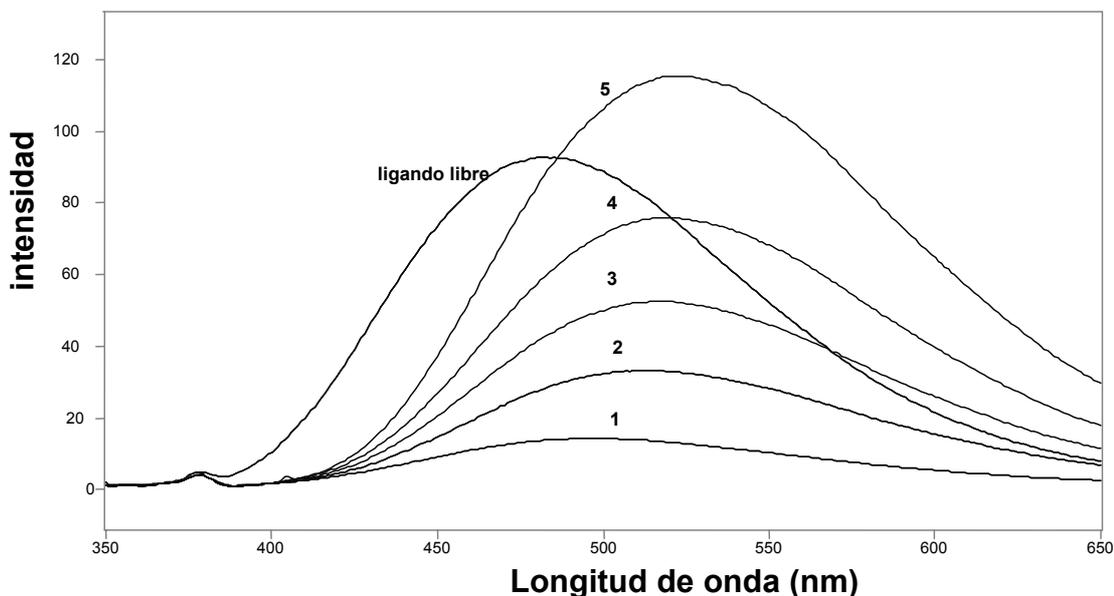


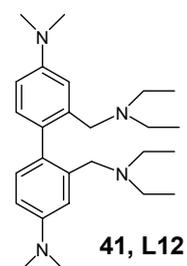
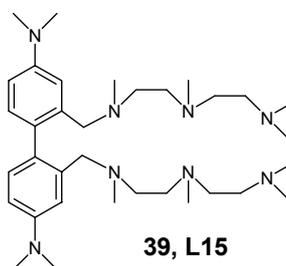
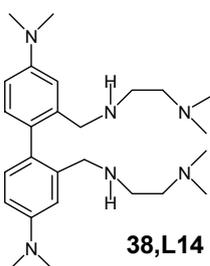
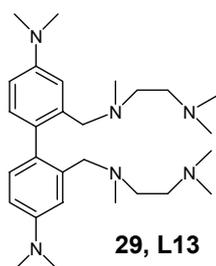
Figura IV.17: Valoración del ligando **L8** en acetonitrilo con Cd^{2+} a 20°C. 1, 2, 3, 4 y 5 indican la adición de 2.49, 7.47, 12.45, 17.43 y 19.92 equivalentes de triflato de cadmio respectivamente. $\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$.

La razón para el diferente comportamiento observado en **L8** la encontramos en el mayor número de nitrógenos en cada cadena que permite la formación del complejo 1:2 (L:M) (fig. IV.10.d). Teniendo en cuenta que la configuración electrónica de estos cationes es d^{10} , no pueden dar un amortiguamiento estático de la fluorescencia por ellos mismos tras complejar.

CAPÍTULO V

Poliazapodandos Derivados de 2,2'-bis(aminometileno)-bifenilo

En el capítulo IV hemos visto cómo se comportan diversos ligandos derivados de 4,4'-bis(dimetilamino)-2,2'-bis(aminocarbonil)-bifenilo (**L3**, **L7**, **L8** y **L10**) frente a la complejación de determinados cationes. Una reducción del grupo carbonilo, mediante $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ generó a partir de éstos una nueva familia de ligandos, **29**, **38**, **39** y **41** (en adelante **L13**, **L14**, **L15** y **L12** respectivamente). Aunque estructuralmente parezcan muy similares, la reducción del grupo carbonilo da lugar a un fluoróforo totalmente diferente.



V.1. CARACTERÍSTICAS FOTOFÍSICAS DE LOS LIGANDOS L13, L14, L15 y L12.

La presencia de sustituyentes en las posiciones 2,2' de la **TMB** da lugar a variaciones en sus propiedades fotofísicas (espectro de absorción y de emisión). Dichas variaciones dependen lógicamente de la naturaleza de los citados sustituyentes. Con el fin de analizar esta influencia, se realizó un estudio comparativo entre **L12**, **L10** (cuyas propiedades fueron descritas en el capítulo IV) y la propia **TMB**.

En el espectro de UV, los dos compuestos sustituidos muestran bandas de absorción a longitudes de onda menores que la **TMB** ($\lambda_{\text{máx}}=269$ y 294 nm para **L12** y **L10** respectivamente). La intensidad de las bandas de absorción en el UV son de naturaleza $\pi \rightarrow \pi^*$ y estos resultados sugieren que el ángulo diedro entre los anillos de bifenilo es mayor para los compuestos sustituidos que para la **TMB**, cosa razonable atendiendo a las repulsiones estéricas introducidas por los sustituyentes (tabla V.1).

Cuando se llevaron a cabo estudios comparativos de emisión de fluorescencia en CH_3CN entre la **TMB** y los ligandos **L12** y **L10** se obtuvieron los resultados indicados en la figura (fig.V.1).

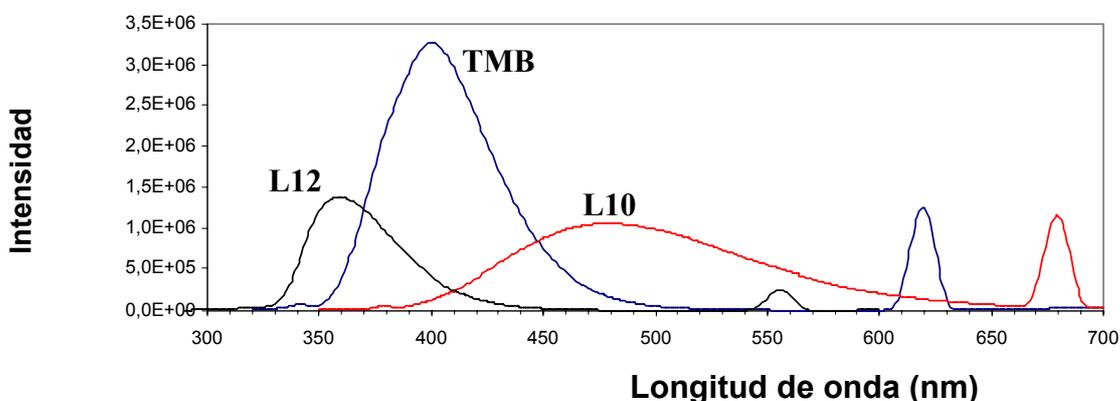


Figura V.1: Espectros de fluorescencia de **L12**, **TMB** y **L10** en CH_3CN a 20°C . $\lambda_{\text{exc}} = 278$ nm, $\lambda_{\text{exc}} = 310$ nm y $\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm respectivamente.

El compuesto amídico **L10** mostraba una banda de emisión desplazada hacia el rojo ($\lambda_{\text{máx}} = 489$ nm) en relación con la de la **TMB** ($\lambda_{\text{máx}} = 400$ nm) (tabla V.1). Por el contrario, el amino derivado **L12** presentaba un corrimiento hacia el azul en su banda de emisión ($\lambda_{\text{máx}} = 360$ nm). Además, el rendimiento cuántico para estos dos compuestos es menor que para el de la **TMB**.

Tabla V.1: Datos para la absorción en el UV y emisión de fluorescencia para los ligandos en CH₃CN.

Ligando	Absorción λ_{\max} (nm) ($\epsilon \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)	Emisión λ_{\max} (nm)	Rendimiento Cuántico (ϕ)
TMB	310 (34668)	401	0.13
L13	268 (19944)	362	0.036
L14	271 (17272)	367	0.054
L15	267 (21721)	362	0.038
L12	269 (27781)	360	0.061
L3	290 (18180)	482	0.041
L7	280 (15338)	473	0.035
L10	294 (27306)	478	0.041

La **TMB**, en estado fundamental, tiene un ángulo diedro entre los anillos de unos 38.7 grados.¹³¹ En el estado excitado S₁, la molécula de **TMB** se encuentra en una disposición en la que ambos anillos están en disposición coplanar. **L10** tiene un grupo electrón-aceptor (carbonilo) conjugado con un grupo electrón-dador (dimetilamino).

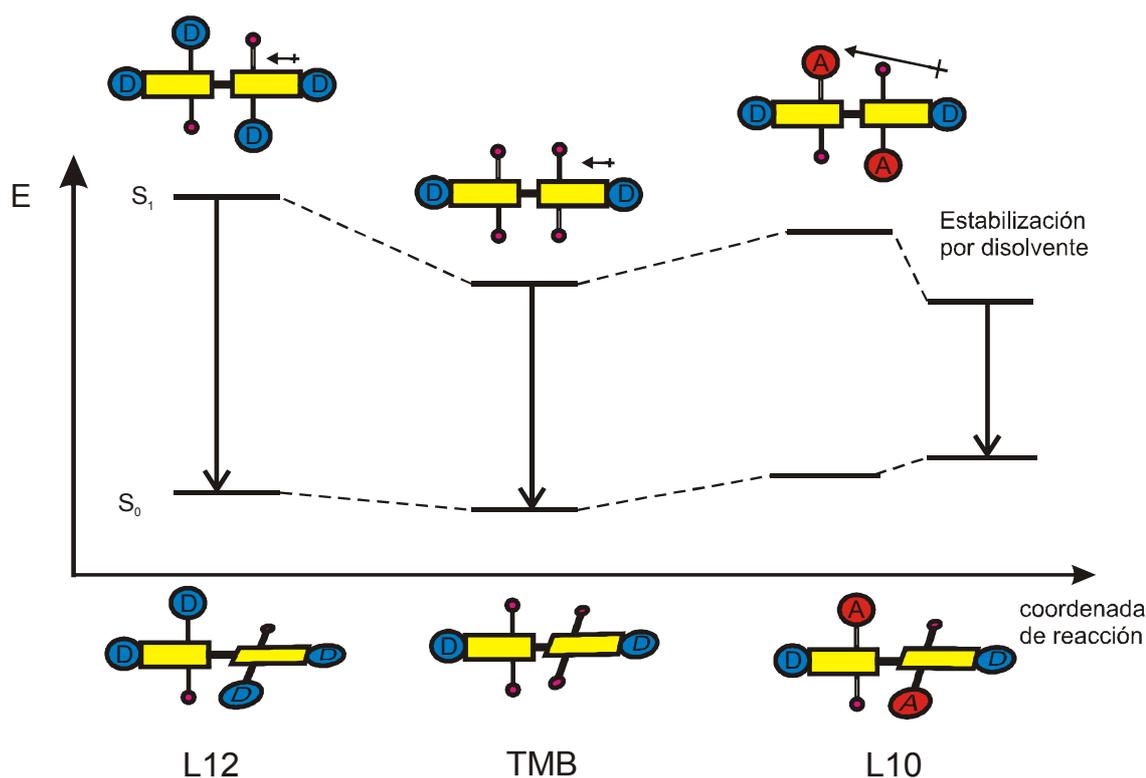
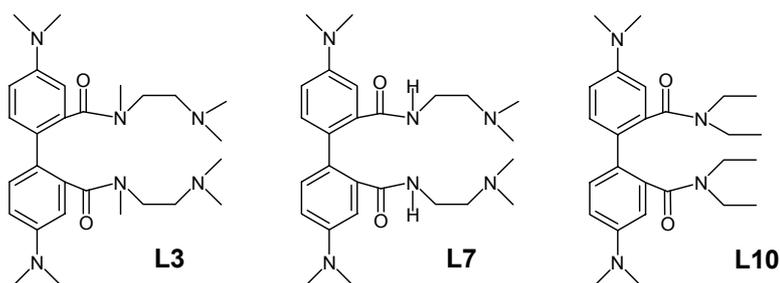


Figura V.2: Diagrama de estados excitados para L12, TMB y L10.

En el capítulo IV se ha explicado cómo el desplazamiento batocrómico de la emisión de fluorescencia de **L10** con respecto a la **TMB** puede explicarse por la

¹³¹ La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MMX como campo de fuerza incluidos en el programa PcModel para Windows versión 8.00.1, 14 junio 2001, Serena Software (www.serenasoft.com).

formación de un estado ICT debido a la presencia de grupos con sustituyentes con diferente demanda electrónica (fig. V.2). Al reducir **L10** a **L12**, se elimina el grupo electrón-aceptor conjugado con el electrón-donante dimetilamino, por lo que ahora la transferencia de carga por la excitación no se puede estabilizar, estando pues, en una situación análoga a la de la **TMB**. El compuesto **L12** presenta ahora sustituyentes en posiciones (2,2') que aumentarán la energía del estado S_1 con respecto a la de la **TMB** por repulsiones estéricas, presuponiendo que el estado excitado tendrá los anillos aromáticos coplanares, lo que explica el desplazamiento hipsocrómico observado para **L12**. Los compuestos **L13**, **L14** y **L15** poseen propiedades fotofísicas similares a las de **L12**.



V.2. EFECTO DE LA PROTONACIÓN

Se estudió el comportamiento fluorescente de los ligandos preparados bajo diferentes condiciones ácido-base en CH₃CN y también se compararon los resultados con los obtenidos en el capítulo IV para la **TMB** y **L10**.

La adición de ácido trifluoroacético (TFA) sobre el compuesto **L12** dio lugar a la aparición de una banda desplazada hacia el azul ($\lambda_{\text{máx}}$ pasa de 360 a 310 nm después de la protonación), de igual manera que se obtenía en el caso de la **TMB** y **L10**, por tanto esta banda de emisión debe estar relacionada con la protonación de los grupos dimetilamino aromáticos.

Cuando los experimentos se llevaron a cabo en presencia de ácido cítrico se observó un amortiguamiento de la fluorescencia resultado que era realmente interesante por ser bastante inusual (fig. V.3).

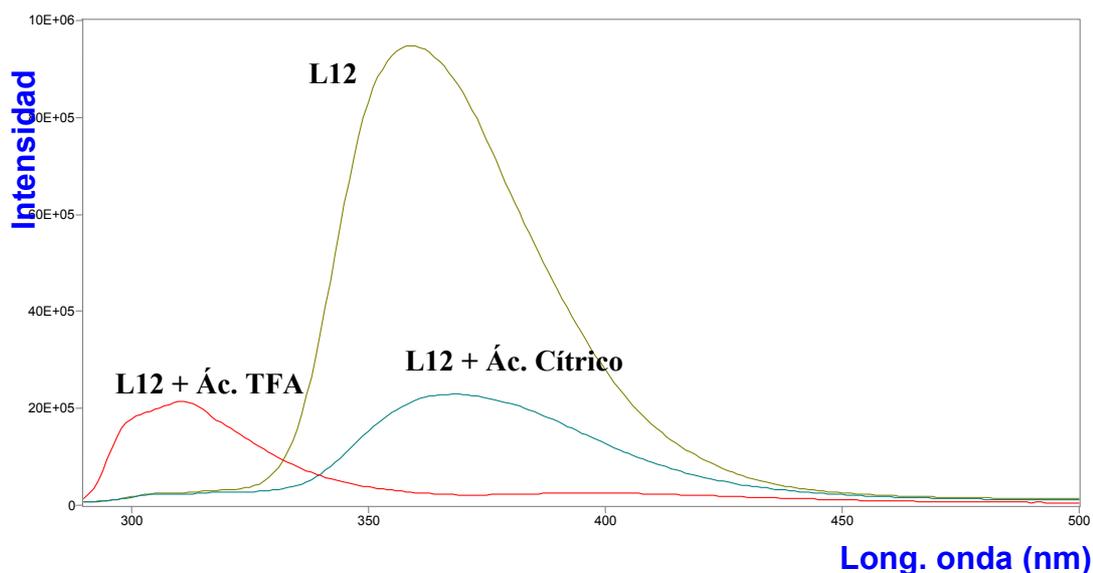


Figura V.3: Espectro de fluorescencia de L12 bajo diferentes condiciones ácido-base a 20 °C, $\lambda_{exc} = 278$ nm y concentración inicial de ligando de 3.68×10^{-6} M en CH_3CN . **L12:** ligando en CH_3CN o en 5.15×10^{-5} M de hidróxido de tetrametilamonio en CH_3CN . **L12 + Ác. Cítrico:** ligando en 1.97×10^{-4} M de ácido cítrico en CH_3CN . **L12 + Ác. TFA:** ligando en un gran exceso de ácido trifluoroacético en CH_3CN .

En la bibliografía existen numerosos ejemplos en los que un fragmento de hidrocarburo aromático (como el antraceno o el naftaleno) se encuentra unido a un nitrógeno de amina en posición bencílica. Estos sensores están englobados dentro de los denominados PET de tipo OFF/ON. En ellos, la presencia del grupo amino induce un amortiguamiento de la fluorescencia por un mecanismo de transferencia electrónica fotoinducida reductiva.

Cuando este grupo amino estabiliza su par de electrones mediante un enlace covalente dativo (bien sea por protonación o por complejación con un sustrato), el mecanismo de amortiguamiento por PET deja de tener lugar y la fluorescencia del compuesto se regenera.

A pesar de tener una topología molecular similar a la de estos sensores de tipo PET OFF/ON, **L12** no presentó el comportamiento esperado. El amortiguamiento producido tras la protonación de los grupos amino por el ácido cítrico nos llevó a pensar que en este tipo de compuestos, la energía del orbital π -enlazante del sistema aromático era superior a la del orbital molecular n no-enlazante centrado en el nitrógeno bencílico. De este modo, el HOMO sería este orbital π -enlazante, no pudiéndose producir el PET por los electrones del nitrógeno. Esta idea está de acuerdo con la fácil oxidabilidad de los compuestos relacionados que contienen fragmentos de **TMB**.⁸³

⁸³ A.M. Costero, E. Monrabal, C. Andreu, R. Martínez-Mañez, J. Soto, M. Padilla-Tosta, T. Pardo, L.E. Ochando, J.M. Amigó, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8159.

La protonación del grupo amino, por lo tanto, modifica la fluorescencia porque permite al sistema formar enlaces de hidrógeno intramoleculares con grupos amino no protonados de la rama opuesta. Este hecho influye claramente en el ángulo diedro entre los anillos aromáticos en el bifenilo con el correspondiente amortiguamiento de la fluorescencia.

Este comportamiento se reprodujo en el caso de **L13**, **L14**, **L15**, puesto que todos ellos también contienen grupos amino unidos a las posiciones 2,2' en el sistema de **TMB** (tabla V.2).

Tabla V.2: Porcentaje de amortiguamiento tras la adición de ácido cítrico a una disolución de ácido cítrico en CH₃CN. [ácido cítrico]/[ligando] =8.

Ligando	L13	L14	L15	L12	L10
% amortiguamiento	48	62	72	84	<1

A concentraciones mayores de ácido, esta tendencia se ve invertida y se vuelve a obtener un incremento en la emisión de fluorescencia. Este comportamiento se explica por la doble protonación de un grupo amino en cada rama, que evita la formación del puente de hidrógeno intramolecular. Bajo estas condiciones, la geometría del ligando ahora sería similar a la del compuesto neutro y la fluorescencia se regeneraría.

Además del amortiguamiento, se observa un pequeño desplazamiento de las bandas de emisión hacia el rojo (alrededor de 10 nm) para el caso de **L13**, **L14** y **L15**.

V.3. ESTUDIO DE COMPLEJACIÓN DE CATIONES

Para llevar a cabo los experimentos de complejación, se eligieron los triflatos de Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺ y Cu²⁺. Los resultados que se obtuvieron con Cd²⁺, Pb²⁺ y Ni²⁺ para los ligandos **L13**, **L14** y **L15** fueron similares entre sí, observándose que tras la adición de la sal, la fluorescencia experimentaba un amortiguamiento (fig. V.4, V.5 y V.6 respectivamente).

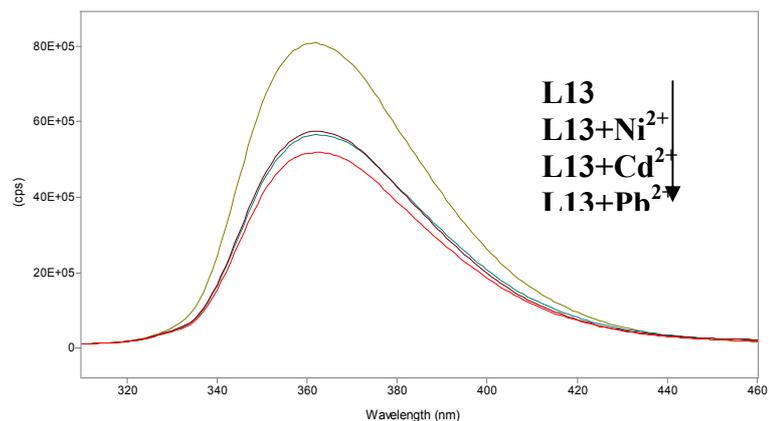


Figura V.4: Espectro de fluorescencia de **L13** tras la adición de aproximadamente 4.5 eq. de Ni²⁺, Cd²⁺ y Pb²⁺ a 20°C, $\lambda_{exc} = 300$ nm. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente 5.6×10^{-6} M en CH₃CN.

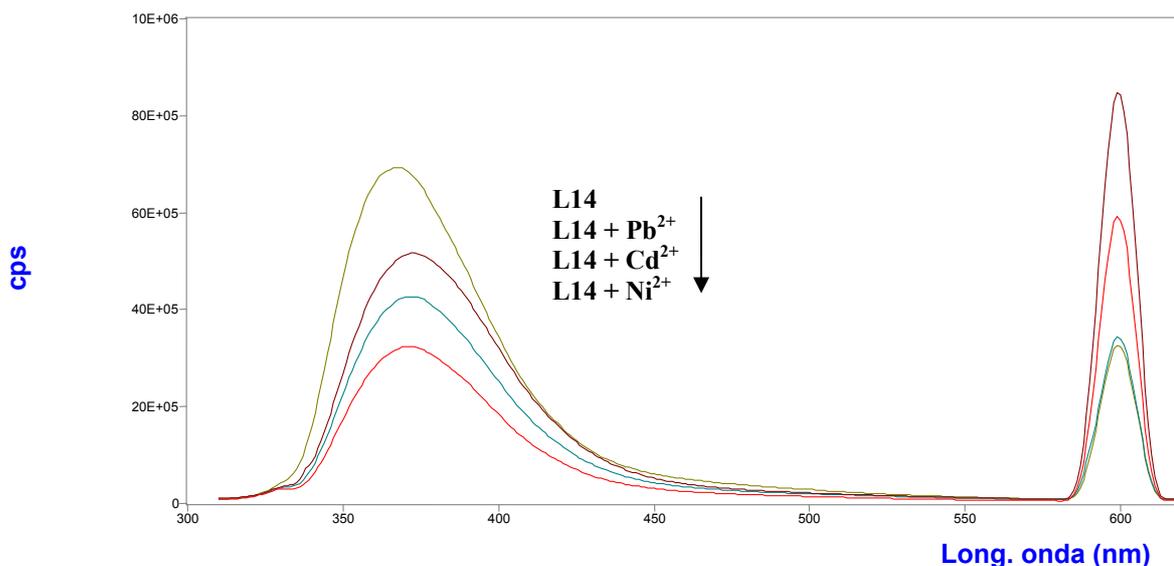


Figura V.5: Espectro de fluorescencia de **L14** tras la adición de aproximadamente 4.5 eq. de Ni²⁺, Cd²⁺ y Pb²⁺ a 20°C, $\lambda_{exc} = 300$ nm. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente 6.1×10^{-6} M en CH₃CN.

En las condiciones de reacción podría pensarse que el amortiguamiento de la fluorescencia se producía por la mera presencia de los cationes metálicos ya que es sabido que el Pb²⁺ abre vías de relajación del tipo ISC debido a su acoplamiento spin-órbita y el Ni²⁺ puede relajar por ET del fluoróforo excitado al metal.

Sin embargo, el hecho de que en presencia del catión Cd²⁺, cuya configuración electrónica es d¹⁰, también se observase amortiguamiento de la fluorescencia, nos

llevó a pensar que la presencia del metal, también inducía una modificación del ángulo diedro entre ambos anillos aromáticos al formarse un complejo tipo sándwich.⁵⁷

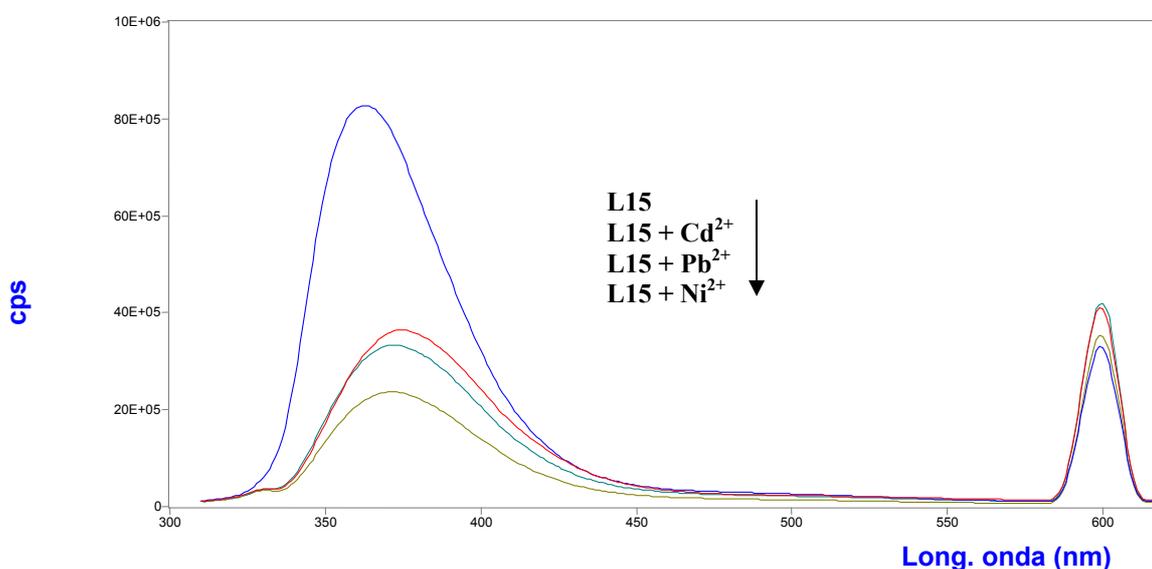


Figura V.6: Espectro de fluorescencia de **L15** tras la adición de aproximadamente 5.5 eq. de Ni^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.8 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN .

Por el contrario, Cu^{2+} o Zn^{2+} mostraron un comportamiento diferente al del resto de metales cuando se llevaron a cabo el mismo tipo de valoraciones con **L13**, **L14**, **L15** (fig. V.7 -V.12).

El comportamiento observado para estos cationes dependía de la concentración de sal. Así, el en caso del Zn^{2+} , se observó un amortiguamiento de la fluorescencia, al igual que con los otros metales, pero cuando la concentración de Zn^{2+} era mayor de 1 equivalente, empezaba a emerger una banda muy ancha centrada a aproximadamente 550 nm.

Un comportamiento similar fue observado en el caso del Cu^{2+} , si bien la aparición de la banda empezó a ser manifiesta a cantidades de catión inferiores a 0.7 equivalentes.

Se necesitó una altísima cantidad de Zn^{2+} (unos 16 equivalentes) para obtener una banda nueva similar en intensidad a la conseguida con tan sólo 2 equivalentes de Cu^{2+} .

⁵⁷ D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1995**, 1305.

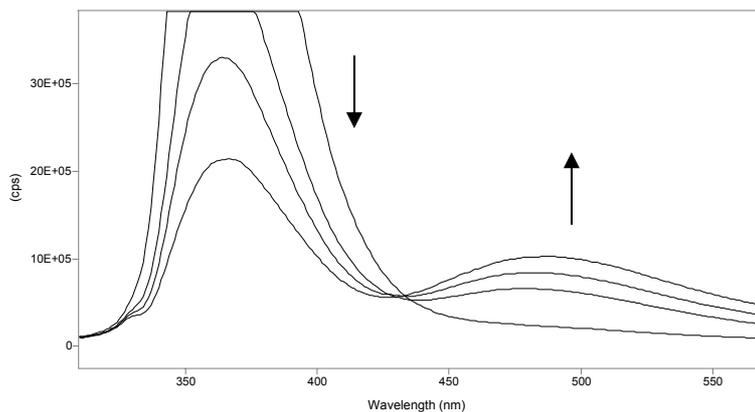


Figura V.7: Espectro de fluorescencia de **L13** tras la adición de Cu^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.71 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.70, 1.40 y 2.10 eq. de Cu^{2+} respectivamente.

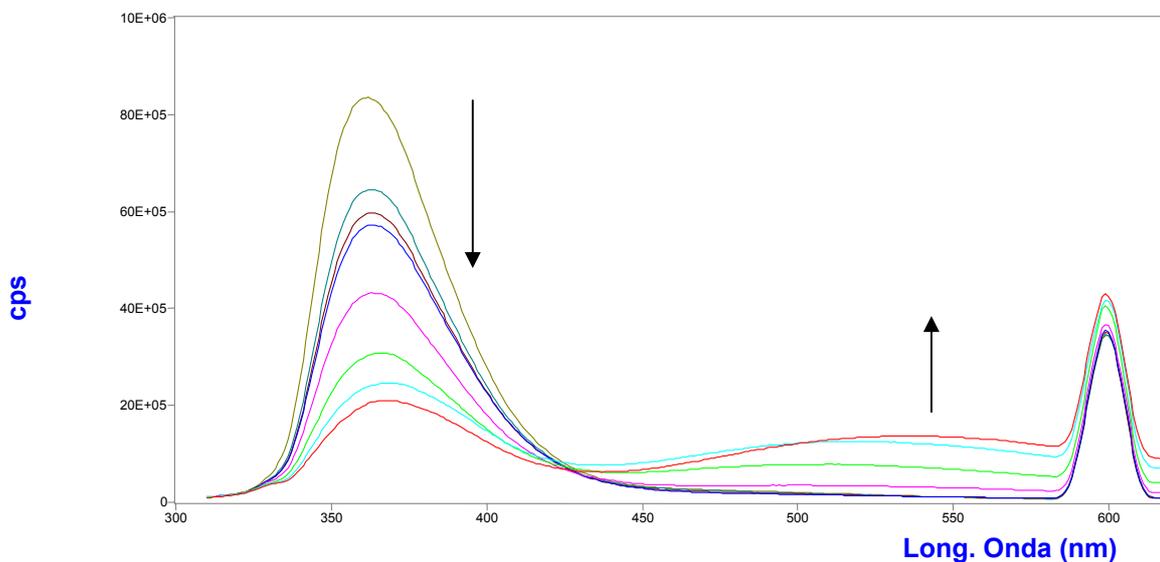


Figura V.8: Espectro de fluorescencia de **L13** tras la adición de Zn^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.65 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.71, 1.42, 2.12, 5.66, 9.20, 12.74, 16.27 y 23.22 eq. de Zn^{2+} respectivamente.

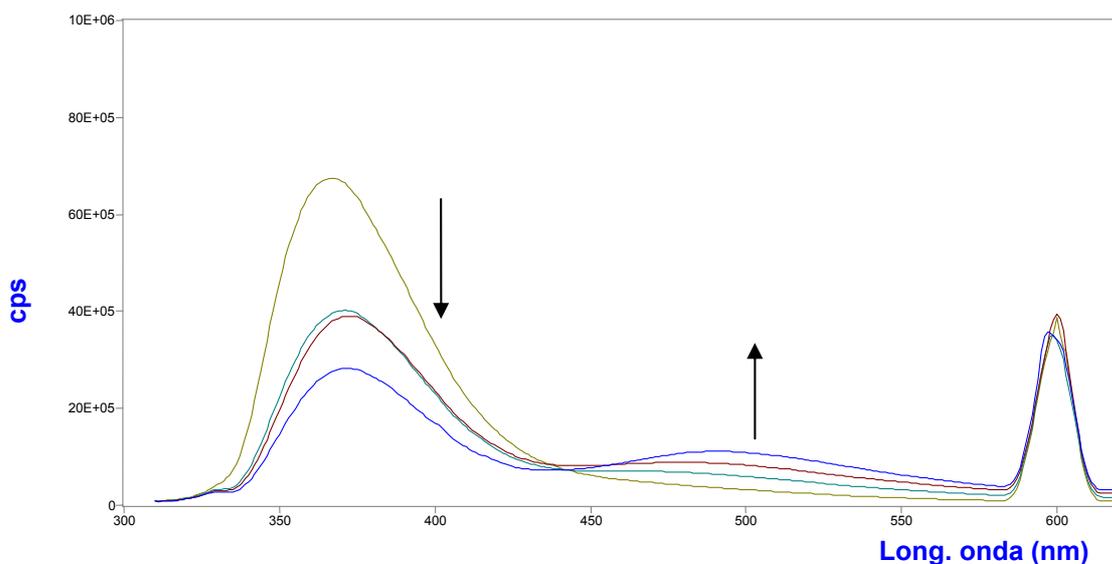


Figura V.9: Espectro de fluorescencia de **L14** tras la adición de Cu^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.46 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.73, 1.46 y 2.93 eq. de Cu^{2+} respectivamente.

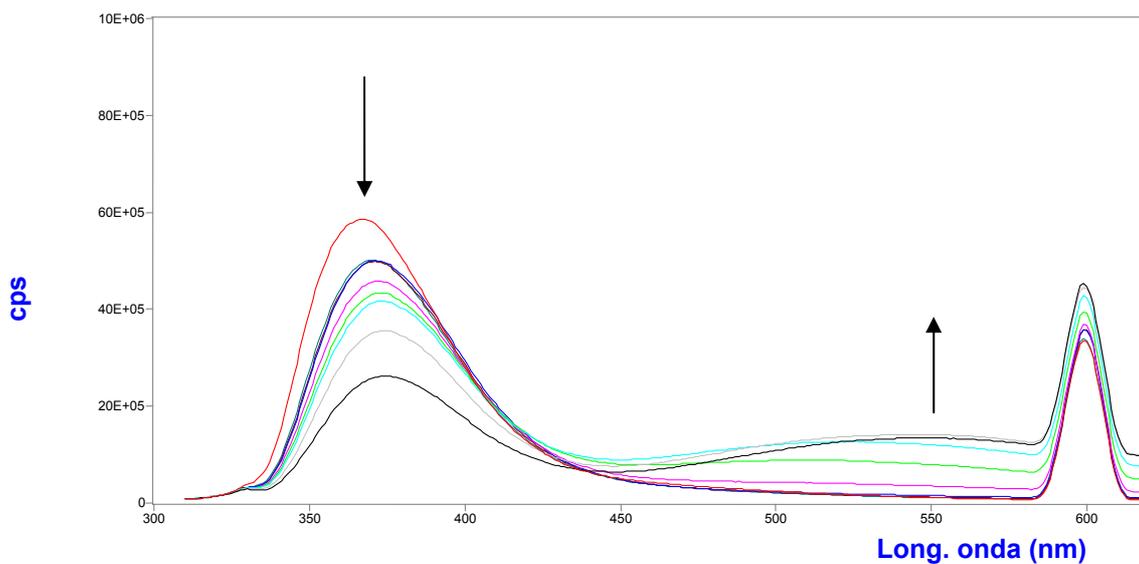


Figura V.10: Espectro de fluorescencia de **L14** tras la adición de Zn^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aprox. $5.25 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.76, 1.52, 3.04, 6.85, 10.65, 14.45, 18.25 y 22.05 eq. de Zn^{2+} respectivamente.

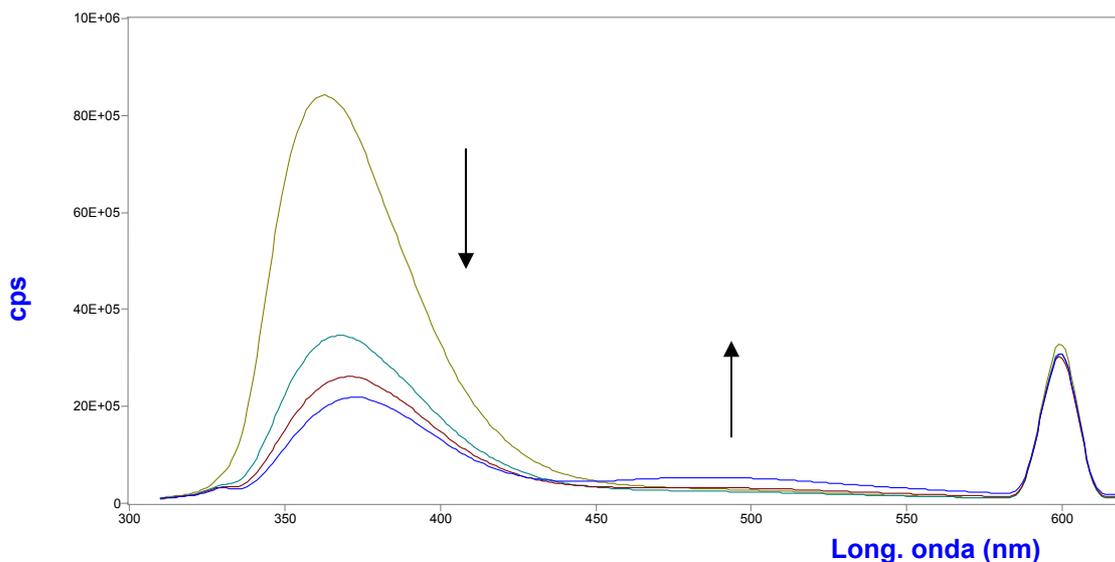


Figura V.11: Espectro de fluorescencia de **L15** tras la adición de Cu^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.74 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.70, 1.39 y 2.09 eq. de Cu^{2+} respectivamente.

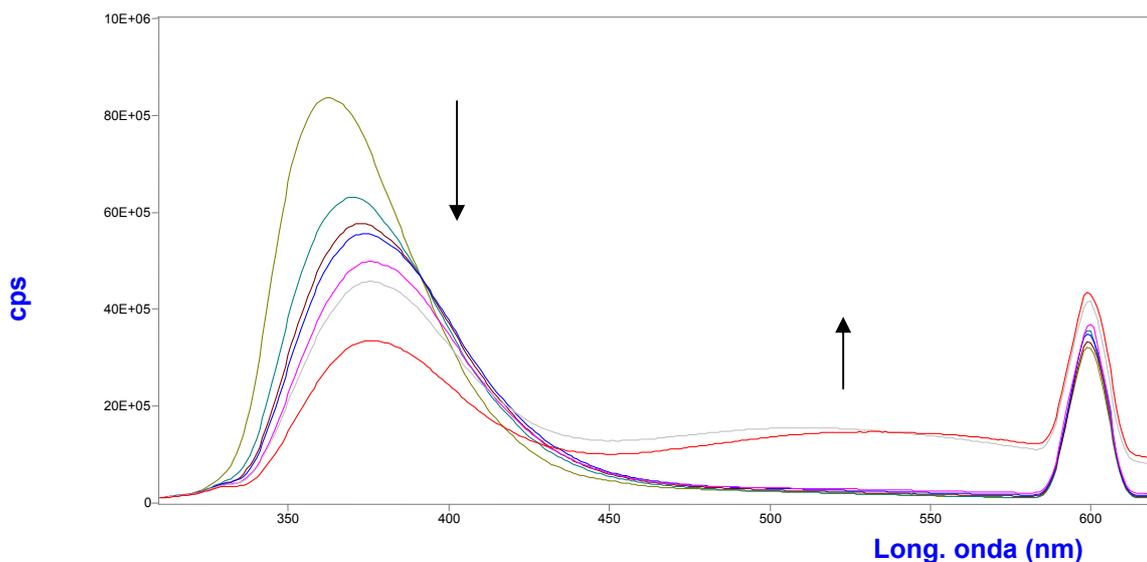


Figura V.12: Espectro de fluorescencia de **L15** tras la adición de Zn^{2+} a 20°C , $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de ligando fue aproximadamente $5.52 \times 10^{-6} \text{ M}$ en CH_3CN . El espectro corresponde a adiciones de 0, 0.68, 1.37, 2.05, 5.47, 15.72 y 22.55 eq. de Zn^{2+} respectivamente.

Hay muchos indicios que nos hacen pensar que la aparición de estas banda puede deberse a la formación de excíplejos. Entre ellos se puede indicar que:

- La intensidad de la banda depende del tiempo, pudiendo pues deberse a algún fenómeno controlado por difusión.
- La intensidad de la banda nueva crece a la vez que la de la banda principal decrece. Esto hace pensar que las especies formadas, cuya respuesta es

la emisión en la banda principal, van evolucionando a otras que emiten en la segunda frecuencia.

- El espectro de excitación a $\lambda_{em} = 373$ nm en el compuesto **L14** tras la adición de 2.93 equivalentes de Cu^{2+} (fig. V.13) presenta una morfología similar al espectro de UV registrado para el ligando libre, mientras que el espectro de excitación registrado a $\lambda_{em} = 494$ nm, es decir, en el máximo de la nueva banda, presenta un desplazamiento del máximo de excitación con respecto a los dos espectros anteriores, Estos hechos indican claramente la presencia de una nueva especie que únicamente se forma al excitar la muestra, pudiendo corresponder al citado excíplejo.

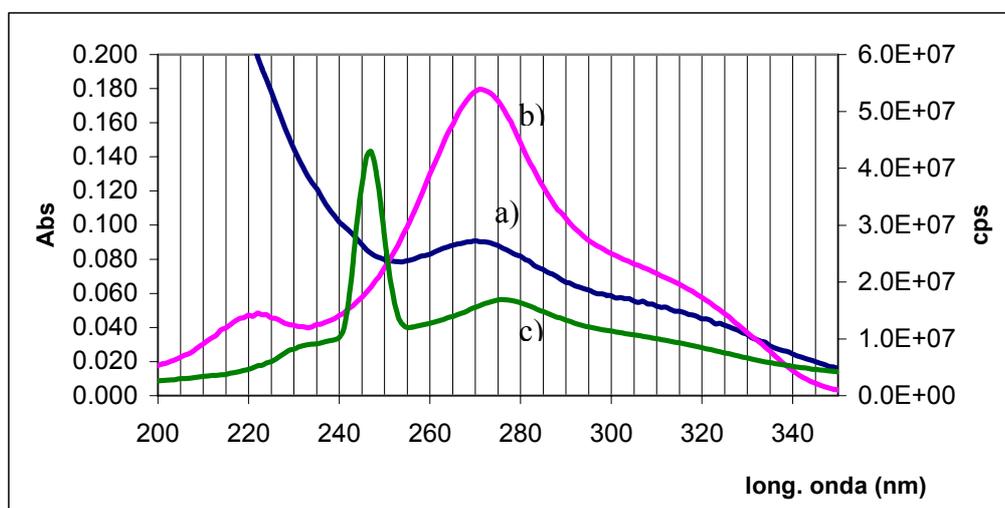


Figura V.13: Espectro de UV y de excitación de **L14** tras la adición de 2.93 equivalentes de Cu^{2+} a 20 °C. La concentración de ligando fue 5.46×10^{-6} M en CH_3CN . a) espectro de UV, b) $\lambda_{em} = 372$ nm y c) $\lambda_{em} = 494$ nm.

Dos son las posibles hipótesis propuestas para explicar la presencia del excíplejo:

- La formación de un dímero con dos complejos estables en el estado fundamental en cuyo caso se tendría un excímero de complejos.
- Un cambio de estequiometría del compuesto en un nivel excitado debido a la mayor concentración de metal. Este nuevo complejo al desexcitarse sería inestable retomando el complejo inicial y liberándose el metal adicional.

Además, se tienen diferentes resultados que sugieren que los nitrógenos bencílicos están implicados en la interacción entre el metal y el ligando para formar esta nueva especie:

- Los experimentos de valoración llevados a cabo con **TMB** y Cu^{2+} no dan lugar a ninguna banda nueva, sino que simplemente se produce un amortiguamiento de la banda principal.
- Los experimentos llevados a cabo con **L12** y Cu^{2+} sí dan lugar a la presencia de esta nueva banda y **L12** solamente cuenta con nitrógenos bencílicos además de los que presenta la **TMB**.
- Los experimentos con **L3**, que cuenta con aminas alifáticas pero no aminas bencílicas, no revelan la presencia de ninguna nueva banda, observándose simplemente el amortiguamiento de la fluorescencia de la banda principal.
- Además se observa también un comportamiento similar en otros ligandos relacionados preparados anteriormente por nuestro grupo.¹³²

En cualquier caso, son necesarias un mayor número de pruebas con el fin de esclarecer realmente qué especie es la responsable de la aparición de esta segunda banda.

V.4. EXPERIMENTOS DE COMPLEJACIÓN DE ANIONES

En el capítulo IV se estudiaron las propiedades de complejación de **L7** frente a cationes. Sin embargo, no se había probado frente a aniones. Se consideró que **L7**, junto con **L14** podían ser potenciales sensores de aniones por poseer un protón con capacidad de formar puentes de hidrógeno con el sustrato.

Por esta razón, se estudiaron sus propiedades fotofísicas en CH_3CN en presencia de F^- , Cl^- y Br^- en forma de sales de tetrabutilamonio.

Los resultados obtenidos muestran que ni el Cl^- ni el Br^- dan una modificación sustancial de las propiedades fluorescentes de los ligandos.

Por el contrario, el F^- da lugar a incrementos en la fluorescencia original del ligando del 15% en el caso de **L14** (fig. V.13) y de un espectacular 230% con el ligando **L7** (fig. V.15)

¹³² A. M. Costero, S. Gil, J. Sanchis, S. Peransi, V. Sanz, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 6327.

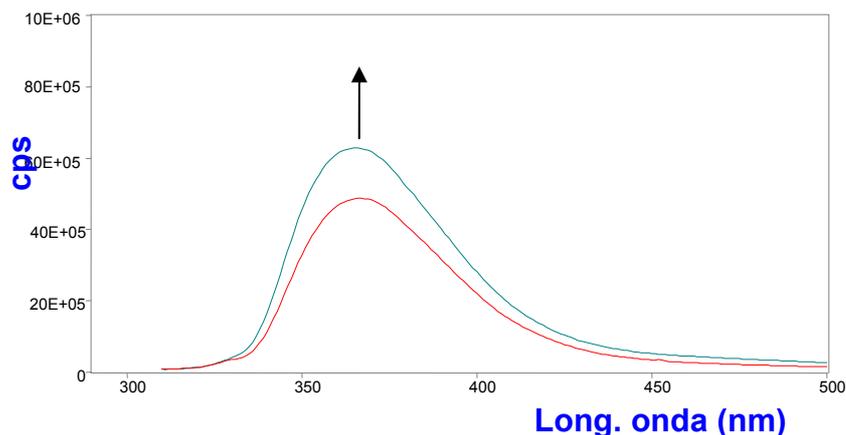


Figura V.13: Incremento en la fluorescencia de **L14** (4.5×10^{-6} M) en CH₃CN cuando se añadieron 2.2 eq. de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF).

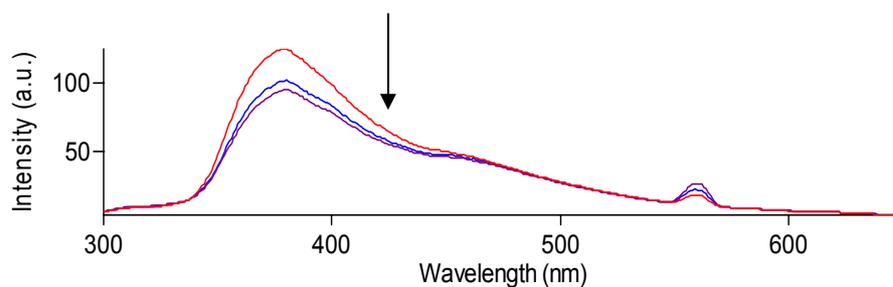


Figura V.14: Amortiguamiento de la fluorescencia de **L14** (8.1×10^{-5} M) en CH₃CN-H₂O cuando se añadieron 0.33 y 0.66 eq. de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) respectivamente.

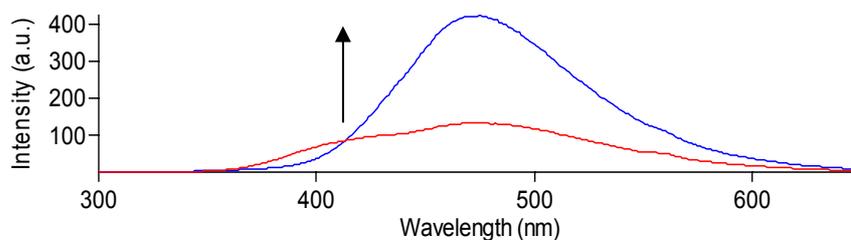


Figura V.15: Incremento en la fluorescencia de **L7** (9.9×10^{-5} M) en CH₃CN cuando se añadieron 0.33 eq. de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF).

Este acusado incremento, podría estar relacionado con una reacción ácido-base entre el F⁻ y el ligando de tal forma que se arrancaría el protón sobre el nitrógeno bencílico en el caso de **L14** y del protón de la amida en el caso de **L7**. Esta hipótesis estaría en concordancia con el hecho de que, cuando se encuentra agua presente en la mezcla (para el ligando **L14** en CH₃CN/H₂O desde 98/2 hasta 50/50), las disoluciones solamente experimentan un pequeño amortiguamiento después de la adición del TBAF (fig. V.14). En medio acuoso, esta desprotonación no es posible por lo que no se observa este aumento en la fluorescencia. Para el ligando **L7** no se

podieron realizar los mismos experimentos ya que la presencia de agua (<2%) amortigua totalmente la fluorescencia del ligando.

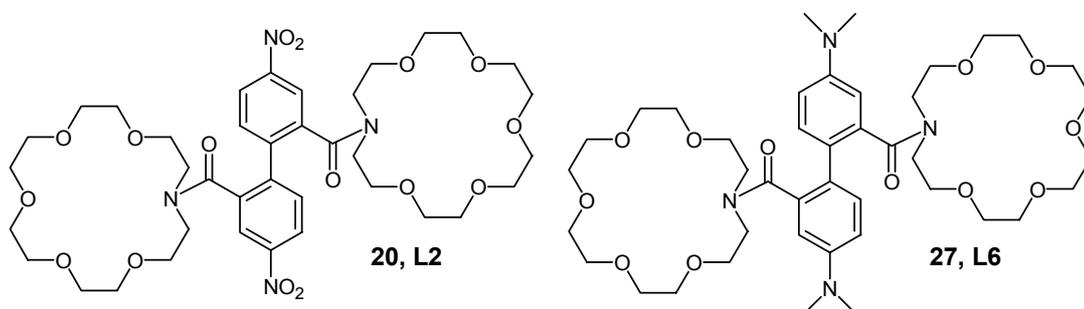
El hecho de que para el ligando **L7** presente un aumento 15 veces superior al incremento presentado por **L14**, apoyó la idea de que éste incremento podría estar relacionado con la acidez del ligando.

Por otro lado, se realizaron experimentos de ^1H RMN en CD_3CN para **L7** que demostraron que realmente se produce una interacción entre el anión fluoruro y el ligando **L7**. Así, todos los protones (aromáticos y alifáticos) de **L7** experimentan un fuerte apantallamiento debido a la proximidad del anión. Este efecto no se observó ni con el cloruro ni con el bromuro, que mostraron el mismo espectro que el ligando libre.

CAPÍTULO VI

Discriminación Selectiva de Zn^{2+} y Cd^{2+} mediante los Sensores L2 y L6

Los ligandos de tipo podando, estudiados anteriormente, se caracterizan por una afinidad relativamente alta por cationes metálicos y aniones pero su selectividad y discriminación frente al fenómeno de complejación es muy baja. Como ya se ha explicado, la baja preorganización de las cadenas poliamínicas se traduce en una elevada flexibilidad que se ajusta fácilmente a las demandas topológicas de cada sustrato sin apenas gasto energético.



Sin embargo, los ligandos **20** y **27**, (en adelante **L2** y **L6** respectivamente) poseen subunidades receptoras basadas en aza-coronandos. La estructura del éter corona almacena en su topología mucha más información (tamaño del anillo, disposición de los átomos dadores, dureza/blandura de éstos, etc.) que los podandos. Este factor, hacía pensar que, con estos ligandos, se podría conseguir una mayor selectividad en el fenómeno de reconocimiento. Por ello, se decidió planificar y llevar a cabo un estudio de detección de Zn^{2+} y Cd^{2+} . Las razones que explican la elección de estos cationes son variadas.

Así, mientras que el Zn^{2+} es un catión presente en innumerables procesos biológicos y prácticamente en todos los órganos y tejidos del cuerpo humano, el

cadmio es uno de los metales más tóxicos que se conocen considerándose incluso más peligroso que el plomo.

Dado que en su forma iónica ambos cationes tienen la misma configuración electrónica y tamaños muy parecidos, el carácter más blando y tiofílico del cadmio hace que pueda desplazar al cinc de sus enzimas a la que generalmente está unido por grupos -SH de cisternas dando lugar a graves problemas de intoxicación.

Por todo ello, disponer de sensores capaces de distinguir estos dos cationes es de suma importancia. De hecho, en la bibliografía hay numerosos ejemplos de complejación de estos cationes.^{133,134,135}

VI.1. EXPERIMENTOS DE COMPLEJACIÓN DE Cd²⁺ Y Zn²⁺ CON L2 Y L6

Se pensó que para abordar el estudio de las propiedades sensoras de **L2** y **L6** frente a Zn²⁺ y Cd²⁺ era conveniente efectuar valoraciones añadiendo sobre el ligando cantidades discretas y conocidas de metal. La respuesta del ligando fue seguida por tres métodos diferentes: RMN, UV-visible y emisión de fluorescencia.

VI.1.1. ESTUDIOS DE RMN

En estos estudios se observó que la adición de sales de Zn²⁺ o Cd²⁺ sobre **L2** y **L6** producía cambios importantes en sus espectros de ¹H RMN. La discusión posterior está centrada en el comportamiento de los protones aromáticos que son los que dan lugar a mayores modificaciones.

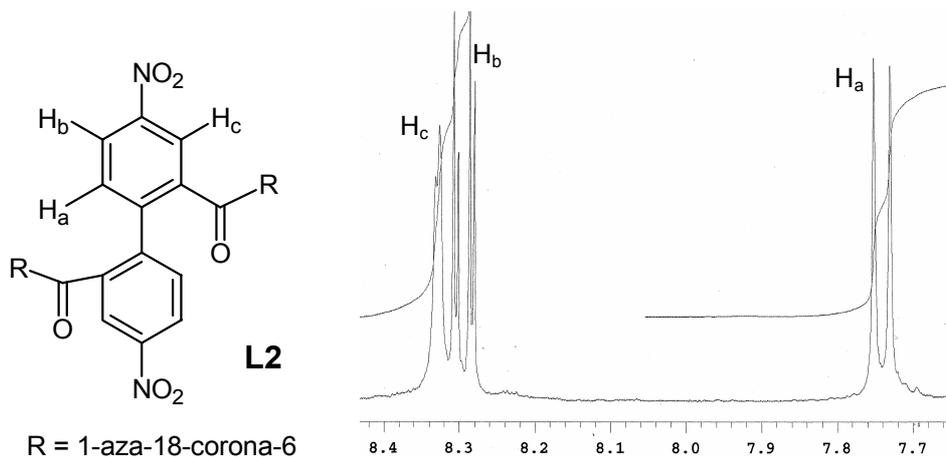
El ligando **L2** disuelto en CD₃CN presenta tres señales en la zona aromática a H_a: $\delta = 7.75$ ppm (2H, d, J = 8.4 Hz), H_b: $\delta = 8.29$ ppm (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.8 Hz), H_c: $\delta = 8.33$ ppm (2H, d, J = 2.8 Hz) (esquema VI.1).

La adición de Cd (NO₃)₂ genera un ensanchamiento muy acusado en el doblete centrado en 7.75 ppm y un desplazamiento de todas las señales. Los datos de desplazamientos que había sufrido la señal inicialmente centrada a $\delta = 8.33$ ppm a lo largo de la valoración (de 0 a 2.8 equivalentes de Cd (NO₃)₂) fueron ajustados a un modelo de estequiometría 1:1 siguiendo el método de Hildebrand-Benesi (apéndice B, pág. 252). Se obtuvo el ajuste a una recta con un coeficiente de regresión de $r^2 = 0.9996$ (fig. VI.2), de donde se determinó el valor de la constante de complejación que fue de $\log K = 2.473 \pm 0.005$ (tabla VI.1).

¹³³ J.M. Lehn, F. Montavon, *Helv. Chim. Acta*, **1978**, 61, 67.

¹³⁴ F. Arnaud-Neu, B. Spiess, M. J. Schwing-Weill, *Helv. Chim. Acta*, **1977**, 60, 2633.

¹³⁵ K. Adam, S. Donnelly, A. Leong, L. Lindoy, B. McCool, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 1635.



Esquema VI.1

Además de obtener el ajuste a un modelo de estequiometría 1:1, la formación del complejo 1:1 (LM) también fue detectada por espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS). El espectro mostraba claramente una señal a $m/z = 468$ tanto si se introducía una disolución en proporción 1:1 (metal:ligando) ó 2:1 (metal:ligando). Sin embargo, en ningún caso se obtuvo la señal que correspondía a LM_2 ($m/z = 261$).

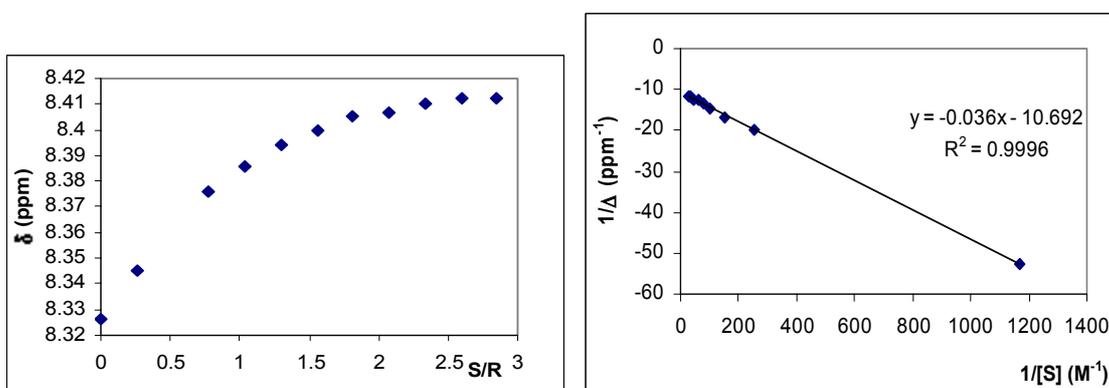


Figura VI.2: a) Variación de la señal de $^1\text{HRMN}$ de **L2** en CH_3CN centrada a 8.33 ppm tras la adición de cantidades crecientes de $\text{Cd}(\text{tf})_2$ (0.25-2.85 equivalentes) frente a **L2** (izquierda). b) Ajuste de los datos experimentales de la señal de $^1\text{HRMN}$ de **L2** en CH_3CN centrada a 8.33 ppm en la valoración con $\text{Cd}(\text{tf})_2$ al modelo de Hildebrand-Benesi de estequiometría 1:1 (derecha).

Este hecho indicaba que, a pesar de tener disponibilidad de metal para formar el complejo LM_2 , **L2** prefería mantener la estequiometría de complejación 1:1.

Tabla VI.1: Constantes de complejación (log K) para **L2** y **L6** in CD_3CN at 295K.

Ligand	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$
L2	----	2.473 ± 0.005
L6	2.50 ± 0.07	1.98 ± 0.01

Cuando se repitió el estudio utilizando $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, se obtuvieron cambios completamente opuestos al caso del Cd^{2+} . Ahora, las señales centradas a $\delta = 8.33$ y 8.29 ppm se ensanchaban mucho, llegando incluso a desaparecer bajo una envolvente común.

La señal centrada a $\delta = 7.74$ ppm por el contrario permanecía resuelta. La constante de asociación no se pudo determinar en este caso, puesto que el desplazamiento sufrido por la señal a $\delta = 7.74$ era insuficiente y la determinación del desplazamiento de las señales que se ensancha es demasiado impreciso para obtener datos fiables. Se intentó determinar las constantes realizando una valoración similar pero seguida por espectroscopia de UV-visible como método alternativo.

Desafortunadamente, no se observaron cambios en el espectro de absorción suficientemente significativos como para calcular la constante de complejación (tanto en el caso del Zn^{2+} como en el del Cd^{2+}) (fig. VI.3).

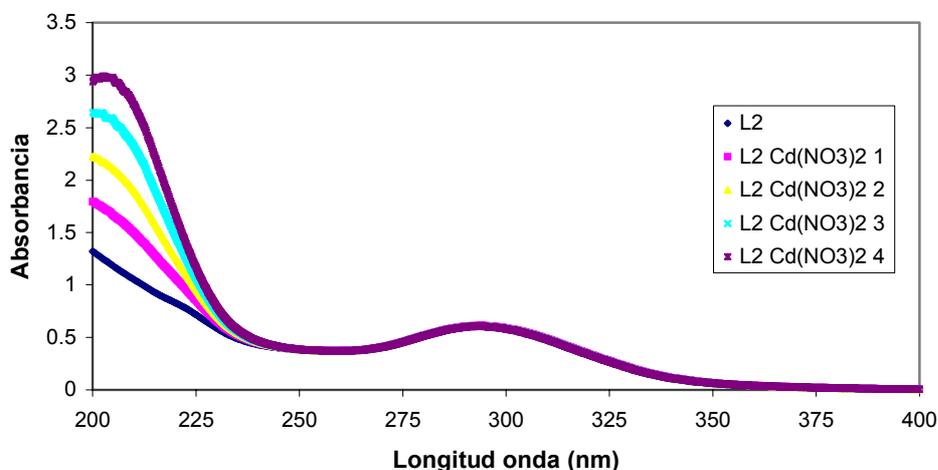
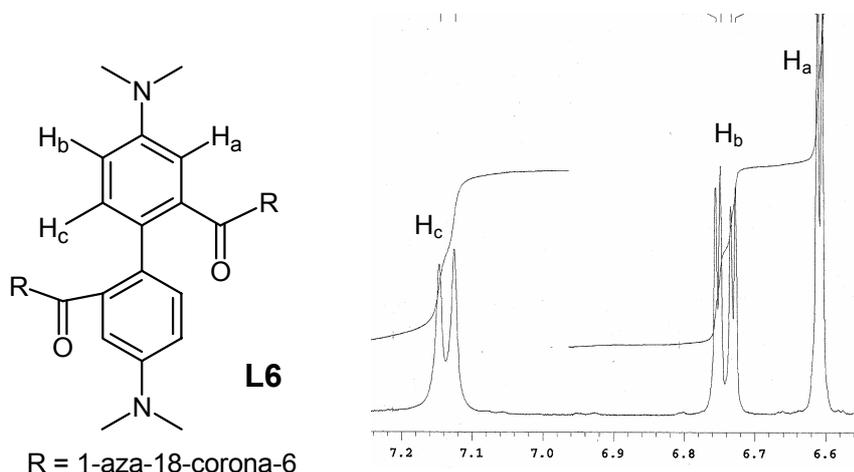


Figura VI.3: Aplicación del método de determinación de estequiometrías mediante espectroscopia de absorción en el UV al complejo $\text{L2} \cdot [\text{Cd}(\text{NO}_3)_2]_n$. La variación en la absorbancia entre dos adiciones de sal metálica puede apreciarse que casi nula, por lo que esta técnica no resulta útil para determinar estequiometrías en los complejos con **L2**.

Sin embargo, sí que se tuvo constancia de la presencia del complejo 1:1 cuando se empleó la ESI-MS. El espectro mostraba claramente un pico a $m/z = 443$. Al igual que ocurría en el caso del Cd^{2+} se introdujeron en el espectrómetro disoluciones 1:1 y 1:1 (ligando:metal) para tratar de observar el complejo LM_2 y aun así, no se obtuvo ningún pico a $m/z = 238$.

La selectividad de la complejación se valoró con el ligando **L6**, utilizando una mezcla equimolecular de nitratos de Zn^{2+} / Cd^{2+} . El espectro de 1H RMN registrado se asemejaba al obtenido cuando solamente se valoró con Cd^{2+} , es decir, se observaba un ensanchamiento en la señal situada a $\delta = 7.75$, mientras que las centradas en $\delta = 8.33$ y $\delta = 8.29$ ppm mantenían su fisonomía.

Cuando se llevaron a cabo experimentos similares sobre **L6**, se observaron resultados más interesantes. Centrándonos en las señales aromáticas de **L6** (H_a : $\delta = 6.61$ ppm (2H, d, $J = 2.8$ Hz), H_b : $\delta = 6.74$ ppm (2H, dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.8$ Hz), H_c : $\delta = 7.14$ ppm (2H, d, $J = 8.8$ Hz) (esquema VI.2). Se observa que cuando **L6** es valorado con $Zn(NO_3)_2$, la señal a $\delta = 7.14$ ppm se desplaza hacia campo alto, mientras que de forma concomitante aparece un nuevo juego de señales a $\delta = 6.74$ y 6.61 ppm (fig. VI.4)



Esquema VI.2

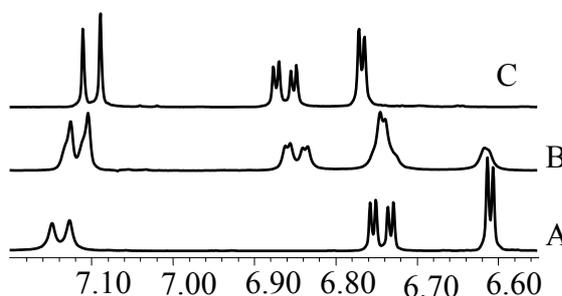


Tabla VI.4: Valoración del ligando **L6** con Zn^{2+} en CD_3CN . A.- Ligando **L6**; B.- **L6** + 1 equivalente de Zn^{2+} ; C.- **L6** +3.5 equivalentes de Zn^{2+} .

Se utilizaron 2 métodos diferentes para tratar de determinar la estequiometría del complejo. De acuerdo con el método de la razón molar, el cambio abrupto de la pendiente a $M/L = 1$ en la representación de la variación de la señal centrada inicialmente en $\delta = 7.14$ ppm frente a la razón M/L , sugería inequívocamente, la formación de un compuesto 1:1 con una alta estabilidad (fig. VI.5).

Además, no se observaban cambios de pendiente significativos a mayores relaciones M/L .

Del análisis de los cambios en la intensidad de las señales emergentes se derivaba la misma conclusión. Tras la adición del primer equivalente de metal, las señales a $\delta = 6.74$ y 6.61 ppm habían desaparecido y no se producía un aumento significativo en la intensidad de las nuevas señales aunque se adicionara metal hasta un exceso de 3.5 equivalentes (fig. VI.6).

Así, se puede descartar la formación del complejo de estequiometría LM_2 .

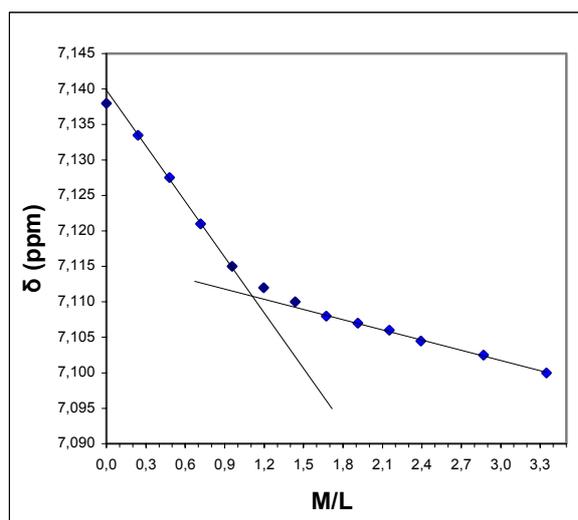


Figura VI.5: Variación de la señal de ^1H RMN de L6 centrada a 7.14 ppm ($2.72 \cdot 10^{-2}$ M en CD_3CN) tras la adición de concentraciones crecientes de $\text{Zn}(\text{tf})_2$ (0.25 – 3.3 equivalentes) frente a L.

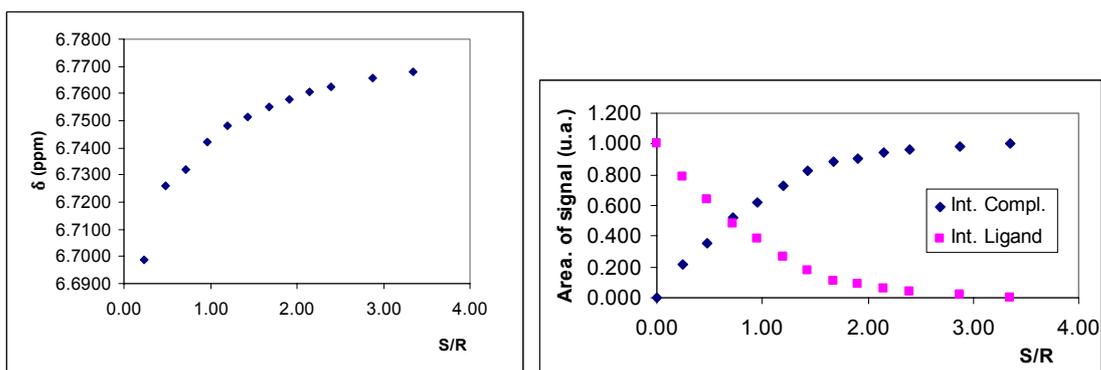


Figura VI.6: a) Variación de la señal de 1H RMN de $L6 \cdot Zn(tf)_2$ en CD_3CN finalmente centrada en 6.77 ppm tras la adición de concentraciones crecientes de $Zn(tf)_2$ (0.25 – 3.35 equivalentes) frente a L (izquierda). b) Variación de la señal de 1H RMN de L6 (en rosa) centrada a 6.74 y la nueva señal de $L6 \cdot Zn(tf)_2$ (en azul) en CD_3CN finalmente centrada en 6.86 ppm tras la adición de concentraciones crecientes de $Zn(tf)_2$ (0.25 – 3.35 equivalentes) frente a L (derecha).

De nuevo en ESI-MS se obtuvo una señal a $m/z = 442$, que correspondía al complejo LM, y en absoluto se observó la señal a $m/z = 237$, que correspondería al complejo LM_2 . La constante de estabilidad se determinó utilizando la ecuación de Hildebrand-Benesi y se obtuvo un valor de $\log K = 2.50 \pm 0.07$ (tabla VI.1).

El $Cd(NO_3)_2$ interaccionó con L6 de una manera muy similar a como lo hizo el $Zn(NO_3)_2$. También en este caso, un nuevo juego de señales apareció en la zona aromática en el espectro de 1H RMN tras la adición de cantidades crecientes de la sal. La principal diferencia con el Zn^{2+} es que ahora, la señal a $\delta = 7.14$ también experimentó un desdoblamiento en dos señales diferentes en vez de un mero desplazamiento hacia campo alto y que, a pesar de la adición de 10 equivalentes de catión, las señales correspondientes al ligando libre no desaparecieron (fig. VI.7). Los datos de RMN obtenidos en la valoración, se ajustaron al modelo de Hildebrand-Benesi para una estequiometría 1:1, (fig. VI.8) y se obtuvo una constante de estabilidad de $\log K = 1.98 \pm 0.01$. El conjunto de picos a $m/z = 466$ para $L6 \cdot Cd^{2+}$ en el espectro de ESI-MS refrendaba la estequiometría propuesta.

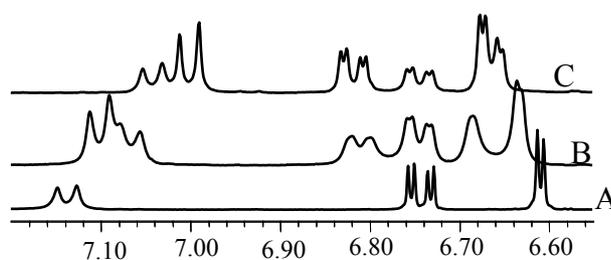


Figura VI.7: Valoración del ligando L6 con Cd^{2+} en CD_3CN . A.- Ligando L6; B.- L6 + 1 equivalente de Cd^{2+} ; C.- L6 + 3.5 equivalentes de Cd^{2+} .

Aunque la diferencia entre las dos constantes de estabilidad no era muy elevada [$\log K(\text{Zn}^{2+}) = 2.50$, $\log K(\text{Cd}^{2+}) = 1.98$] al realizarse el experimento de competencia entre las dos sales, se observó una marcada selectividad de **L6** hacia Zn^{2+} en clara discriminación de Cd^{2+} . De hecho, el espectro de ^1H RMN que se obtuvo cuando se adicionó una disolución 1:1 ($\text{Zn}^{2+}:\text{Cd}^{2+}$) sobre **L6** resultó ser idéntico a aquel que se obtenía cuando únicamente se valoraba con Zn^{2+} .

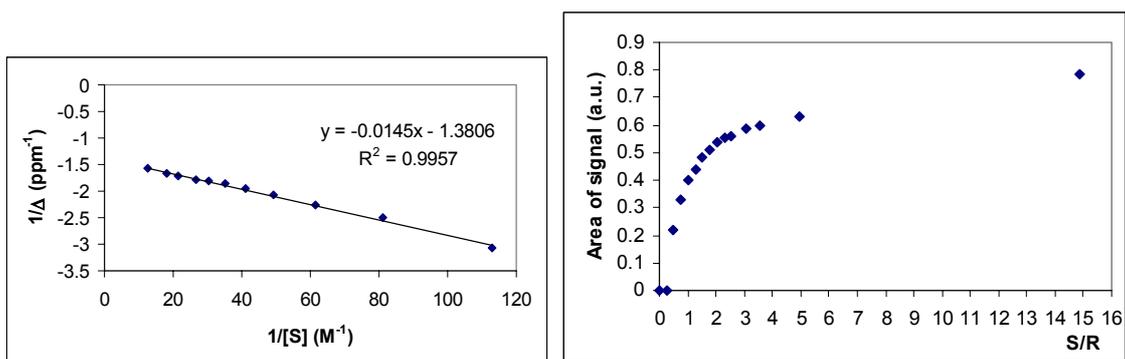


Figura VI.8: a) Variación de la señal de $^1\text{HRMN}$ de $\text{L6} \cdot \text{Cd}(\text{tf})_2$ en CH_3CN finalmente centrada a 6.82 ppm tras la adición de cantidades crecientes de $\text{Cd}(\text{tf})_2$ (0.25-14.88 equivalentes) frente a **L6** (izquierda). b) Ajuste de los datos experimentales de la señal de $^1\text{HRMN}$ de $\text{L6} \cdot \text{Cd}(\text{tf})_2$ en CH_3CN finalmente centrada a 6.82 ppm en la valoración con $\text{Cd}(\text{tf})_2$ al modelo de Hildebrand-Benesi de estequiometría 1:1 (derecha).

VI.1.2. ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA

El ligando **L6** es altamente fluorescente y por ello, se hizo un estudio para determinar su capacidad de transducir el evento de reconocimiento como sensor de fluorescencia para Cd^{2+} y Zn^{2+} .

El espectro de absorción de luz en el UV-visible de **L6**, en CH_3CN , mostró una fuerte absorbancia en la región de UV, centrada a 295 nm ($\epsilon = 29600$) presentando un hombro a longitud de onda mayor, centrado a 333 nm ($\epsilon = 5680$). Tras ser excitado a 340 nm, **L6** dio una banda intensa de emisión de fluorescencia centrada en 474 nm con un rendimiento cuántico de $\phi = 0.08$ (fig. VI.9).

Este valor, comparado con el rendimiento obtenido para la **TMB** ($\phi = 0.043$) bajo las mismas condiciones, indicó que la introducción de sustituyentes incrementaba la emisión de fluorescencia. Posiblemente, una molécula más grande resulta más rígida en disolventes polares, y por eso disminuye la posibilidad de relajación por vibración.

La valoración del ligando **L6** con cantidades crecientes de $\text{Zn}(\text{tf})_2$ y $\text{Cd}(\text{tf})_2$ en acetonitrilo produce diversos efectos en el espectro de UV-visible (fig. VI.9 y VI.10).

El máximo de absorción ($\lambda = 295$ nm) ve disminuida su intensidad al mismo tiempo que se incrementa la absorbancia en el hombro. Éste se desplaza simultáneamente

hacia el rojo (17 nm de desplazamiento para el Zn(tf)₂ y 9 nm en el caso del Cd(tf)₂) dando lugar a un punto isobéstico a 340 nm perfectamente definido.

El espectro de emisión de fluorescencia para **L6** al adicionar Zn²⁺ y Cd²⁺ también se ve marcadamente afectado. Se produce un desplazamiento hacia el rojo (el máximo de emisión se desplazó 17 nm tras la adición de 2 equivalentes de Zn²⁺ y de 12 nm al adicionar la misma cantidad de Cd²⁺).

Además, ambos cationes indujeron un amortiguamiento parcial de la fluorescencia, dándose en el caso del Zn²⁺ en efecto más pronunciado (76% de amortiguamiento tras adicionar 2 equivalentes de metal) que para el Cd²⁺ (38% en las mismas condiciones).

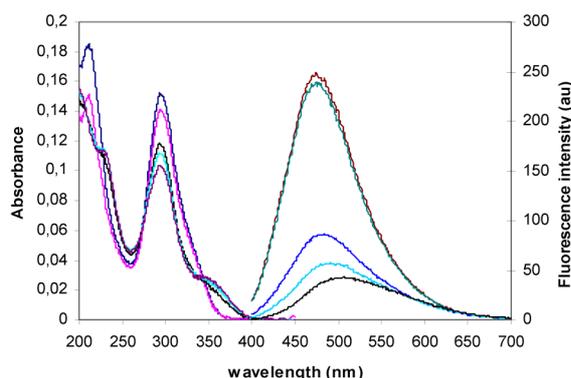


Figura VI.9: Espectros de absorbancia en UV-visible (de 200 a 400 nm) y emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$) (de 400 a 700 nm) de **L6** ($4.51 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ en acetonitrilo) y tras adiciones crecientes de Zn(tf)₂ (1-10 equivalentes), en presencia de Bu₄NClO₄ ($1.41 \cdot 10^{-4} \text{ M}$).

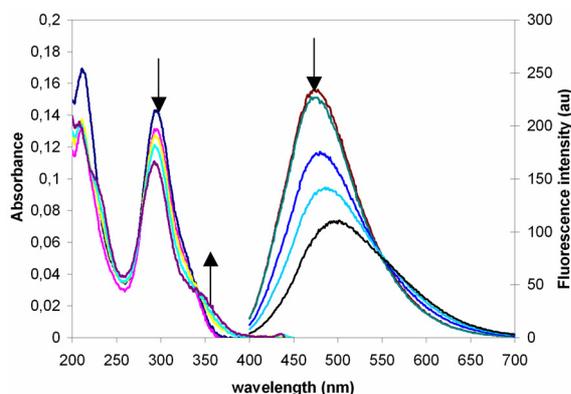


Figura VI.10: Espectros de absorbancia en UV-visible (de 200 a 400 nm) y emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$) (de 400 a 700 nm) de **L6** ($4.76 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ en acetonitrilo) y tras adiciones crecientes de Cd(tf)₂ (1-10 equivalentes), en presencia de Bu₄NClO₄ ($1.41 \cdot 10^{-4} \text{ M}$).

Cuando se hizo la valoración con una disolución 1:1 (Zn²⁺/Cd²⁺) sobre **L6**, los espectros tanto de UV como de emisión de fluorescencia obtenidos, claramente se asemejaban a los obtenidos cuando solamente se valoró con Zn (tf)₂ (fig. VI.11).

Con el fin de comprobar el efecto del contraión, se repitieron los mismos experimentos con los nitratos correspondientes y se llegó a los mismos resultados.

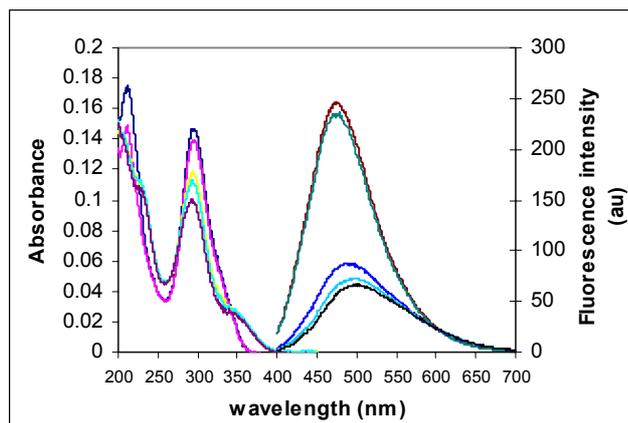


Figura VI.11: Espectros de absorción en UV-visible (de 200 a 400 nm) y emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm) (de 400 a 700 nm) de **L6** ($4.51 \cdot 10^{-6}$ M en acetonitrilo) y tras adiciones crecientes de una mezcla de $\text{Zn}(\text{tf})_2$ y $\text{Cd}(\text{tf})_2$ (1-10 equivalentes), en presencia de Bu_4NClO_4 ($1.41 \cdot 10^{-4}$ M).

VI.2. INTERPRETACIÓN DE LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN DE L2 Y L6 CON Zn^{2+} Y Cd^{2+}

Una optimización por métodos de mecánica molecular (MM+)¹³⁶ predijo que el tamaño medio de la cavidad es de unos 1.38 Å de radio. El radio iónico del Cd^{2+} es de 0.97 Å y el del Zn^{2+} de 0.74 Å. Así, probablemente, el Cd^{2+} ajusta mejor que el Zn^{2+} , dando lugar a constantes de complejación más altas lo que está de acuerdo con los resultados experimentales.

VI.2.1. LIGANDO L2

Los estudios de ^1H RMN llevados a cabo con el ligando **L2**, mostraron que éste formaba complejos con estequiometría 1:1 tanto con el $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ como con el $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$.

Además el número de señales que se observaban en el espectro de protón estaban de acuerdo con una estructura simétrica.

La simetría del complejo podía ser debida a dos factores:

- Un intercambio rápido del catión entre ambas cavidades que las hiciera equivalentes en la escala del RMN o
- La presencia de un complejo de tipo sándwich en cuya formación se implicaran ambas coronas.

¹³⁶ La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MM+ como campo de fuerza y el algoritmo de Polac-Ribiere (gradientes conjugados) incluidos en el programa HyperChem versión 7.01 de Hypercube Inc. (www.hyper.com).

Sin embargo, la última posibilidad pudo ser descartada ya que como hemos indicado anteriormente la adición de Zn²⁺ o de Cd²⁺ no provocaba ningún cambio en los espectros de UV de los sistemas, poniendo de manifiesto que no se producía ninguna modificación en el ángulo diedro de la subunidad de **TMB** (fig. VI.3).

Como consecuencia de este hecho, la primera premisa cobró mayor verosimilitud (fig. VI.12). Los valores para las constantes de estabilidad de los complejos, además, apuntaban también en esta dirección, y seguirían el mismo razonamiento propuesto para el caso de **L16** y **L17**, en el que el radio iónico sería el factor determinante en el mejor o peor ajuste del catión implicado en la cavidad de una sola corona.

El bajo rendimiento cuántico de emisión de fluorescencia en CH₃CN ($\phi = 0.0004$) hallado para **L2** no fue un hecho sorprendente, sino más bien esperado. En general, la fluorescencia de los hidrocarburos aromáticos que poseen un grupo nitro, no se suele detectar. La existencia de transiciones $n \rightarrow \pi^*$ en este sustituyente aumenta la eficacia de los procesos de cruzamiento entre sistemas (ISC) y de conversión interna (IC)¹³⁷. Así pues, esta técnica no podía darnos ninguna información acerca de la naturaleza del complejo.

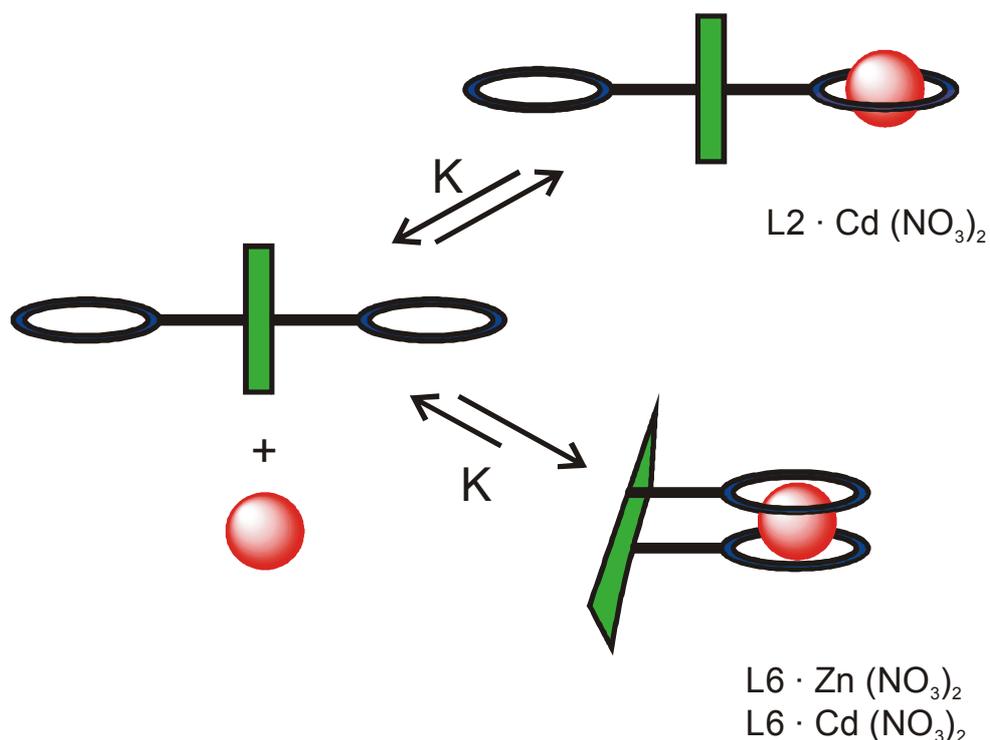


Figura VI.12: Tipos de complejos propuestos.

¹³⁷ B. Valeur, "Molecular Fluorescence. Principles and Applications", Wiley-VCH, Weinheim (Alemania), 2002.

VI.2.2. LIGANDO L6

Como ya hemos indicado, la estequiometría con la que compleja este ligando es 1:1, sin embargo, la aparición de un juego de nuevas señales perfectamente resueltas en la región aromática pertenecientes al complejo, junto a una disminución simultánea de las señales del ligando implica que, al contrario de lo que ocurría en el caso de **L2**, la cinética de intercambio entre este ligando y el complejo es lenta en comparación con la escala de tiempos de la RMN. Por otra parte, el hecho de que solamente se observan tres señales para los protones aromáticos tanto para el ligando como para el complejo, indica claramente que ambos poseen una estructura simétrica. Estas observaciones, nos llevan a proponer una estructura de tipo sándwich para los compuestos formados con **L6**. La proposición alternativa de un intercambio rápido del metal entre las dos coronas, como ocurría en el caso de **L2**, se descartó a la vista del intercambio cinético lento entre el complejo y el ligando que se ha descrito anteriormente.

Finalmente se observó la aparición de una nueva banda en el espectro de UV, que posiblemente está relacionada con la existencia del compuesto sándwich, puesto que éste induciría cambios en la estructura suficientemente fuertes y restrictivos como para modificar las geometrías de los niveles electrónicos y así, la absorción. Para la formación de un complejo 1:1, con el catión alojado solamente en una de las dos cavidades, se esperaría una variación mucho menor.

Los cambios significativos que se produjeron en el espectro de fluorescencia del ligando **L6** tras la complejación de Zn^{2+} y Cd^{2+} eran consistentes con la información obtenida para la espectroscopia RMN y confirmaban la proposición del complejo tipo sándwich, cuya formación estaría acompañada por una modificación sustancial del valor en el ángulo diedro entre los anillos aromáticos. Este cambio podría ser el responsable de las perturbaciones observadas en las bandas de absorción y de emisión.

El hecho de que para el Zn^{2+} se da un mayor amortiguamiento comparado con el Cd^{2+} , era consistente con su mayor constante de asociación, como se desprendía de la valoración por RMN.

Así pues, a pesar de que los compuestos **L2** y **L6** presentan un par de coronas dispuestas de forma similar, los resultados obtenidos indican que los sustituyentes en las posiciones 4,4' en el anillo de bifenilo tienen una gran influencia en el tipo de complejo formado.

Así, los grupos dimetilamino dan lugar a compuestos de tipo sándwich (fuertes modificaciones en el espectro de UV) mientras que los grupos nitro solamente

permitían la interacción del catión con una sola cavidad (escasa modificación en el espectro de UV).

Cuando se llevan a cabo experimentos de competición entre Zn^{2+}/Cd^{2+} , el ligando **L6** responde selectivamente hacia el Zn^{2+} en presencia de Cd^{2+} . Esta mayor afinidad por el Zn^{2+} parece estar relacionada con factores energéticos. A pesar de que la formación del compuesto de tipo sándwich implica claramente una disminución de entropía, por otro lado, significa un aumento de entalpía debido a un mayor número de interacciones electrostáticas oxígeno-metal. Así, para los dos complejos metálicos, el factor entálpico debía superar al factor entrópico, puesto que si no, no se formaría el sándwich. Sin embargo, el hecho de que el Zn^{2+} sea un catión significativamente más duro que el Cd^{2+} , debido a su menor tamaño, podría ser la razón de que el aumento de entalpía que se generaba al formar el complejo fuera mayor que para el Cd^{2+} , como resultado de una mayor interacción electrostática “duro-duro” con el oxígeno (fig. VI.12).

VI.3. ESTUDIOS ELECTROQUÍMICOS SOBRE L2

L2 presenta una unidad de 4,4'-dinitrobifenilo que puede tener propiedades de interruptor electroquímico como se había visto en el capítulo I (pág. 37).

Además, las técnicas electroquímicas se pueden utilizar para caracterizar el comportamiento frente a la complejación de metales de post-transición. Es por ello que se decidió realizar estudios electroquímicos de **L2** en presencia de Cd^{2+} y Zn^{2+} para complementar los estudios obtenidos ya por 1H RMN y UV-visible que se han relatado en los anteriores apartados.

El primer paso, en todo estudio de complejación es, como siempre, analizar la respuesta del ligando libre con la técnica elegida y para ello se eligió la voltametría cíclica (CV).

Se hizo un barrido catiónico y aparecieron dos picos de reducción bien definidos a -1.02 V (C_1) y -1.94 V (C_2) (fig. VI.13).

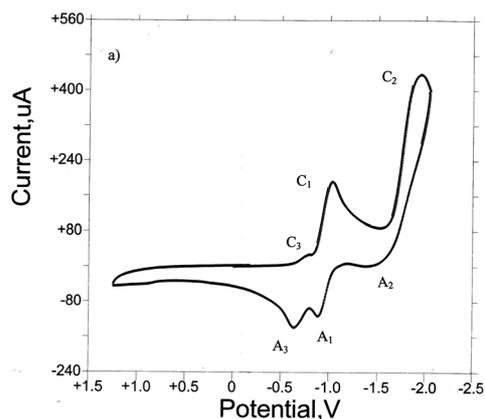


Figura VI.13: Voltametría cíclica (GCE) de una disolución de 2.0 mM de **L2** en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Velocidad de barrido de potencial 200 mV/s. Rango de potencial +1.25 / -2.05 V.

Precediendo al primero, se puede apreciar un pequeño hombro cerca de -0.74 V (C_3). Cuando se realizó el barrido aniónico, apareció un hombro vagamente definido a -1.55 V (A_2) y -0.61 V (A_3). Este último pico desaparece si el potencial se invierte antes de llegar a potenciales cercanos a -1.25 V, lo que sugiere que el pico A_3 corresponde a la oxidación de una especie generada en el electrodo durante el proceso de reducción C_2 (fig. VI.14).

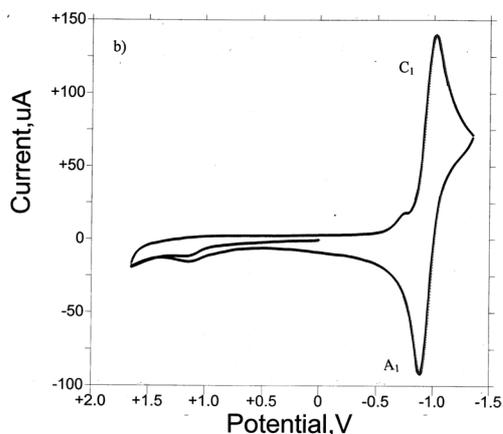


Figura VI.14: Voltametría cíclica (GCE) de una disolución de 2.0 mM de **L2** en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Velocidad de barrido de potencial 200 mV/s. Rango de potencial +1.65 / -1.35 V.

Teniendo en cuenta que la electroquímica de compuestos aromáticos y nitro aromáticos en disolventes apróticos está bien descrita en la bibliografía,^{138,139,140} se podía interpretar la respuesta obtenida como dos procesos sucesivos de transferencia mono-electrónica para generar un anión radical primero y derivar en un dianión posteriormente.

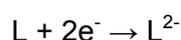
¹³⁸ L.S. Marcoux, J.M. Fritsch, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 89, 5766.

¹³⁹ A.C. Aten, C. Buthker, G.J. Hoijtink, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1959**, 55, 324.

¹⁴⁰ R.D. Allendoerfer, P.H. Rieger, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 2336.

Sin embargo, el perfil que muestra la voltametría, depende fuertemente de la estabilidad del anión radical intermedio. Si éste es inestable respecto a la dismutación en el dianión y el compuesto de partida, el voltagrama parecerá una única onda bielectrónica.

Este fue el caso de L2. Aquí, el valor de anchura media de pico para el proceso C_1 , medido en voltametría de onda cuadrada (SQWV) fue de 115 mV, que era claramente inferior al esperado para un proceso mono-electrónico reversible (126 mV).¹⁴¹ El proceso electroquímico global puede ser representado como:



Una vez racionalizada la respuesta que generaba la reducción del ligando, se pasó a realizar los experimentos en presencia de Cd^{2+} y Zn^{2+} .

Se realizó un voltagrama empleando la CV para el catión Cd^{2+} libre. Se obtuvo un prominente pico de reducción a -0.73 V (C_4) seguido por un intenso pico de oxidación a -0.26 V (A_4), y por una onda anódica a aproximadamente -0.22 V (fig. VI.15).

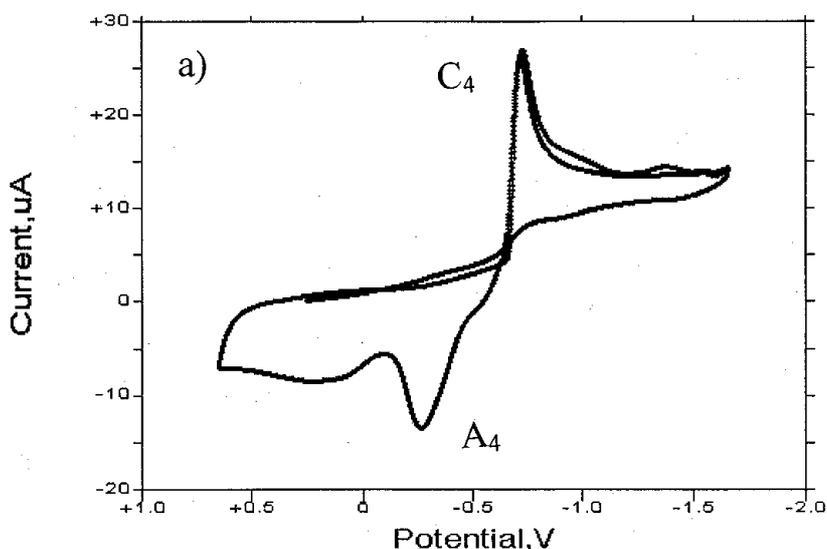


Figura VI.15: Voltametría cíclica (electrodo de Pt) de una disolución de 2.16 mM de $Cd(NO_3)_2$ en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Velocidad de barrido de potencial 100 mV/s.

El proceso catódico corresponde a la reducción por dos electrones del Cd^{2+} y el Cd^0 obtenido, formaba un depósito en la superficie del electrodo. Al invertir el potencial, vuelve a oxidarse y consecuentemente, a disolverse, lo que está de acuerdo con la literatura.¹⁴²

¹⁴¹ E.J. Majeski, J.D. Stuart, W.E. Ohnesorge, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 633.

¹⁴² V.D. Parker, L. Ebersson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 7488.

En presencia de **L2**, se obtuvo un voltagrama en el que, a pesar de estar solapados, en la región catódica se pudieron distinguir picos a -0.46 V (C_5), -0.95 V (C_1), -1.64 V (C_6) y -1.95 V (C_2), mientras que la región anódica presentaba un aspecto muy poco resuelto (fig. VI.16).

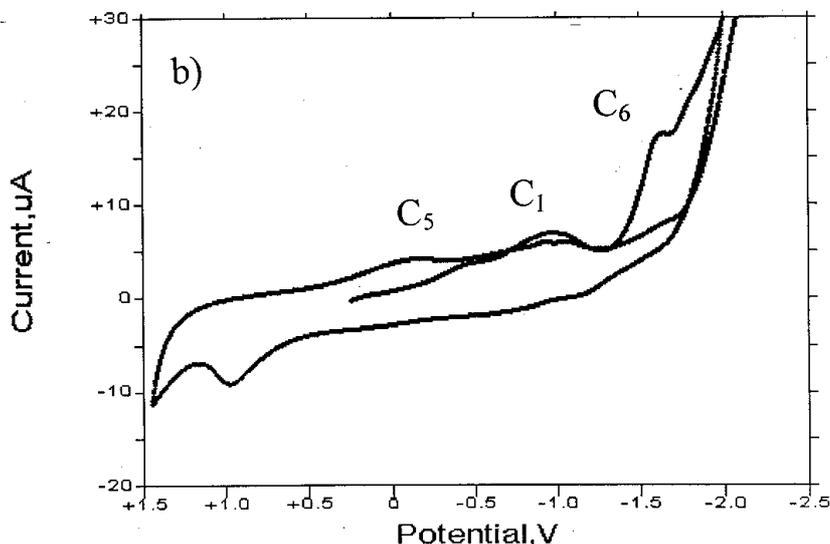


Figura VI.16: Voltametría cíclica (electrodo de Pt) de una disolución de 2.16 mM de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ en CH_3CN más 0.86 mM de **L2** (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Velocidad de barrido de potencial 100 mV/s .

Por ello, se buscó mayor sensibilidad y resolución utilizando la SQWV. Así, el ligando **L2** libre presenta dos picos aislados al registrar el voltagrama bajo estas nuevas condiciones (fig. VI.17).

Al adicionar Cd^{2+} , aparecieron dos picos adicionales, C_5 y C_6 , a -0.49 V y -1.64 V respectivamente (fig. VI.18). El pico C_1 se resolvía ahora en dos picos solapados a -0.92 V y -1.03 V .

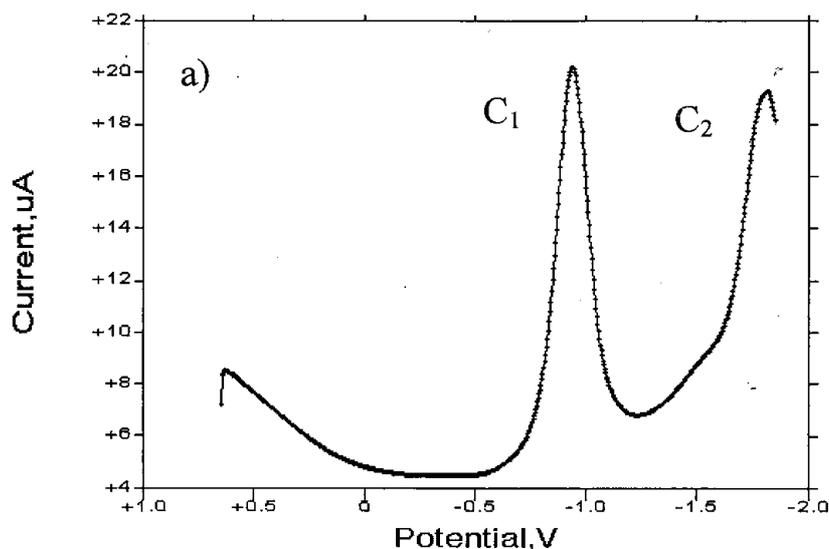


Figura VI.17: SQWVs (electrodo de Pt) de una disolución de 0.48 mM de L2 en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Paso del incremento de potencial 4 mV, amplitud de onda cuadrada 25 mV, frecuencia 15 Hz.

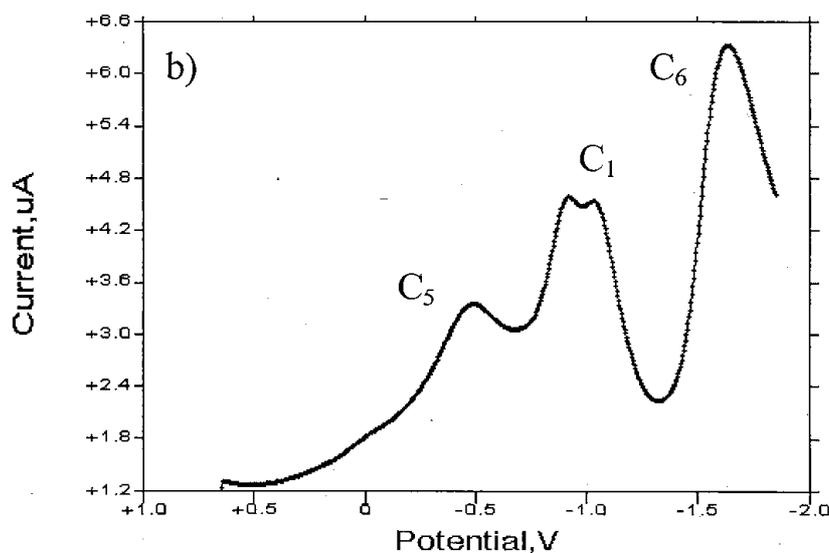
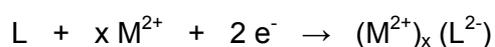


Figura VI.18: SQWVs (electrodo de Pt) de una disolución de 2.16 nM de Cd^{2+} más 1.69 mM de L2 en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Paso del incremento de potencial 4 mV, amplitud de onda cuadrada 25 mV, frecuencia 15 Hz.

El proceso C_5 podría signarse a la reducción por dos electrones del ligando complejoado:



Del mismo modo, el proceso de electrodo C6 correspondería a la reducción del metal complejoado:



Como era de esperar en la reducción de iones metálicos que forman depósitos, este proceso tenía lugar a valores de potencial mucho más negativos que aquel determinado para la reducción de Cd^{2+} libre.

En presencia de Zn^{2+} , se obtuvo una respuesta muy similar. En SQWV, el Zn^{2+} presentaba un pico de reducción a -1.33 V (C_7) (fig. VI.19).

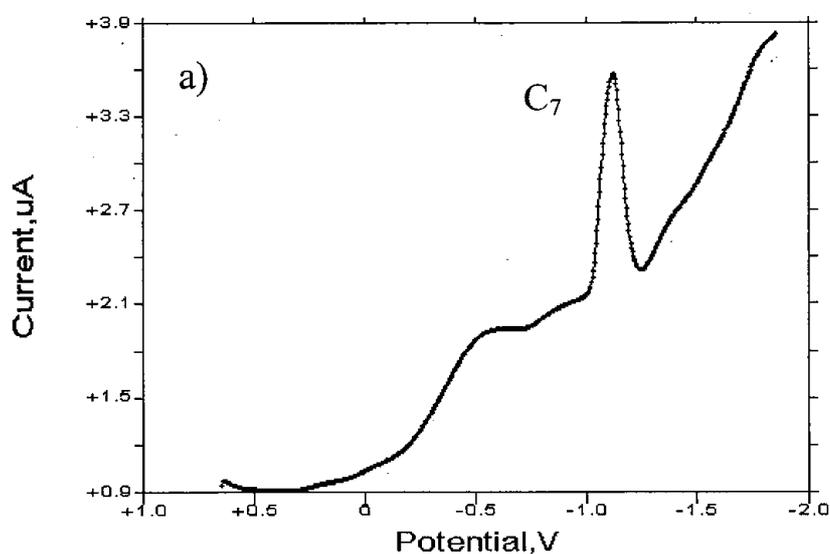


Figura VI.19: SQWVs (electrodo de Pt) de una disolución de 2.26 nM de Zn^{2+} en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Paso del incremento de potencial 4 mV, amplitud de onda cuadrada 25 mV, frecuencia 15 Hz

Al adicionar cantidades crecientes de **L2**, el perfil voltamétrico empezó a asemejarse al del obtenido para el caso del Cd^{2+} / **L2**, con un pico a -0.45 V (C_5) y dos picos solapados a -0.95 V y -1.03V (C_1) (fig. VI.20).

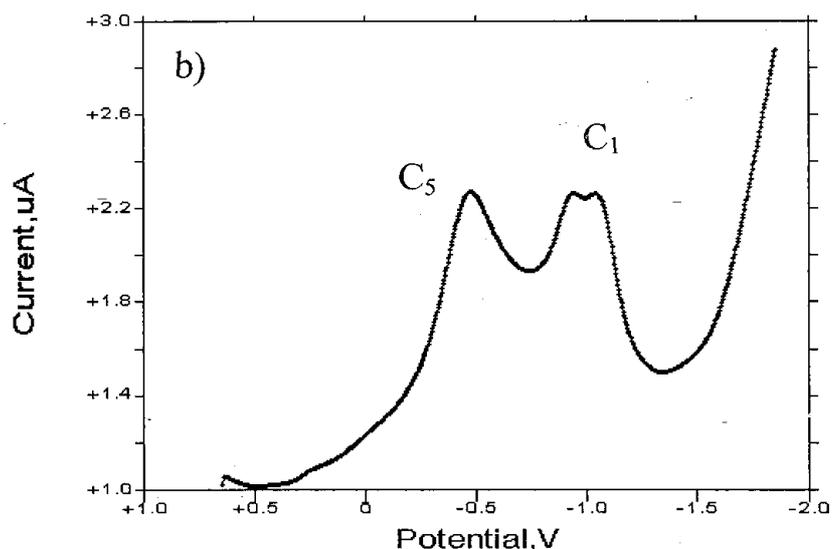


Figura VI.20: SQWVs (electrodo de Pt) de una disolución de 2.26 nM de Zn^{2+} más 1.01 mM de **L2** en CH_3CN (en presencia de 0.10 M Bu_4NPF_6). Paso del incremento de potencial 4 mV, amplitud de onda cuadrada 25 mV, frecuencia 15 Hz

Como era de esperar, la reducción del Zn^{2+} complejoado a Zn^0 , se dio a potenciales mucho más negativos que los que se observaban para el Zn^{2+} libre. En el perfil voltamétrico de SQWV no se llegó a observar este pico (C_6).

En estas condiciones, se pudieron utilizar los datos de corriente de pico para determinar la estequiometría y la constante de formación de los complejos que formaba el Cd^{2+} y Zn^{2+} con **L2** utilizando el método de ajuste a la ecuación estequiométrica (ver apéndice B, página 254).

Para ello, se tomó el valor de las corrientes de pico en el proceso C_5 de una disolución con una concentración constante de M^{2+} a la que se le fueron añadiendo concentraciones crecientes de **L2**.

Los resultados concluyeron que el complejo metal:ligando adquiriría una estequiometría 2:1, con unas constantes de formación de $(2.8 \pm 0.2) \times 10^7$ y $(4.1 \pm 0.4) \times 10^6$ ($mol \cdot dm^{-3}$)⁻² para $Cd_2^{2+} \cdot L_2$ y $Zn_2^{2+} \cdot L_2$ respectivamente.

Esta estequiometría, determinada mediante la información contenida en el proceso de reducción C_5 , debería corresponder al complejo formado entre el metal M^{2+} y el receptor reducido, en forma de dianión, es decir **L2**⁻. Así, la reducción de la subunidad bifenólica generaría una estructura plana, en la que los anillos se encontrarían en el mismo plano para favorecer una deslocalización electrónica máxima y las coronas se verían abocadas a permanecer lo más alejadas posibles para minimizar los efectos estéricos que se produciría en una confirmación de esta naturaleza. De este modo, no se podría formar complejos de tipo sándwich y en cada una de las coronas se coordinaría un ión metálico. El ciclo electroquímico está descrito en la figura VI.21.

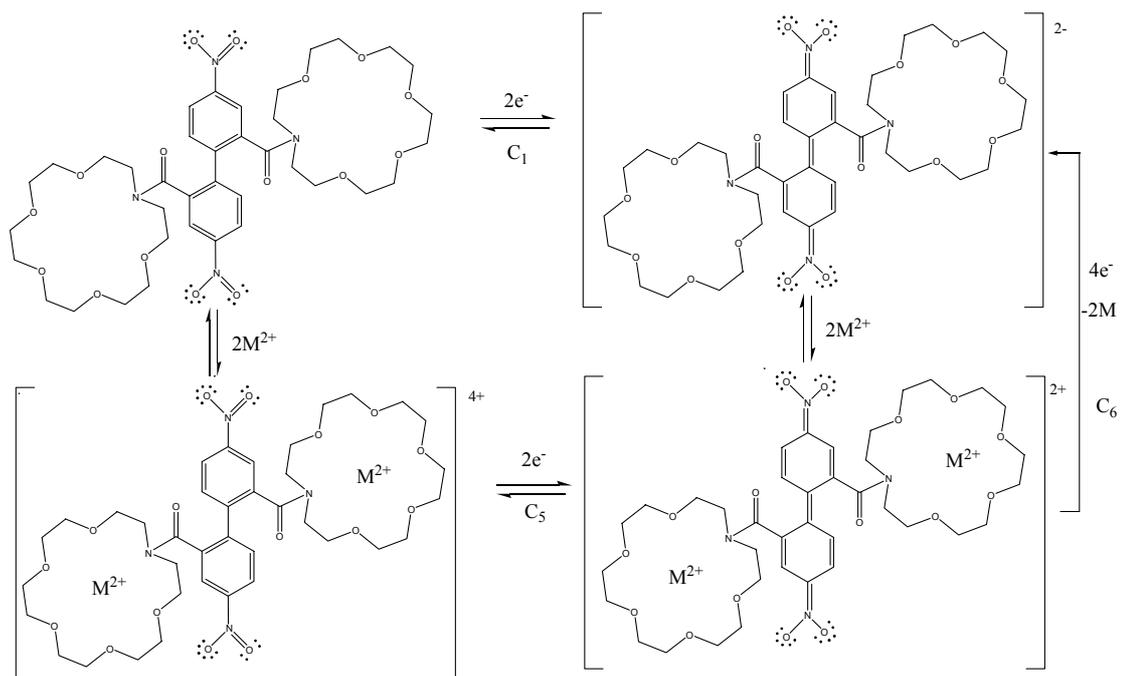
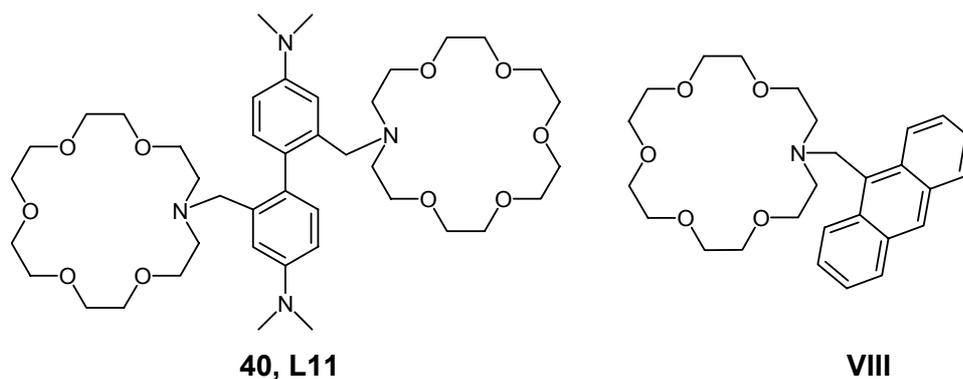


Figura VI.20: Ciclo electroquímico de complejación de Zn^{2+} y Cd^{2+} por L2

CAPÍTULO VII

Reconocimiento de Cationes Metálicos por el sensor L11

Una reducción de **27** con $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ dio lugar al compuesto **40** (que denominaremos **L11** en adelante). La similitud estructural de **L11** con el compuesto **VIII**, descrito por de Silva¹⁴ como sensor OFF/ON selectivo a K^+ nos hizo pensar que **L11** tendría posibilidades de ser un buen detector de cationes metálicos. Por ello, se llevaron a cabo experimentos con cationes de metales alcalinos, alcalinotérreos y de transición, obteniéndose los resultados que se resumen en este capítulo, además comprobaremos que sus propiedades difieren de los descritos en la bibliografía para el producto **VIII**.



¹⁴ A.P. de Silva, S.A. de Silva, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 1709.

VII.1. CARACTERÍSTICAS FOTOFÍSICAS DE L11 Y EFECTO DE LA PROTONACIÓN

Se estudiaron las propiedades fotofísicas de **L11** (tabla VII.1) y, como era lógico, éstas no diferían demasiado de las de los compuestos relacionados descritos en el capítulo V.

Tabla VII.1: Datos para la absorción en el UV y emisión de fluorescencia para los ligandos en CH₃CN

Ligando	Absorción λ_{\max} (nm) ($\epsilon \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)	Emisión λ_{\max} (nm)	Rendimiento Cuántico (ϕ)
TMB	310 (34668)	401	0.13
L12	269 (27781)	360	0.061
L11	270 (42135)	363	0.057
L6	295 (29600)	474	0.08

La emisión de fluorescencia experimenta un acusado desplazamiento hacia el azul con respecto a la **TMB** y mucho más si se compara con su homólogo carbonílico **L6** (fig VII.1).

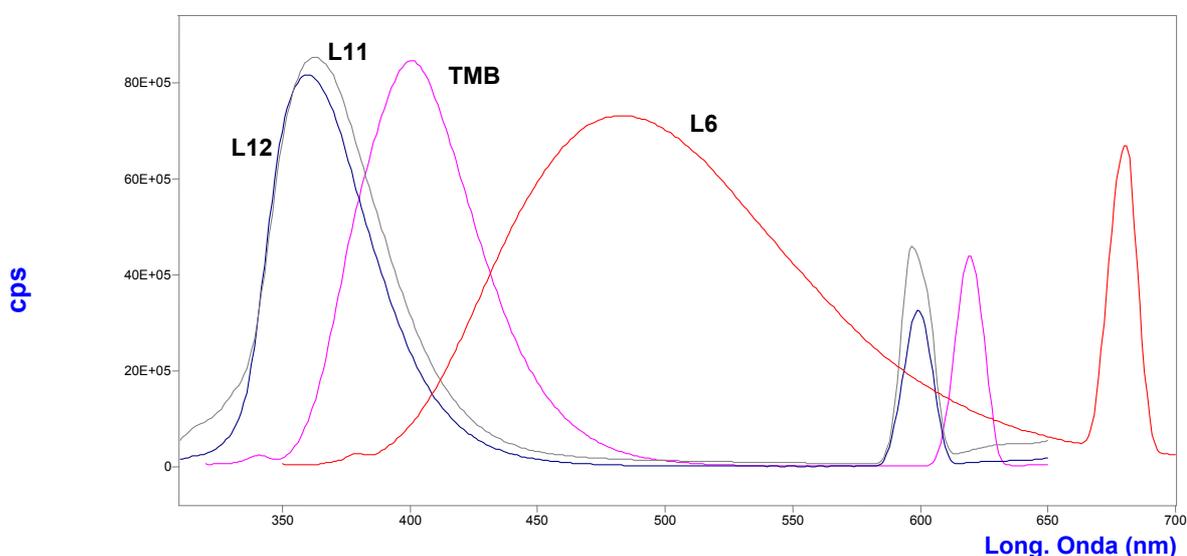


Figura VII.1: Espectros de fluorescencia de **TMB**, **L12**, **L11** y **L6** en CH₃CN a 20°C. $\lambda_{\text{exc}} = 310$ nm, $\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm, $\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm y $\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm respectivamente.

El comportamiento mostrado enseña que el hipotético estado excitado en el cual los anillos de bifenilo fueran coplanares resulta desestabilizado por la presencia de los sustituyentes. De esta forma el estado S_1 está desfavorecido por repulsiones estéricas, con lo que la diferencia energética $S_1 \rightarrow S_0$ se incrementaría con respecto al mostrado por la unidad de **TMB**.

Cuando se estudió la fluorescencia de **L11** bajo diferentes condiciones ácido-base (fig. VII.2), se obtuvieron resultados que seguían el mismo patrón observado para **L12**, **L13**, **L14** y **L15** (fig. VII.3). Así, en acetonitrilo, la presencia de un ácido débil como el ácido cítrico, capaz de protonar los grupos aminos bencílicos induce un amortiguamiento en la fluorescencia por razones análogas a las indicadas en el capítulo V para los ligandos allí estudiados.

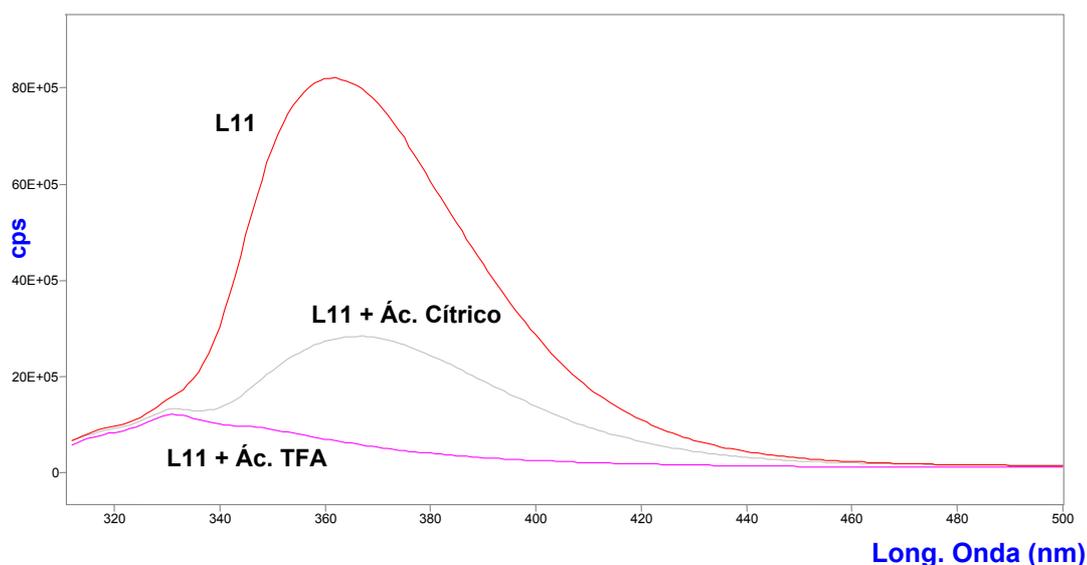


Figura VII.2: Espectro de fluorescencia de **L11** bajo diferentes condiciones ácido-base en CH₃CN a 20 °C, $\lambda_{exc} = 300$ nm y concentración inicial de ligando de 2.30×10^{-6} M en CH₃CN. **L11:** ligando en CH₃CN ó en 2.63×10^{-5} M de hidróxido de tetrametilamonio en CH₃CN. **L11+ Ác. Cítrico:** ligando en 9.54×10^{-6} M de ácido cítrico en CH₃CN. **L11 + Ác. TFA:** ligando en un gran exceso de ácido trifluoroacético en CH₃CN.

Es decir, la protonación de uno de los nitrógenos del azacoronando por el ácido cítrico forzaría la formación de un puente de hidrógeno intramolecular con el nitrógeno de la otra corona, restringiendo así el ángulo diedro del bifenilo y provocando el amortiguamiento de la emisión de fluorescencia.

La adición de TFA al medio protona además los nitrógenos arílicos de manera que la emisión en **L11** muestra el mismo desplazamiento fuerte hacia el azul que experimenta la **TMB** cuando ésta se somete a las mismas condiciones ácidas.

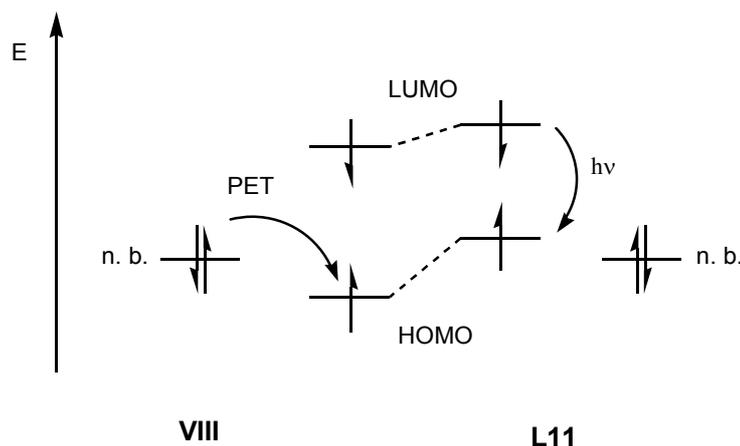


Figura VII.3: Niveles energéticos propuestos para los orbitales moleculares en a) **VIII** y b) **L11**. El par de electrones del nitrógeno bencílico en **L11** no tendrían energía suficiente para amortiguarse por PET como sucede con **VIII**.

VII.2. ESTUDIOS DE COMPLEJACIÓN DE CATIONES POR L11

Los estudios de complejación se llevaron a cabo con una batería de percloratos de metales alcalinos (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+) y alcalinotérreos (Ca^{2+} , Ba^{2+}) y con algunas sales de metales de transición o post-transición (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+}). En los capítulos anteriores se ha visto cómo puede emplearse la valoración de ligando con catión metálico para obtener la estequiometría de los complejos así como para calcular sus constantes de formación. Entre los diversos métodos para analizar los datos obtenidos en estas experiencias en este caso se hizo uso del programa informático SPECFIT¹⁴³. Con este programa se puede generar un modelo de complejación con diferentes estequiometrías y el ajuste de los datos se representa gráficamente. Pero sin duda, una de las ventajas que presenta el software es que modeliza la respuesta de cada una de las especies presentes en el medio a lo largo de la valoración. Así un ajuste bueno del modelo a los datos, nos permite conocer, con alto grado de confianza, el espectro de emisión de cada uno de los complejos.

¹⁴³ SPECFIT/32™ GLOBAL ANALYSIS SYSTEM v.3.0, desarrollado por Spectrum Associates (Marlborough, MA, USA). Disponible en www.bio-logic.info/rapid-kinetics/specfit.html (enlace revisado 24.01.2005).

VII.2.1. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD COMPLEJANTE DE METALES ALCALINOS Y ALCALINO-TÉRREOS POR L11

VII.2.1.1. METALES ALCALINOS

Se realizaron valoraciones en CH_3CN de **L11** con percloratos de Na^+ , K^+ , Cs^+ y Li^+ .

El ajuste de los datos obtenidos para Na^+ , mostró que presentaba una estequiometría 1:2 (L:M), con unas constantes de complejación de $\log K_1 = 5.2 \pm 0.7$ y $\log K_2 = 11.5 \pm 0.2$. La modelización del espectro teórico de los complejos sugería que el complejo 1:1 presentaría un menor rendimiento cuántico que **L11** (fig. VII.4), mientras que para LM_2 era mayor que para el ligando libre.

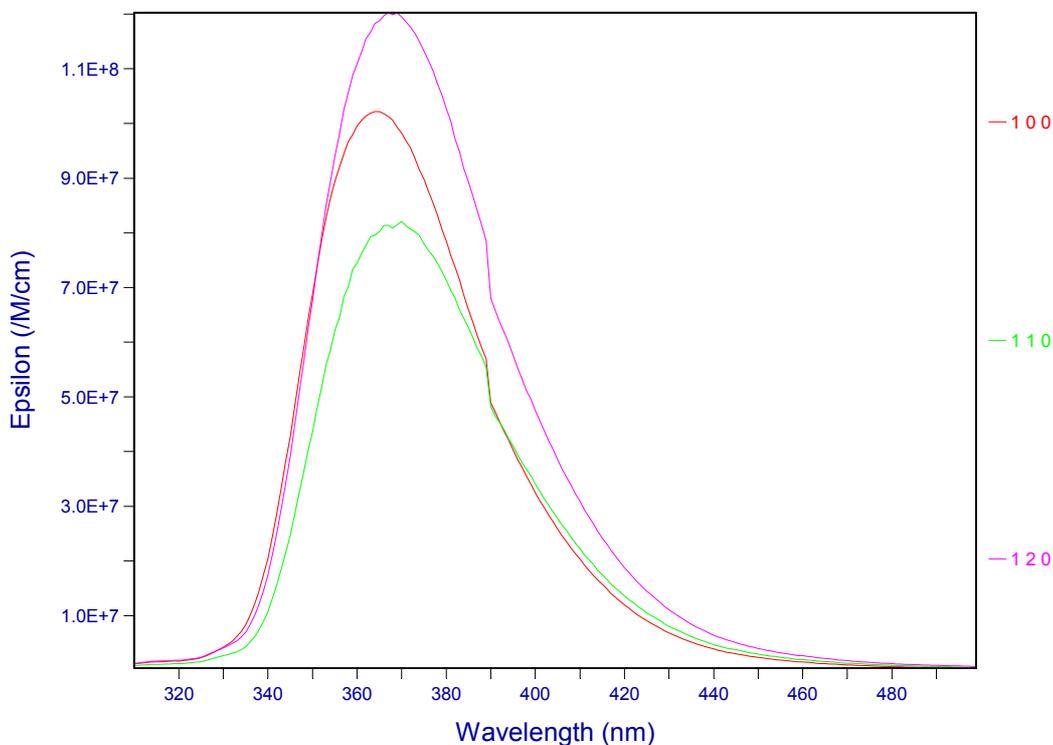


Figura VII.4: Modelo de SPECFIT para la valoración **L11** con Na^+ . Ajuste a estequiometría $\text{LM} + \text{LM}_2$. Simulación de los espectros de emisión de los complejos formados.

Esto nos llevó a proponer un complejo 1:1 de tipo sándwich, que como consecuencia de su valor de ángulo diedro da lugar a fluorescencias menores, seguido de una apertura para obtener el LM_2 . La repulsión entre cargas de cada corona forzaría una mayor coplanaridad entre los anillos fenílicos de la subunidad de **TMB** y ello explicaría el aumento del rendimiento cuántico para esta especie.

Tabla VII.2: Radios iónicos de los cationes citados en este capítulo

Metal	Li ⁺	Na ⁺	K ⁺	Cs ⁺	Ca ²⁺	Ba ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	Cu ²⁺
Radio iónico (Å)	0.60	0.95	1.33	1.69	0.99	1.35	0.74	0.97	0.69

Cuando se ajustaron los datos obtenidos para el K⁺, se observó también una buena correlación con una estequiometría 1:2 (L:M), obteniéndose unas constantes de complejación de $\log K_1 = 7.3 \pm 0.5$ y $\log K_2 = 12.0 \pm 0.6$, lo que nos conduce a proponer una estructura abierta con el catión K⁺ en una cavidad y con un ángulo diedro análogo al del ligando libre. El complejo LM₂ con un valor de ϕ mucho mayor que L11 ponía de manifiesto las repulsiones electrostáticas entre los dos K⁺ coordinados en las coronas y la clara modificación del ángulo diedro hacia la coplanaridad.

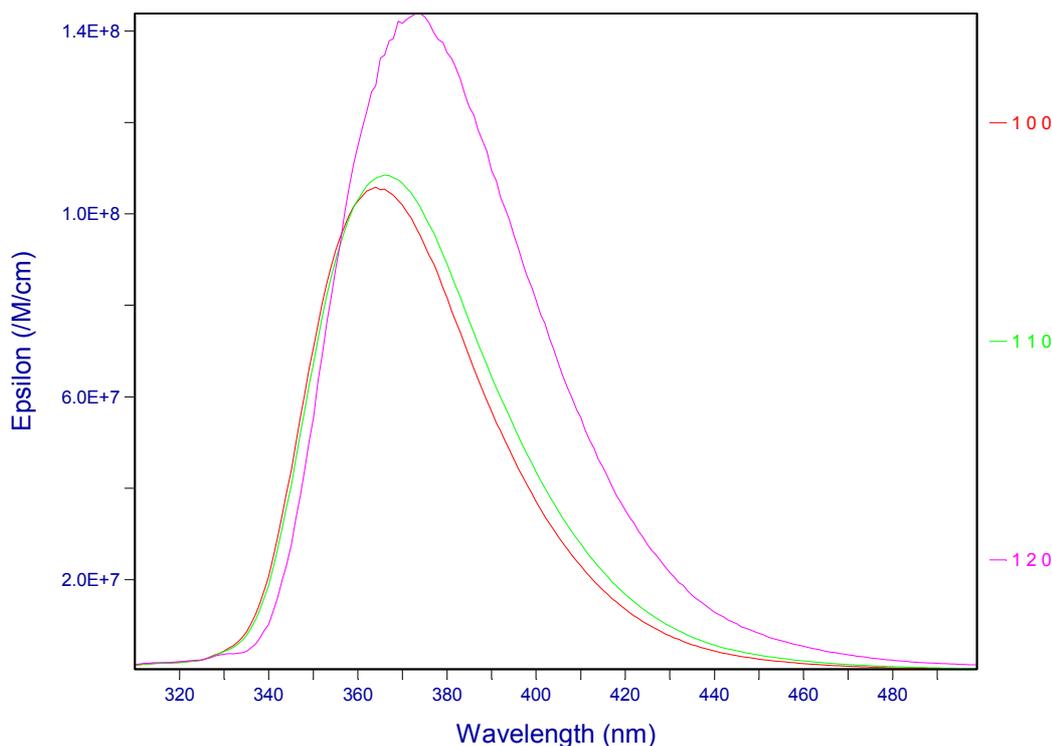


Figura VII.5: Modelo de SPECFIT para la valoración L11 con K⁺. Ajuste a estequiometría LM + LM₂. Simulación de los espectros de emisión de los complejos formados.

El catión K⁺ (1.33 Å) (tabla VII.2) presenta un tamaño adecuado para encajar perfectamente dentro del coronando y así interactuar adecuadamente con los 6 oxígenos. El Na⁺ (0.95 Å) es demasiado pequeño y pese a caber, no interactúa bien con todos los oxígenos del éter. En nuestro caso, el tamaño del 1-aza-18-corona-6 es similar al del 18-corona-6 y por tanto se puede pensar que el complejo 1:1 de L11 con

Na^+ presente una estructura cerrada tipo sándwich. La falta de coordinación del Na^+ con todos los oxígenos de una corona se vería compensada por la coordinación con oxígenos de la otra corona. Así el ángulo diedro de la subunidad de **TMB** tiende hacia la perpendicularidad y el rendimiento cuántico se reduciría, tal como el modelo propone.

Cuando se ajustaron informáticamente los datos obtenidos con el Cs^+ , el modelo más adecuado resultó ser el 1:1, con una constante de $\log K_1 = 7.3 \pm 0.9$. La emisión modelizada para el complejo **L11**· Cs^+ era ligeramente inferior a la del ligando libre. El Cs^+ es un catión demasiado grande para caber en la corona y por esa razón, no se obtendría el complejo **L11**· Cs^+_2 . Por este mismo razonamiento, se propuso un complejo de tipo sándwich. El tamaño del Cs^+ permitiría que para formar este complejo las coronas no tuvieran que aproximarse tanto como para modificar de ángulo diedro de la subunidad de **TMB**, de esta forma la emisión de fluorescencia podría mantenerse en valores parecidos al **L11** libre.

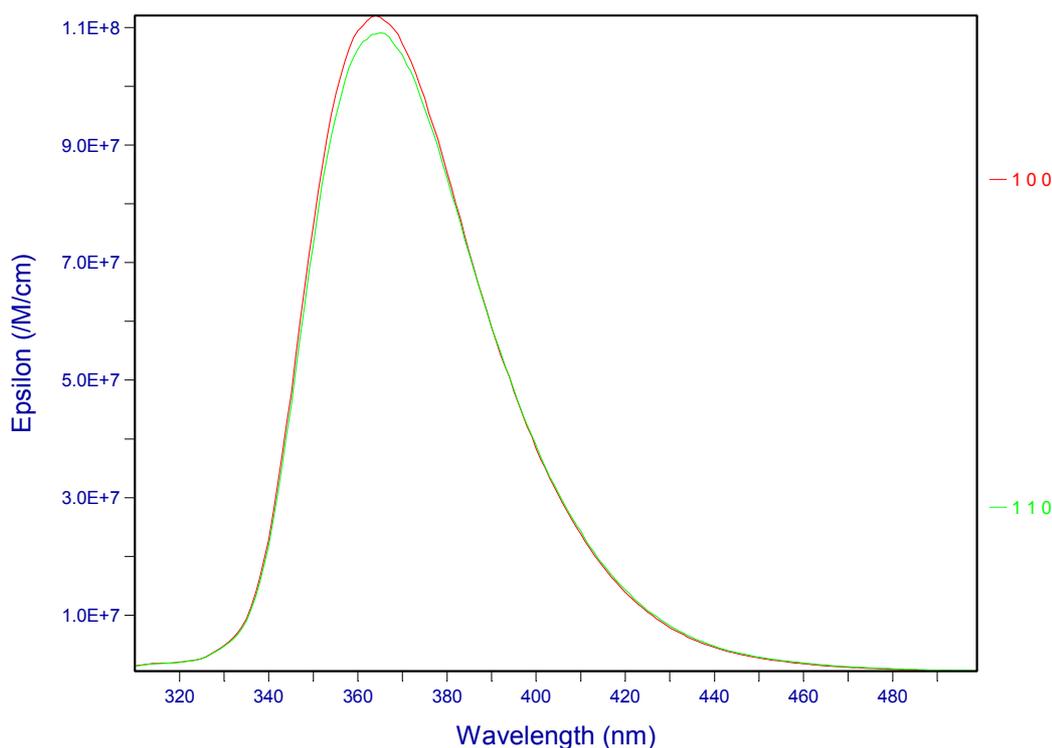


Figura VII.6: Modelo de SPECFIT para la valoración **L11** con Cs^+ . Ajuste a estequiometría LM. Simulación de los espectros de emisión de los complejos formados.

Tabla VII.3: Estequiometría, topología del complejo y constantes de complejación para los complejos de **L11** con metales alcalinos y alcalinotérreos en CH_3CN , 298 K. (n.c = constante no calculada).

Catión	Esteq. (L:M)	$\log K_1$	geometría	$\log K_2$	geometría
Na^+	1:1 + 1:2	5.2 ± 0.7	sándwich	11.5 ± 0.2	abierta
K^+	1:1 + 1:2	7.3 ± 0.5	abierta	12.0 ± 0.6	abierta
Cs^+	1:1	7.3 ± 0.9	sándwich	-	-
Ca^{2+}	1:1 + 1:2	7.3 ± 0.2	sándwich	12.0 ± 0.5	abierta
Ba^{2+}	1:1 + 1:2	n. c.	abierta	n. c.	abierta

En el caso del Li^+ , no se obtuvieron suficientes datos para emplear el tratamiento SPECFIT. La adición del catión sobre **L11** produjo un ligero amortiguamiento de la fluorescencia. Probablemente debido a un complejo (1:1 o de estequiometrías superiores). En estos complejos el Li^+ se rodearía de 4 oxígenos de una misma corona. El Li^+ es extremadamente ávido de coordinar con oxígenos por su dureza pero demasiado pequeño para rodearse de muchos ligandos (fig. VII.7).

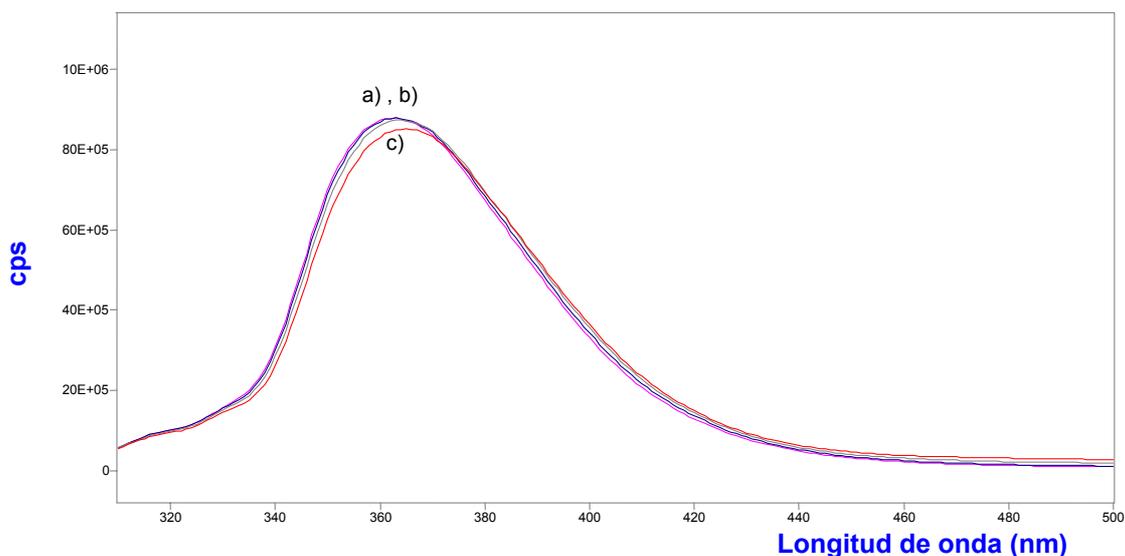


Figura VII.7: Espectros de emisión de fluorescencia en la valoración de **L11** con Li^+ en CH_3CN , 298 K y $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$. La concentración inicial de **L11** fue de $2.53 \times 10^{-6} \text{ M}$. Se adicionaron a) 0, b) 1.69 y c) 10.14 equivalentes de Li^+ respectivamente.

Finalmente se decidió hacer pruebas de selectividad hacia un catión en presencia de otros. Así se llevaron a cabo pruebas de competitividad Na^+/Cs^+ y K^+/Cs^+ . En ambos casos, se observaron incrementos en la fluorescencia que indicaban la formación de complejos de tipo LM_2 con Na^+ y K^+ , como era de esperar del análisis de las constantes de complejación (fig. VII.8).

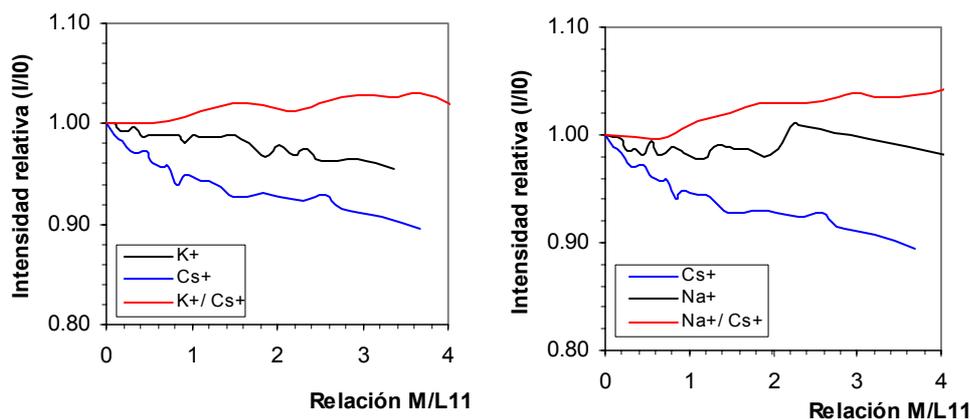


Figura VII.8: Experiencias de competitividad entre K^+ / Cs^+ (izquierda) y Na^+ / Cs^+ (izquierda). Los experimentos fueron realizados en CH_3CN , a 298 K y $\lambda_{exc} = 300$ nm. La concentración inicial de **L11** fue aproximadamente 2.5×10^{-6} M en todos los casos. Sobre el ligando se fueron adicionando sucesivas alícuotas de una mezcla equimolecular de K^+/Cs^+ o Na^+/Cs^+ según el caso. La magnitud representada (intensidad relativa) se refiere a la intensidad en cada punto dividida por la intensidad al inicio de la valoración.

VII.2.1.2. METALES ALCALINO-TÉRREOS

También se realizó el estudio de **L11** con Ca^{2+} y Ba^{2+} utilizando el mismo *modus operandi*.

La valoración con Ca^{2+} , dio unas emisiones de fluorescencia que se ajustaron al modelo de complejación con estequiometría LM_2 . Aunque el ajuste no fue tan bueno como en los casos anteriores consideramos que este modelo era el adecuado por varias razones. Así, el comportamiento del Ca^{2+} era semejante al del Na^+ (ambos cationes tienen radios similares) para el complejo 1:1 y el incremento de la fluorescencia era muchísimo más acusado para el $L11 \cdot Ca^{2+}_2$, probablemente debido a una mayor coplanaridad inducida por una mayor repulsión entre las coronas, puesto que ahora la carga total se duplicaba.

Así, tendríamos un complejo 1:1 de tipo sándwich que presentaría un pequeño amortiguamiento de la fluorescencia con un $\log K_1 = 7.3 \pm 0.2$ y un complejo de tipo LM_2 abierto con una constante de $\log K_2 = 12.0 \pm 0.5$, como se ha dicho, un comportamiento muy semejante al del Na^+ .

Con Ba^{2+} , al igual que ocurría con Li^+ , no se tuvieron suficientes datos para hacer un ajuste fiable a un modelo con SPECFIT. Pero se observó un comportamiento semejante al del Ca^{2+} y al del K^+ , un incremento tras la adición de metal (fig. VII.9).

El Ba^{2+} cuenta con un radio parecido al del K^+ y una carga igual a la del Ca^{2+} . Así el complejo 1:1 podría ser abierto como para el K^+ y el $\text{L11}\cdot\text{Ba}^{2+}_2$ presentaría una repulsión entre coronas similar a la del Ca^{2+} .

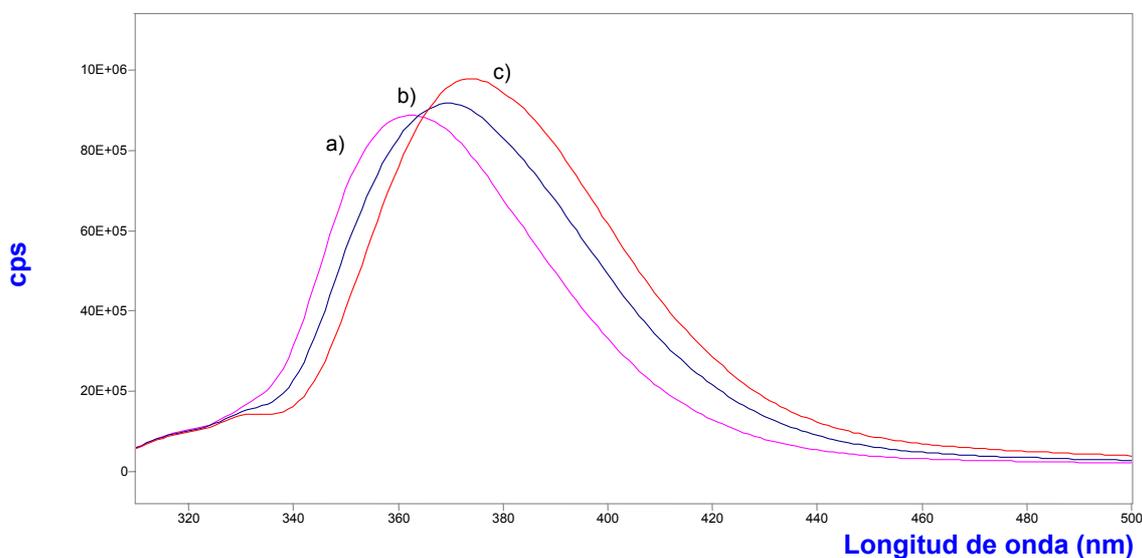


Figura VII.9: Espectros de emisión de fluorescencia en la valoración de **L11** con Ba^{2+} en CH_3CN , 298 K y $\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm. La concentración inicial de **L11** fue de 2.56×10^{-6} M. Se adicionaron a) 0, b) 1.67 y c) 10.1 equivalentes de Ba^{2+} respectivamente.

Los experimentos de competitividad entre $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ y $\text{K}^+ / \text{Ca}^{2+}$ no fueron concluyentes.

VII.2.2. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD COMPLEJANTE DE METALES DE TRANSICIÓN Y POST-TRANSICIÓN POR L11

Los últimos experimentos que se realizaron con **L11** fueron encaminados a tratar de determinar cómo se comportaba el ligando frente a Zn^{2+} , Cd^{2+} y Cu^{2+} en CH_3CN . Como ya se explicó en el capítulo VI, el Zn^{2+} es un catión muy importante por su implicación en procesos biológicos, mientras que el Cd^{2+} es un catión muy tóxico por su mimetismo con el Zn^{2+} .

Cuando se trataron los datos de la valoración de **L11** con Zn^{2+} en SPECFIT, éstos se ajustaron al modelo de estequiometría 1:2 (L:M).

Las constantes de complejación fueron $\log K_1 = 9.8 \pm 0.1$ y $\log K_2 = 17.8 \pm 0.2$ (tabla VII.4). Pero lo sorprendente fue el análisis de los espectros teóricos correspondientes a cada una de las especies. Así, el complejo L:M (1:1) presentaba un amortiguamiento de ϕ muy parecido al que se tenía para Na^+ o para Cs^+ (1:1) (fig. VII.10). Esto indicaba la formación de un complejo de tipo sándwich, razonamiento

nada extraño atendiendo al pequeño tamaño del Zn^{2+} (0.74 Å). Sin embargo, el espectro atribuido a LM_2 era sorprendente, puesto que apenas era fluorescente.

Tabla VII.4: Estequiometría, topología del complejo y constantes de complejación para los complejos de L11 con Zn^{2+} y Cd^{2+} en CH_3CN , 298 K.

Catión	Esteq. (L:M)	log k_1	geometría	log k_2	geometría
Zn^{2+}	1:1 + 1:2	9.8 ± 0.1	sándwich	17.8 ± 0.2	abierta*
Cd^{2+}	1:1 + 1:2	7.4 ± 0.2	sándwich	14.2 ± 0.2	abierta*

(*: el metal compleja con oxígenos de la corona y el nitrógeno del grupo dimetilamino)

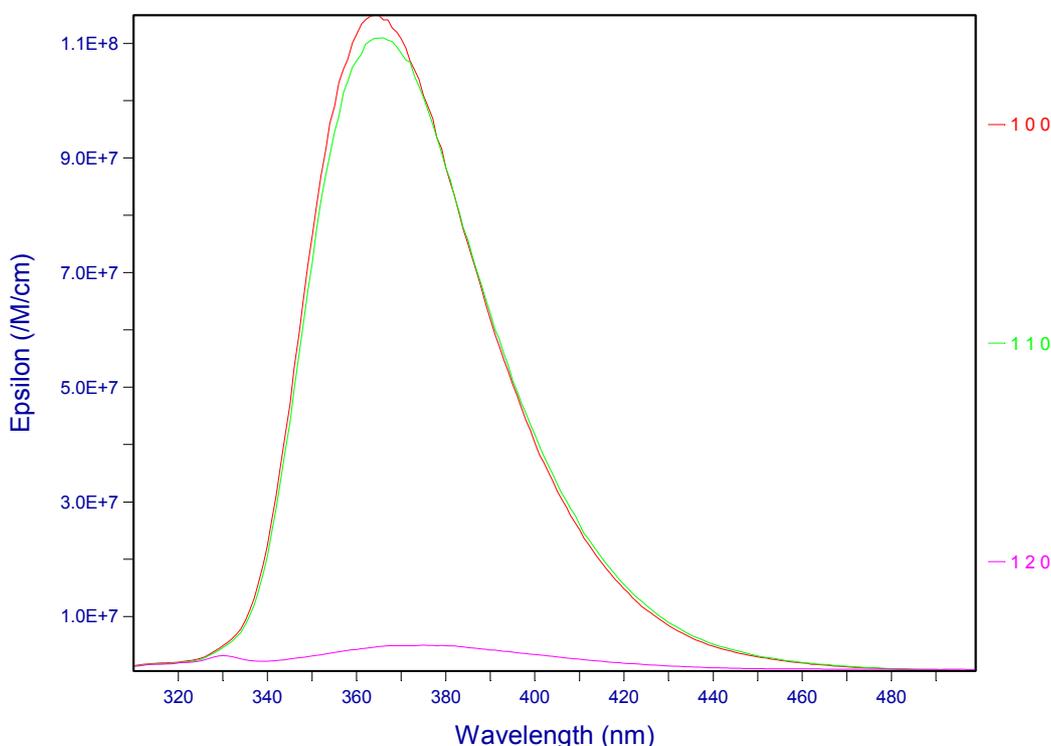


Figura VII.10: Modelo de SPECFIT para la valoración L11 con Zn^{2+} . Ajuste a estequiometría LM + LM_2 . Simulación de los espectros de emisión de los complejos formados.

Una posible explicación podría ser la siguiente. El Zn^{2+} sería demasiado pequeño para ajustar bien con una corona, y además, preferiría complejar con nitrógeno por ser éste más blando que el oxígeno. Así, cuando el complejo fuese 1:1, éste podría ser de tipo sándwich implicando posiblemente al nitrógeno bencílico de una o ambas coronas. Al incrementar la cantidad de Zn^{2+} , la evolución hacia el complejo 1:2 (L:M) impide la formación del sándwich y el catión se aproxima al nitrógeno del dimetilamino de la subunidad de **TMB** para completar su esfera de coordinación junto con los oxígenos de la corona más alejados al nitrógeno bencílico. De este modo, el nitrógeno bencílico

recuperaría su par de electrones solitario. Esta complejación con el grupo dimetilamino desligaría a este último de su contribución al sistema aromático del bifenilo.

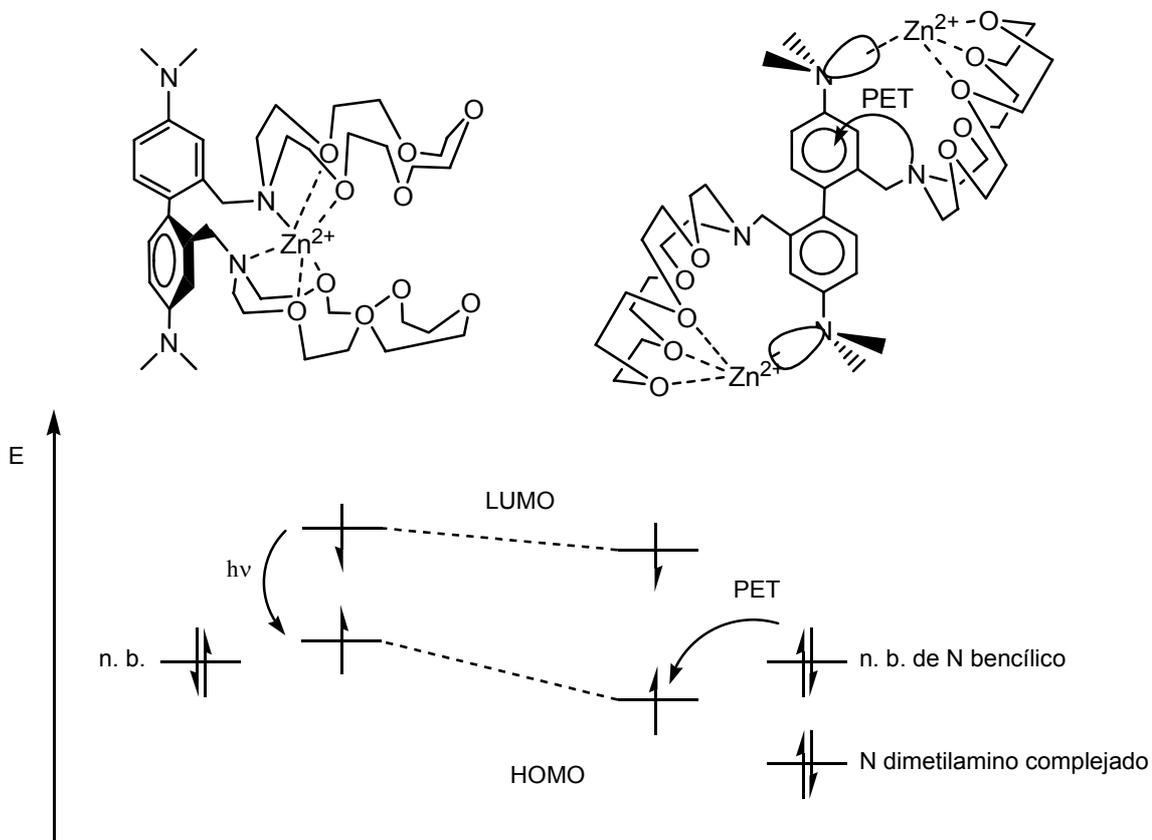


Figura VII.11: Estructura y niveles electrónicos propuestos para el complejo $L11 \cdot 2Zn^{2+}$.

Así pues, la energía del HOMO se rebajaría hasta coincidir con los niveles energéticos habituales para un hidrocarburo aromático no conjugado con heteroátomo. Ahora los electrones del nitrógeno bencílico, que estaría libre de la formación del complejo, sí que tendrían energía adecuada para amortiguar la fluorescencia vía PET como ocurría en **VIII**. Por esto, se tendría este complejo 1:2 (L:M) con tan escasa emisión de fluorescencia (fig. VII.11).

Esta misma situación se tiene para el Cd^{2+} , que posee un radio de 0.97 Å, parecido al del Na^+ . Por la misma razón, un complejo 1:2 (L:M) necesitaría la asistencia del nitrógeno del grupo dimetilamino ante la imposibilidad de formar el complejo de tipo sándwich. Las constantes halladas para el Cd^{2+} fueron $\log K_1 = 7.4 \pm 0.2$ y $\log K_2 = 14.2 \pm 0.2$ (fig. VII.12).

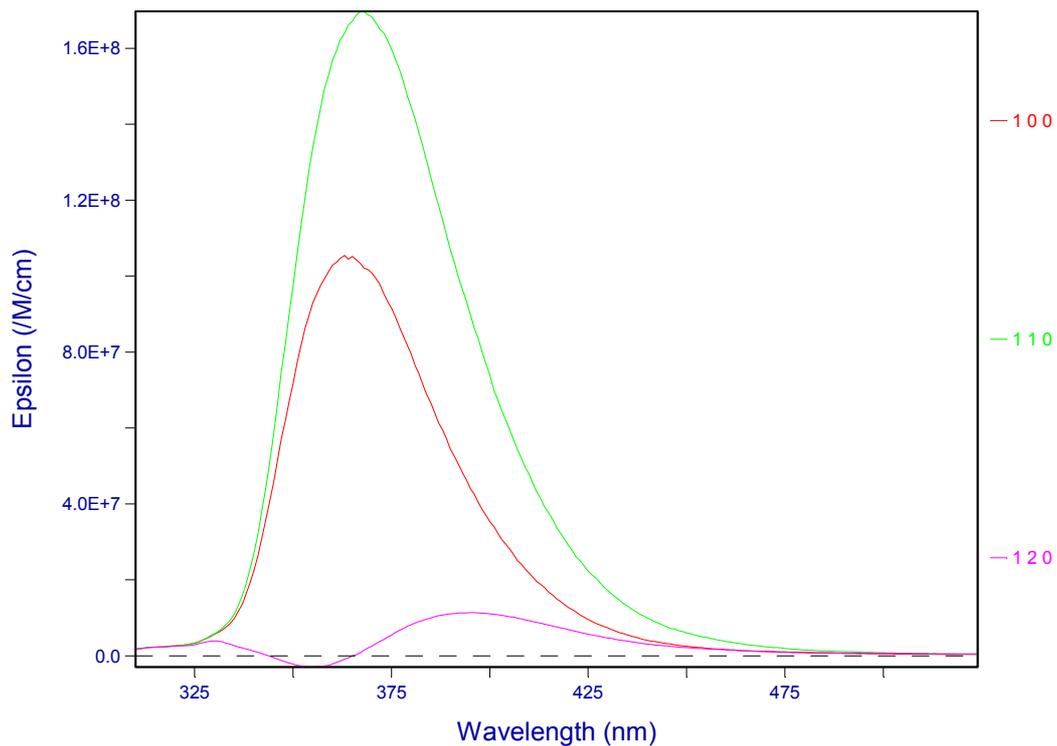


Figura VII.12: Modelo de SPECFIT para la valoración **L11** con Cd^{2+} . Ajuste a estequiometría $\text{LM} + \text{LM}_2$. Simulación de los espectros de emisión de los complejos formados.

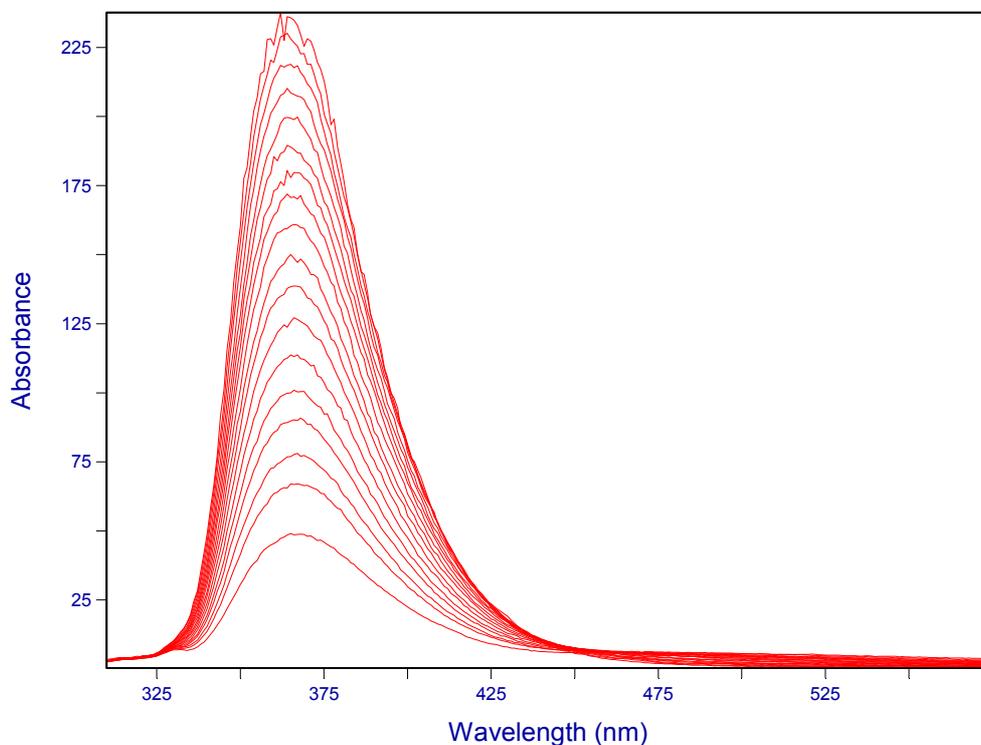


Figura VII.13: Espectros de emisión de fluorescencia en la valoración de **L11** con Cu^{2+} en CH_3CN , 298 K. La concentración inicial de **L11** fue de 2.15×10^{-6} M. Se adicionaron de 0 a 5.46 equivalentes de Cu^{2+} . No se pudo ajustar a ningún modelo con SPECFIT.

L11 con Cu^{2+} dio un amortiguamiento monótono de la fluorescencia, junto a la aparición de una banda emergente a $\lambda = 525 \text{ nm}$ ya observada para otros miembros de su familia (**L12**, **L13**, **L14** y **L15**, capítulo V) que podría deberse a un excíplejo o al excímero de algún complejo formado. Los intentos de ajuste a un modelo con SPECFIT no tuvieron éxito (probadas todas las combinaciones posibles desde 2:1 hasta 1:4, L:M) (fig. VII.13). Este mismo resultado se obtuvo en la valoración **TMB** con Cu^{2+} . El Cu^{2+} se puede unir a cualquiera de los nitrógenos de la **TMB** y dar amortiguamiento por transferencia de energía del fluoróforo al metal o incluso por colisión sin unión previa con la **TMB**. Así pues, no es un resultado relevante el hecho de obtener este decrecimiento monótono de la fluorescencia

Por último, se hizo un estudio preliminar de complejación de **L11** frente a Zn^{2+} y Cd^{2+} en agua. A pH neutro, **L11** no presenta a penas fluorescencia, posiblemente debido a los puentes de hidrógeno intramoleculares ya citados.

Cuando se añade una base se produce la desprotonación y con ello la restauración de la fluorescencia. Si en estas condiciones se añade un exceso de Zn^{2+} (7 equivalentes) el resultado es un ligero amortiguamiento apenas significativo (fig. VII.14). Estos resultados no varían con el tiempo ya que tras dos horas de espera, se registró de nuevo el espectro de la disolución y el resultado fue superponible al anterior.

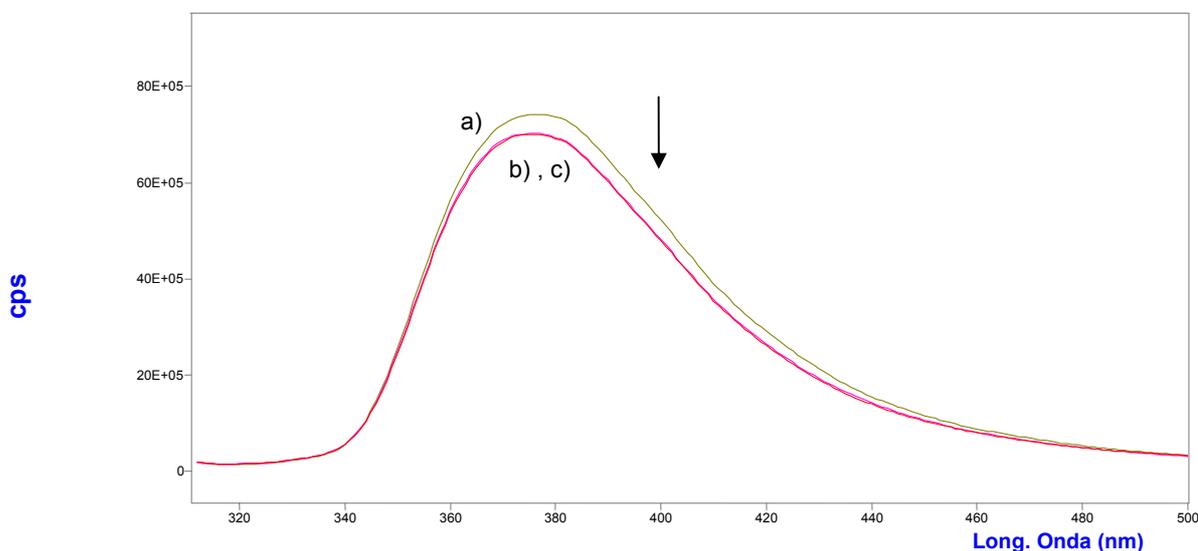


Figura VII.14: a) Espectro de fluorescencia de **L11** en agua a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$; b) **L11** en presencia de aprox. 7 equivalentes de $\text{Zn}(\text{tf})_2$. c) misma muestra que en b transcurridas 2 horas.

El mismo experimento llevado a cabo con Cd^{2+} produjeron también un pequeño amortiguamiento, si bien, tras dos horas de adición, el espectro de emisión obtenido reflejaba una notable variación (amortiguamiento) con respecto al anterior (fig. VII.15).

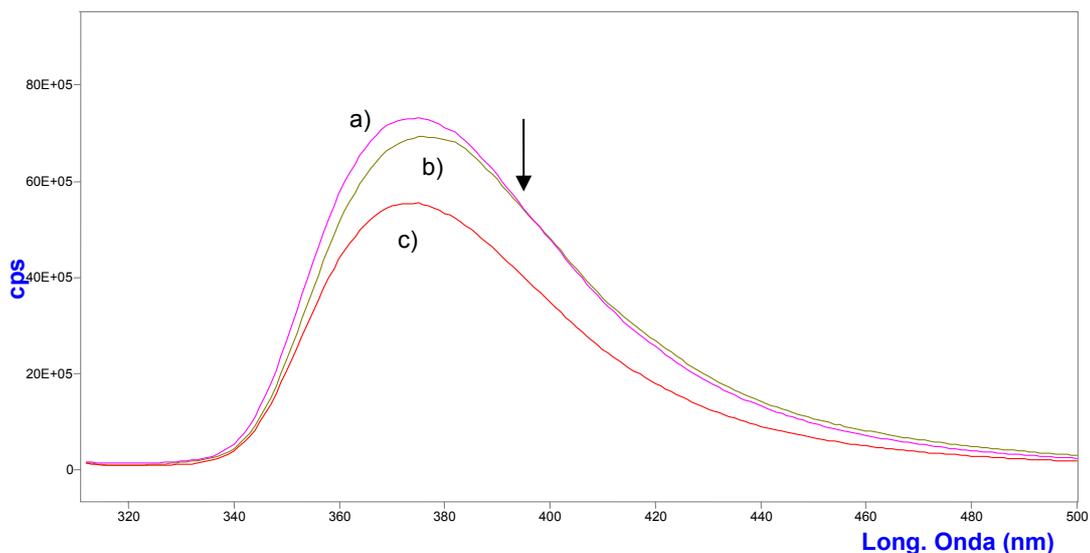


Figura VII.15: a) Espectro de fluorescencia de L11 en agua a 20 °C, $\lambda_{exc} = 300$ nm; b) L11 en presencia de aprox. 7 equivalentes de Cd (tf)₂. c) misma muestra que en b transcurridas 2 horas.

Así, las experiencias en agua pusieron de manifiesto dos hechos: las constantes de complejación son menores que en CH₃CN, y además existen problemas cinéticos a tener en cuenta.

En este sentido y dada la aplicabilidad que podría tener este tipo de compuestos en la detección de metales tóxicos en agua, sería necesario la optimización del sistema.

CAPÍTULO VIII

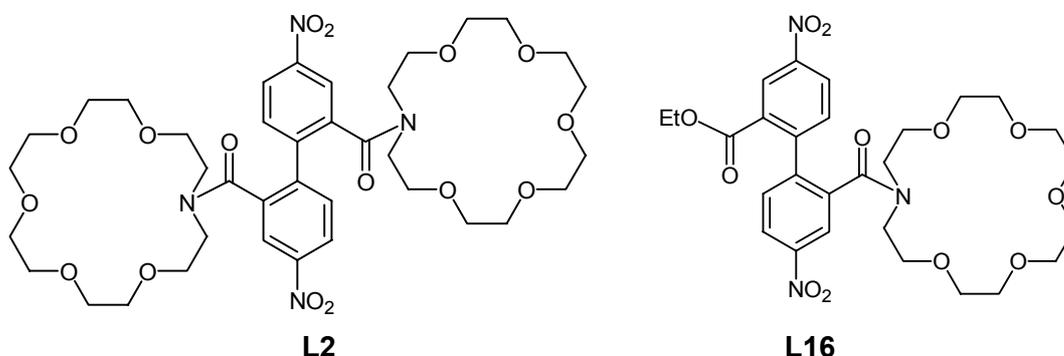
Estudios de Extracción y Transporte con L2

En el capítulo I se ha puesto de manifiesto la importancia de los procesos de extracción y transporte dentro de la Química Supramolecular.

En la bibliografía se pueden encontrar numerosos ejemplos de moléculas de tipo éter corona que han resultado ser eficientes transportadores en fenómenos de translocación a través de membrana⁹⁸.

El ligando **L2** contiene dos unidades de este tipo, próximas entre sí y con posibilidad de interacción sobre un mismo sustrato, por lo que se pensó que tal vez, la presencia de esta segunda corona en la molécula podría favorecer la eficiencia del transporte de cationes de metales alcalinos y alcalinotérreos.

Para determinar el alcance de esta influencia, se realizó un estudio comparativo con el ligando **L16**, sintetizado por nuestro grupo¹⁴⁴, cuya estructura recuerda a la de **L2** pero que tan sólo cuenta con una corona.



⁹⁸ J.D. Lamb, J.J. Christensen, J.L. Oscarson, B.L. Nielsen, B.W. Asay, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6820.

¹⁴⁴ S.M. Peransi-Llopis, *Memoria de Investigación*, 2003.

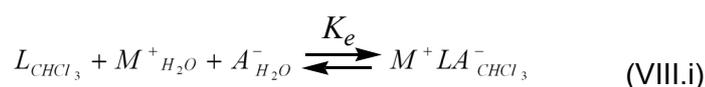
VIII.1. EXPERIMENTOS DE EXTRACCIÓN

La determinación de la capacidad de extracción de un ligando se puede relacionar con la constante de extracción. Para su determinación Cram ideó en 1977 un experimento simple y útil.

El método se basaba en el uso de un ligando insoluble en agua pero muy soluble en cloroformo y de un huésped muy soluble en agua y poco soluble en cloroformo, normalmente un catión metálico.

Así, si juntaba una disolución de ligando en CHCl_3 con una disolución de catión metálico en agua y agitaba, dependiendo de la fuerza de interacción ligando-catión, el catión pasaría a encontrarse retenido en la fase de CHCl_3 en mayor o menor medida. Por esta razón los llamó experimentos de extracción, puesto que literalmente el ligando arrancaba al catión de la fase acuosa para mantenerlo inmovilizado en una fase en la que sin su presencia, el catión estaría completamente inestable.

Para este equilibrio de extracción, se podía plantear una constante (K_e , constante de extracción), que en el caso de cationes monovalentes tiene la expresión^{145,146,147}



$$K_e = \frac{[M^+ LA^-]_{\text{CHCl}_3}}{[L]_{\text{CHCl}_3} [M^+]_{\text{H}_2\text{O}} [A^-]_{\text{H}_2\text{O}}} \quad (\text{VIII.ii})$$

donde

L = ligando

M^+ = catión metálico

A^- = contraión del catión metálico.

Las K_e se pueden calcular fácilmente para cada experimento haciendo uso de las expresiones siguientes (la deducción detallada se incluye en la parte experimental):

$$K_e = \frac{R}{(1-R)Q^2} \quad (\text{VIII.iii}) \quad \text{y} \quad K_e = \frac{R}{(1-R)4Q^3} \quad (\text{VIII.iv})$$

(para cationes monovalentes y divalentes respectivamente), en el que R y Q son dos factores que se definen como:

¹⁴⁵ M. Newcomb, J. M. Timko, D. M. Walba, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6392.

¹⁴⁶ J. M. Timko, S. S. Moore, D. M. Walba, P. Hiberty, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 4207.

¹⁴⁷ S.S. Moore, T.L. Tarnowski, M. Newcomb, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6398.

$$R = \frac{[M^{n+}LA_n^-]_{CHCl_3}}{[L_i]_{CHCl_3}} \quad (\text{VIII.v})$$

$$Q = [M^{n+}A_{ni}^-]_{H_2O} - R \left(\frac{V_{CHCl_3}}{V_{H_2O}} \right) [L_i]_{CHCl_3} \quad (\text{VIII.vi})$$

en el que:

V_{H_2O} = volumen de la fase acuosa

V_{CHCl_3} = volumen de la fase orgánica

$[L_i]_{CHCl_3}$ = concentración inicial de ligando en la fase orgánica

$[M^{n+}A_{ni}^-]_{H_2O}$ = concentración inicial de catión en la fase acuosa

$[M^{n+}LA_n^-]_{CHCl_3}$ = concentración de complejo en la fase orgánica

Es decir, que la única variable desconocida es la concentración de complejo en la fase orgánica ($[M^{n+}LA_n^-]_{CHCl_3}$).

La determinación de $[M^{n+}LA_n^-]_{CHCl_3}$ se puede hacer de diversas maneras, pero Cram se percató de que cuando el ligando era neutro, si se adicionaba una sal metálica, al formarse el complejo, para mantener la electroneutralidad de la muestra, el anión debía seguir al catión complejado, en forma de par iónico, a la fase orgánica. Si introducía un anión fuertemente coloreado, como era el picrato (2,4,6-trinitrofenol, fig. VIII.1) de marcado color amarillo y con un elevado coeficiente de extinción molar (ϵ), podía determinar la cantidad de complejo formado. La medida indirecta de picrato en $CHCl_3$ por espectrofotometría de UV-visible nos proporcionaba la concentración del catión metálico de una manera fácil, común, barata, rápida y que requiere muy poca cantidad de muestra para cada uno de los análisis.

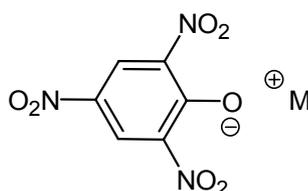
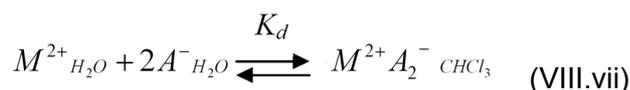


Fig. VIII.1: Picrato de metales alcalinos.

Sin embargo, la naturaleza del anión elegido influye en la constante de asociación puesto que la sal metálica puede incrementar o disminuir, en función de éste, su solubilidad intrínseca en $CHCl_3$. Por ello aparece un nuevo equilibrio, el de reparto de la sal entre las dos fases:



y como se deduce en la parte experimental, el valor de K_d es:

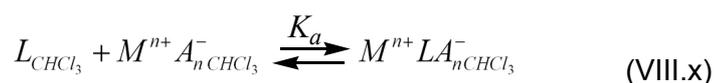
$$K_{d \text{ monovalente}} = \frac{[M^+ A^-]_{CHCl_3}}{[M^+]_{H_2O} [A^-]_{H_2O}} \quad (\text{VIII.viii}); \quad K_{d \text{ divalente}} = \frac{[M^{2+} A_2^-]_{CHCl_3}}{4[M^{2+}]_{H_2O}^3} \quad (\text{VIII.ix})$$

Para sales de cationes monovalentes, el valor de K_d fue tomado directamente de una publicación de Cram.¹⁴⁷ Para las divalentes, se determinaron adaptando las ecuaciones al cambio de estequiometría. Los valores de K_d utilizados en los cálculos de la K_a se encuentran recogidos en la tabla VIII.1.

Tabla VIII.1 : Valores de K_d utilizados en las experiencias de extracción.

Picratos	$K_d (M^{-1})$				$K_d (M^{-2})$	
	Li ⁺	Na ⁺	K ⁺	Cs ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
	1.42×10^{-3}	1.74×10^{-3}	2.55×10^{-3}	5.41×10^{-3}	39.8	5.41×10^{-3}

Finalmente, la constante de asociación entre el ligando y catión metálico en $CHCl_3$, se puede definir como:



$$K_a = \frac{[M^{n+} LA_n^{-}]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} [M^{n+} A_n^{-}]_{CHCl_3}} = \frac{K_e}{K_d} \quad (\text{VIII.xi})$$

Es decir, determinando K_e por medidas espectroscópicas, se puede deducir el valor de K_a . Si repetimos esta experiencia con diferentes cationes, podemos comparar la afinidad del ligando para cada uno de ellos y estimar así su selectividad.

¹⁴⁷ S.S. Moore, T.L. Tarnowski, M. Newcomb, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6398.

VIII.1.1. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

Mimetizando el procedimiento de Cram, procedimos a estudiar el ligando **L2** comparando la selectividad de **L2** frente a sales de metales alcalinos y alcalinotérreos.

Se sintetizaron los picratos de Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y Ba^{2+} a partir de ácido pícrico y el hidróxido correspondiente.

Una vez obtenidas las sales, se pasó a comprobar las propiedades espectroscópicas de cada una de ellas. Todas presentaban una banda de absorción entre 280 y 470 nm cuando el espectro se realizaba en CH_3CN , con un máximo en torno a los 380 nm (fig. VIII.2).

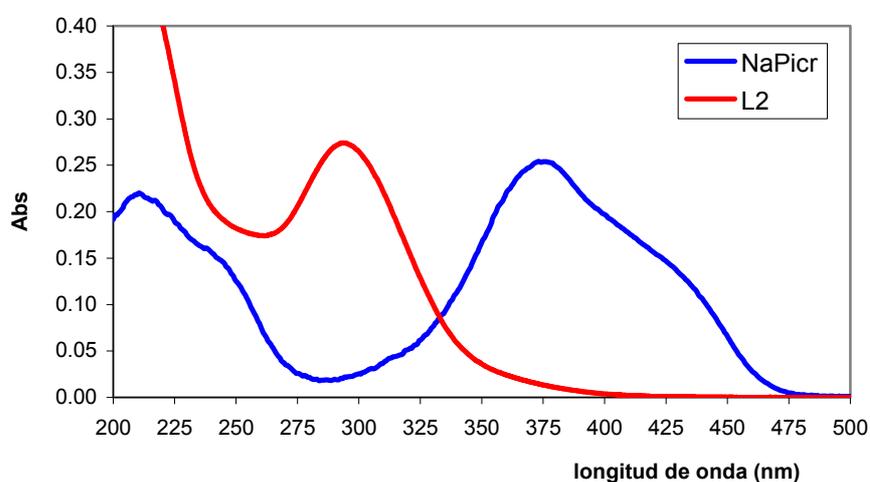


Figura VIII.2: Espectros de absorción del picrato de Na^+ y de **L2** en CH_3CN .

Se estudiaron también las características fotofísicas de **L2** en CH_3CN . La superposición de ambos espectros reveló que a 430 nm, no existía solapamiento entre ambas absorbancias y se decidió calcular los coeficientes de absorción molar para las sales pícricas, de acuerdo con la ley de Beer-Lambert a esta longitud de onda. El resultado se muestra en la tabla VIII.2. El picrato de Ba^{2+} se descartó por su insolubilidad manifiesta en el disolvente empleado (CH_3CN).

Tabla VIII.2: Valores de los coeficientes de absorción molar de los picratos de alcalinos y alcalinotérreos en acetonitrilo determinados por la relación de Beer-Lambert a 430 nm.

Picratos	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$)					
	Li^+	Na^+	K^+	Cs^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}
	8626.0	8975.9	9251.5	9586.4	9339.4	10880.0

VIII.1.2. EXTRACCIÓN DE PICRATOS DE ALCALINOS Y ALCALINOTÉRREOS CON L2

Finalmente, una vez elegidas las condiciones de trabajo, se realizaron los experimentos de extracción de Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} con **L2**. Se obtuvieron los resultados que se recogen en la tabla VIII.3. En la misma tabla también se encuentran reflejados los resultados obtenidos para el ligando control **L16**.

Tabla VIII.3: Experimentos de extracción para los ligandos **L2** y **L16**.

Ligando	log K_a				Selectividad			% Extracción			
	Li^+	Na^+	K^+	Cs^+	Na^+/Li^+	Na^+/K^+	Na^+/Cs^+	Li^+	Na^+	K^+	Cs^+
L2	5.23	5.35	5.09	5.21	1.32	1.82	1.38	22.0	32.1	27.2	19,3
L16	3.42	4.64	4.09	3.16	16.59	3.55	30.20	0.3	8.0	3.5	0.2

La modelización por métodos de mecánica molecular (MM+)¹³⁶ reveló que el tamaño medio de la cavidad en nuestros ligandos era del orden de $4.23 \text{ \AA} - 2 \times r_{\text{O}_{\text{covalente}}}$. Si consideramos que el radio del $\text{O}_{\text{covalente}}$ es del orden de 0.73 \AA , obtendríamos una cavidad de 2.77 \AA , es decir, de aproximadamente 1.38 \AA de radio (análoga a la del 18-corona-6). Aunque está establecido en la bibliografía¹⁴⁸ que cavidades de este tamaño son muy apropiadas para complejar K^+ (radio iónico 1.33 \AA , tabla VIII.4), los resultados experimentales obtenidos para **L16** indicaban que la mayor selectividad se daba para el Na^+ . Este inesperado comportamiento hizo pensar que el hecho de tener una amida unida a la corona, o la presencia del voluminoso bifenilo próximo también al coronando, reducía el tamaño efectivo de la cavidad. De esta forma, se explicaría el comportamiento de la selectividad de **L16**: $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ (figura VIII.3). Estudios discriminatorios realizados para los pares Na^+/Li^+ y Na^+/Cs^+ demostraron una elevada selectividad por el Na^+ para **L16**.

¹³⁶ La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MM+ como campo de fuerza y el algoritmo de Polar-Ribiere (gradientes conjugados) incluidos en el programa HyperChem versión 7.01 de Hypercube Inc. (www.hyper.com).

¹⁴⁸ J.D. Lamb, R.M. Izatt, J.J. Christensen, D.J. Eatough, "Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds", Plenum Press, New York, 1979.

Tabla VIII.4: Radios iónicos de los cationes metálicos de los alcalinos y alcalinotérreos empleados en las experiencias de extracción y transporte.

Metales	Radio iónico (Å)						
	Li ⁺	Na ⁺	K ⁺	Cs ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Ba ²⁺
	0.60	0.95	1.33	1.69	0.65	0.99	1.35

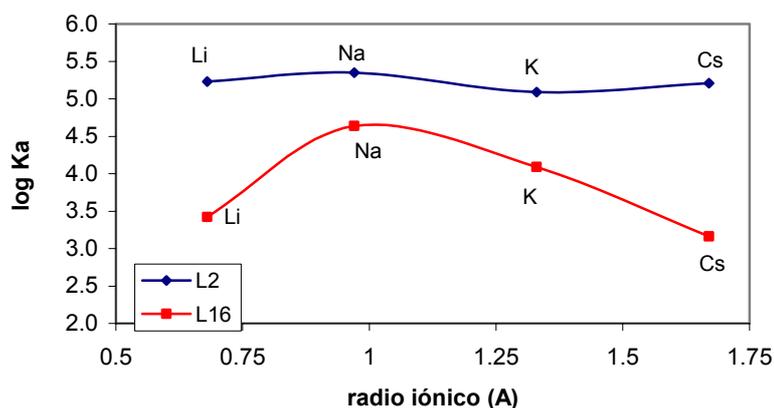


Figura VIII.3: Selectividad en la extracción para los ligandos L2 y L16.

Si estos resultados se comparan con los obtenidos con L2 se observa que la presencia de una segunda corona amplifica mucho la capacidad de extracción del ligando. Además, la complejación de Li⁺ y Cs⁺ se incrementó notablemente, con valores de incremento en log K_a de 1.81 y 2.05 respectivamente en la comparación con el correspondiente análogo L16 (fig. VIII.4).

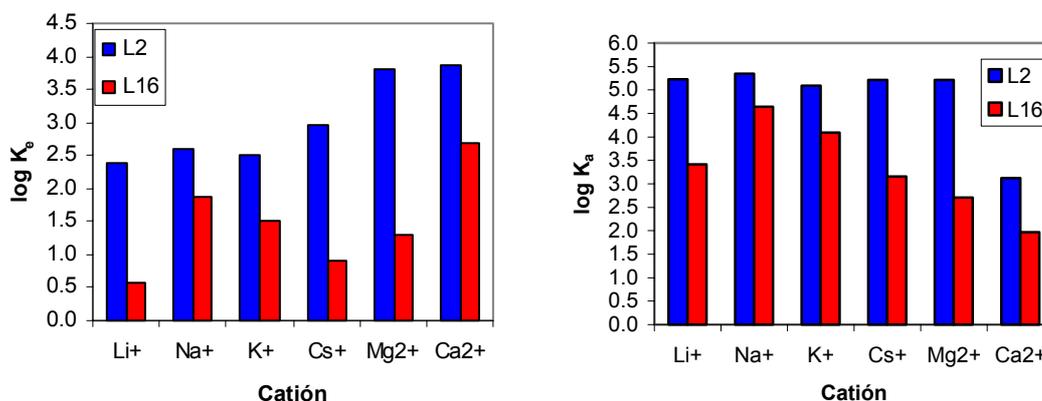


Figura VIII.4: Constantes de extracción (izquierda) y asociación (derecha) para los ligandos L2 y L16. (CHCl₃ a 298 K).

Los radios de Li^+ y Cs^+ son demasiado extremos para ajustar a la corona de **L16**. Sin embargo, la complejación simultánea con ambas coronas permite una complejación más eficaz, incrementándose la extracción del huésped.

Este aumento en la extractividad, se tradujo simultáneamente en una marcada disminución en la selectividad de **L2** frente a los cationes alcalinos, con valores de Na^+/Li^+ , Na^+/K^+ , Na^+/Cs^+ de 1.32, 1.82 y 1.38 respectivamente (tabla VIII.3). La razón hay que buscarla en la posibilidad de formación de compuestos tipo sándwich, menos sensibles al tamaño del catión.

En el caso de Ca^{2+} , el bajo valor de $\log K_a$ (3.12), se debe, posiblemente al gran valor de K_d observado para el correspondiente picrato. Así, la elevada difusión de la sal, dio lugar a resultados imprecisos que, por esta razón no se han considerado en la discusión.

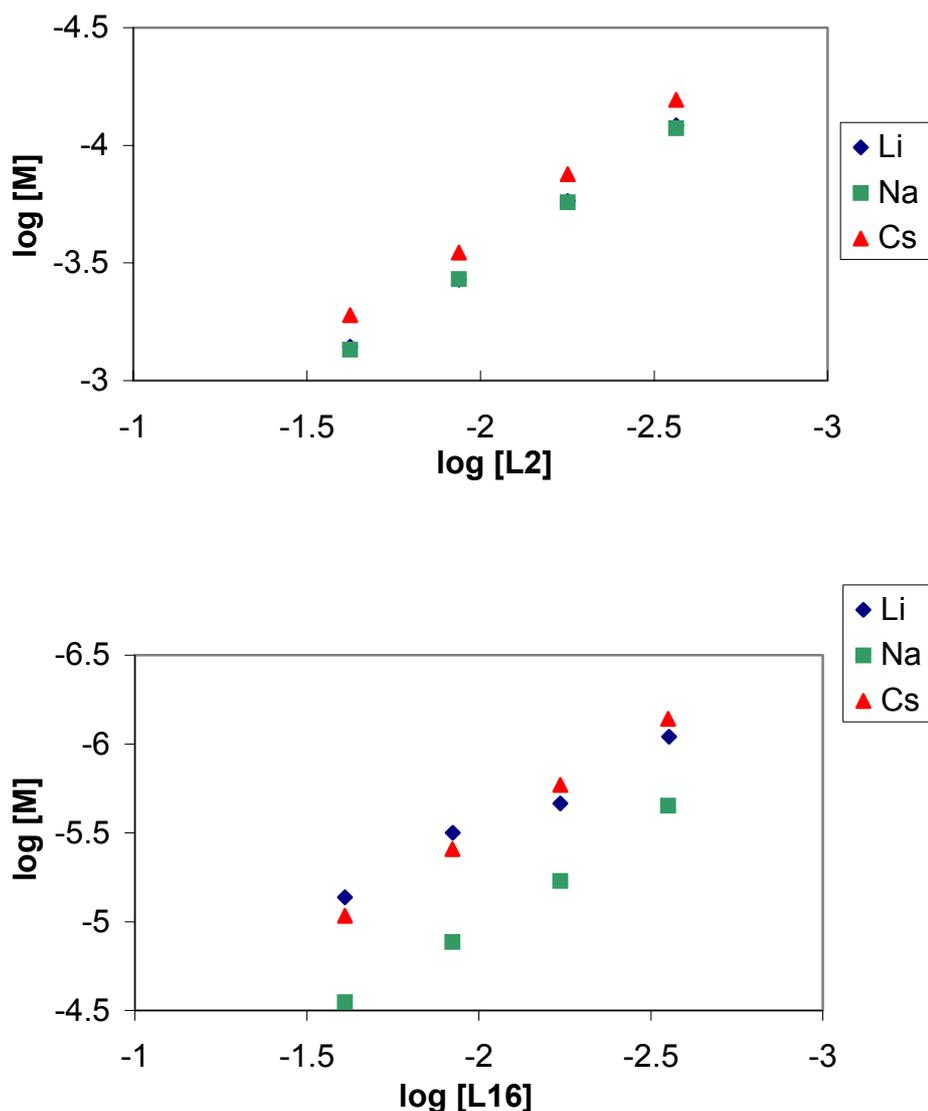


Figura VIII.5: Extracción de LiPic (4.81 mM), NaPic (4.76 mM) y CsPic (2.40 mM) con el ligando **L2** (arriba) y **L16** (abajo) (concentraciones de ligandos de 23.73 a 2.73 nM).

Con el fin de confirmar la estequiometría 1:1 de los complejos formados con **L2** se usó el procedimiento descrito por Gloe¹⁴⁹ que concluye que la estequiometría puede determinarse por el valor de la pendiente de la representación $\lg[M]/\lg[L]$.

Se decidió pues, repetir los experimentos de extracción con Na^+ , Li^+ y Cs^+ pero variando la concentración de ligando en la fase clorofórmica. Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura VIII.5. La representación $\lg[M]/\lg[L]$ dio una recta de pendiente 1 en todos los casos que indicaba que efectivamente, la estequiometría del complejo era 1:1. También se obtuvo la misma respuesta en el caso de **L16**, como era de esperar para un ligando con una sola corona.

VIII.2. EXPERIMENTOS DE TRANSPORTE

Aunque basado en un principio semejante a la extracción, el fenómeno de transporte es más complejo ya que el transportador tiene que complejar el catión lo suficientemente fuerte como para poder “arrancarlo” de la esfera de solvatación acuosa, pero no tanto como para impedir que al llegar a la fase receptora, el gradiente de concentración permita la liberación del mismo. Si un ligando tiene una K_a demasiado alta, tomará el metal y finalmente se saturará, no dando apenas transporte efectivo a la fase receptora.

Para llevar a cabo estas experiencias se usó un montaje experimental consistente en un tubo en forma de U¹⁵⁰ (célula de Pressman), que contenía en su parte inferior cloroformo. En el cloroformo estaba disuelta, una cantidad conocida de ligando transportador y un agitador magnético (fig. VIII.6).

Cada rama del tubo en U contenía un volumen determinado de fase acuosa. Una de dichas ramas (la fase fuente) llevaba disuelta una cantidad conocida de sal metálica, mientras que otra (la fase receptora) estaba constituida tan solo por agua desionizada.

Así, el transportador tomaría el metal de la fase fuente y lo translocaría hasta la fase receptora cediendo ahí el sustrato. Para conservar la electroneutralidad, debido a que en nuestro caso el ligando es neutro, el anión acompañaría al catión en su viaje a través de la membrana de cloroformo en forma de par iónico. Por la misma razón que en los experimentos de extracción, se decidió utilizar sales pícricas de metales alcalinos y alcalino-térreos para cuantificar el transporte mediante espectroscopía de UV-visible.

¹⁴⁹ K. Gloe, H. Graubaus, M. Wüst, T. Rambusch, W. Seichter, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 222, 103.

¹⁵⁰ T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, J. Van Eerden, S. Harkema, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1000.

Los fenómenos de transporte son fenómenos de superficie, y como tales son extremadamente sensibles a las condiciones en que se llevan a cabo. En nuestro caso, elegimos la eficiencia, E , como parámetro empírico de comparación (VIII.xii).

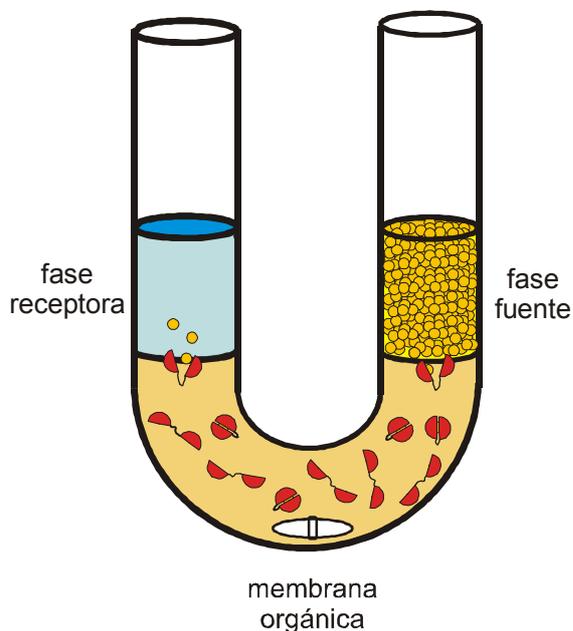


Figura VIII.6.: Célula de Pressman.

Es fundamental que todos los experimentos se realicen en las mismas condiciones, es decir, que la relación entre volúmenes (membrana-fase receptora y membrana-fase fuente), las concentraciones iniciales de la fase fuente, la concentración de transportador en la membrana, las áreas de contacto membrana-fase acuosas y la velocidad de agitación sean constantes para todos los casos. Esta última es de especial importancia, puesto que una velocidad demasiado lenta, generaría gradientes dentro de la membrana clorofórmica, lo que ralentizaría el proceso. Por el contrario, una elevada velocidad de agitación podría producir emulsiones en las interfases o incluso hacer que micelas de fase acuosa de la fase fuente, pasaran mecánicamente a la fase receptora sin la intervención del transportador, lo que alteraría los resultados.

$$E = \frac{\mu \text{ mol cation transportado}}{\text{ml fase receptora}} \cdot \frac{\text{mmol transportador}}{\text{mmol transportador}} \quad (\text{VIII.xii})$$

VIII.2.1. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

En este tipo de experiencias se utilizaron picratos de metales alcalinos y alcalino-térreos (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} y Ba^{2+}). Los coeficientes de extinción molar en agua se determinaron siguiendo los métodos habituales, mediante medidas por espectroscopía de UV a $\lambda = 400$ nm, y se encuentran recogidos en la tabla VIII.5. El picrato de Ca^{2+} se descartó por provocar una turbidez que alteraba las medidas.

Tabla VIII.5: Valores de los coeficientes de absorción molar de los picratos de alcalinos y alcalinotérreos en agua determinados por la relación de Beer-Lambert a 400 nm.

Picratos	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$)					
	Li^+	Na^+	K^+	Cs^+	Mg^{2+}	Ba^{2+}
	9564	9532	10626	10895	16820	19074

VIII.2.2. TRANSPORTE DE PICRATOS DE ALCALINOS Y ALCALINO-TÉRREOS CON L2

En los primeros experimentos, se midió el transporte de Li^+ , Na^+ y Mg^{2+} con **L2** y los valores de E obtenidos se muestran en la tabla VIII.6 y, de forma gráfica, en la figura VIII.7:

Tabla VIII.6: Eficiencia de Transporte [$\mu\text{M}(\text{M}^+)/\text{ml}$ (fase receptora) mM (ligando)] a través de una membrana de CHCl_3 , 293 ± 1 K tras 48 h (serie concentrada).

Ligando	Eficiencia de Transporte		
	Li^+	Na^+	Mg^{2+}
L2	14.73	89.73	7.42
L16	1.44	40.16	1.13

Tabla VIII.7: Eficiencia de Transporte [$\mu\text{M}(\text{M}^+)/\text{ml}$ (fase receptora) mM (ligando)] a través de una membrana de CHCl_3 , 293 ± 1 K tras 48 h (serie diluída).

Ligando	Eficiencia de Transporte			
	Na^+	K^+	Cs^+	Ba^{2+}
L2	17.80	10.95	9.56	9.46
L16	4.03	2.66	0.99	0.43

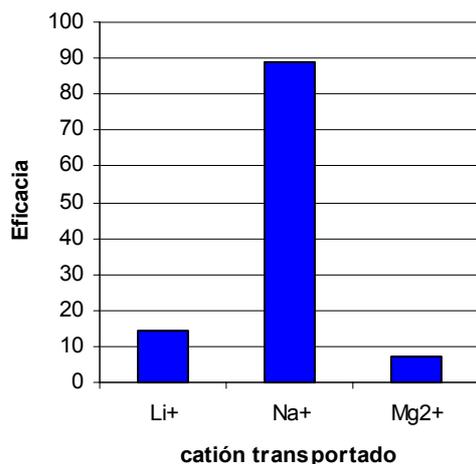


Figura VIII.7: Factores de eficacia en el transporte de metales alcalinos y alcalinotérreo para L2 (serie concentrada).

La segunda serie de experimentos se realizó con Na⁺, K⁺, Cs⁺ y Ba²⁺ pero con una concentración menor (la cuarta parte de la anterior). La razón fue la baja solubilidad del picrato de K⁺, Cs⁺ y Ba²⁺.

Tras realizar los experimentos, se calcularon los factores de eficiencia que se han recopilado en la tabla VIII.7 y en la figura VIII.8 donde se pueden comparar de manera gráfica.

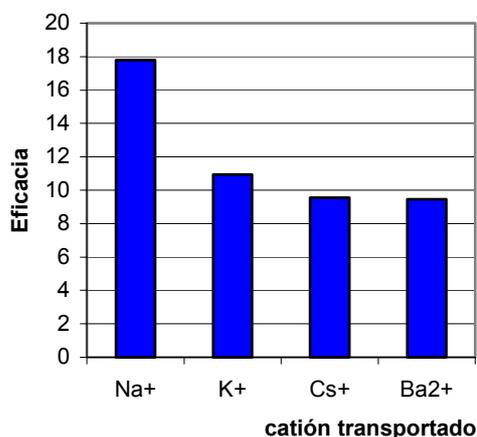


Figura VIII.8: Factores de eficacia en el transporte de alcalinos y alcalinotérreo para L2 (serie diluída).

Estos resultados pueden ser interpretados de la siguiente manera: En la primera serie de experiencias se puede observar claramente que el catión Na⁺ fue transportado mucho más eficazmente que cualquiera de los otros dos cationes (Na⁺/Li⁺ = 6 y Na⁺/Mg²⁺ = 12). La explicación para este fenómeno resulta evidente. El catión Li⁺ y aun más el Mg²⁺ son cationes muy duros, y en agua se encuentran

fuertemente solvatados, por lo que la formación del complejo con **L2** no se ve muy favorecida. El efecto de solvatación sobre el Na^+ es menor. Además, la K_a para Na^+ es mayor que para el Li^+ y Mg^{2+} , hecho que racionaliza perfectamente este comportamiento ($\log K_a(\text{Na}^+) = 5.35$, $\log K_a(\text{Li}^+) = 5.23$, $\log K_a(\text{Mg}^{2+}) = 5.21$).

Los resultados obtenidos en el segundo experimento revelan que el orden de eficiencia de transporte coincide con el orden de magnitud de K_a . Así, el Na^+ con un valor de $\log K_a = 5.35$, es también ahora el más eficazmente transportado. El potasio ($\log K_a = 5.09$) presenta una eficacia de 10.95, seguidos por Cs^+ y Ba^{2+} ($E = 9.56$ y $E = 9.46$ respectivamente).

Del mismo modo que en los experimentos de extracción, se realizaron también experiencias de transporte con **L16** en las mismas condiciones con el fin de comparar los resultados con los de **L2**.

Los resultados obtenidos para **L16** frente a Li^+ , Na^+ y Mg^{2+} eran concordantes con los de **L2** (tabla VIII.6 y figura VIII.9), lo cual estaba de acuerdo con los razonamientos anteriormente expuestos. Sin embargo, en condiciones equimoleculares, **L2** transporta más del doble que **L16**, especialmente en el caso de Li^+ y Mg^{2+} (10.2, 2.2 y 6.6 veces para Li^+ , Na^+ y Mg^{2+} respectivamente).

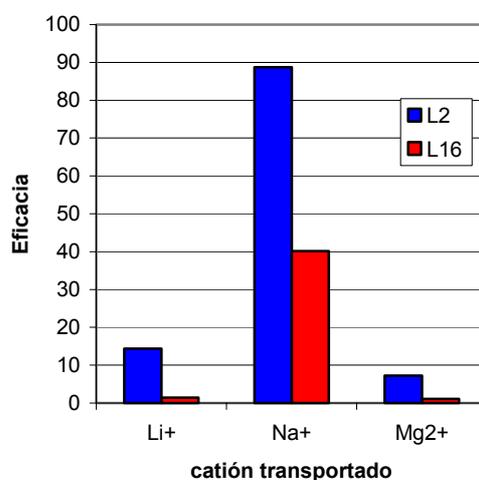


Figura VIII.9: Comparación de los factores de eficacia en el transporte de alcalinos y alcalinotérreo entre **L2** y **L16** (serie concentrada).

Los estudios realizados para **L16** con Na^+ , K^+ , Cs^+ y Ba^{2+} (fig. VIII.10) pusieron de manifiesto que el catión Na^+ era el más transportado y que nuevamente **L2** era mucho más eficaz, en las mismas condiciones, que **L16** (alrededor de 4.4 veces para el Na^+ , 4.1 para el K^+ , 9.6 para Cs^+ y 22 para el Ba^{2+}).

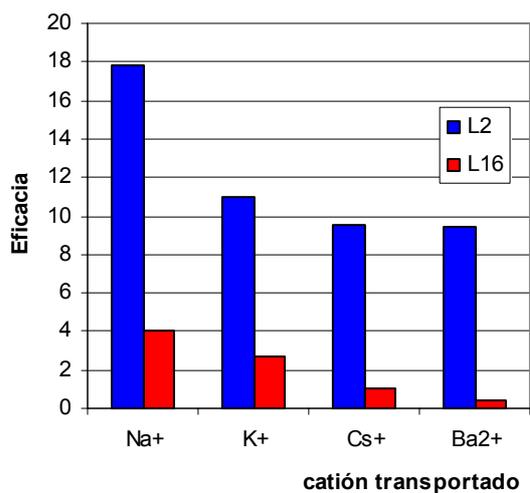


Figura VIII.10: Comparación de los factores de eficacia en el transporte de metales alcalinos y alcalinotérreo entre **L2** y **L16** (serie diluída).

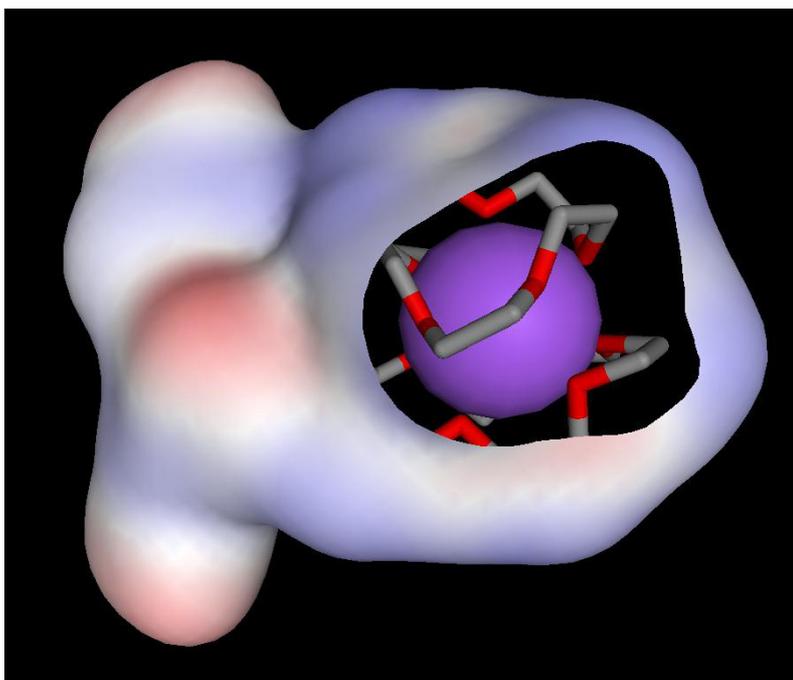


Figura VIII.11: Superficies lipofílicas en el complejo metal-**L2**.

Estos incrementos en la eficiencia de transporte no se podían explicar por el mero hecho de que **L2** contase con dos coronas en su estructura y **L16** solamente una. Una explicación para este comportamiento podría ser la formación por parte de **L2** de compuestos de tipo sándwich que permitan al catión estar completamente encapsulado por la parte lipofílica de ambas coronas dentro de una cavidad hidrofóbica formada por los oxígenos de los coronandos (fig. VIII.11). De ser así, el efecto producido por la formación de complejos tipo sándwich, sería más marcado

cuanto más diferencia hubiera entre el tamaño del catión y el tamaño de la cavidad, es decir, para los casos de Li^+ y Mg^{2+} (por ser demasiado pequeños), y Cs^+ y Ba^{2+} (por ser demasiado grandes), tal como ocurre (10.2, 6.6, 9.6 y 22 veces respectivamente).

Finalmente, el hecho de que, para **L2**, un incremento de 4 veces en la concentración de ligando y fase fuente se tradujo en un aumento de 10 veces el factor de eficacia en el transporte de Na^+ nos lleva a concluir que no existe una relación lineal entre concentraciones iniciales y transporte (tabla VIII.8).

Tabla VIII.8: Comparación de los experimentos de transportes en las dos series de experimentos realizadas bajo diferentes concentraciones.

Sal Pícnica	L2			
	c.L. (M)	c.f.r. (M)	c.f.f. (M)	E
Na^+ (serie concentrada)	0.0012	$1.58 \cdot 10^{-4}$	$1.99 \cdot 10^{-2}$	88.68
Na^+ (serie diluida)	0.0003	$8.12 \cdot 10^{-5}$	$4.94 \cdot 10^{-3}$	17.79

c.L. = concentración de ligando en la membrana; c.f.r. = concentración final de sal en la fase receptora; c.f.f.= concentración final en la fase fuente. E= factor de eficiencia

CONCLUDING REMARKS

- Fifteen new ligands have been synthesized (**L1** to **L15**). These compounds have been tested as molecular sensors towards some cations and anions. All of them are containing a biphenyl-derived moiety. Depending on the substituent in 2,2', can be classified as podands or aza-crowns compounds.
- For the TMB-derived ligands (**L3**, **L6**, **L7**, **L8**, **L10**, **L11**, **L12**, **L13**, **L14** and **L15**), intensity in the emission of fluorescence is in strong dependence on the dihedral angle between biphenyl rings.
- Good responses, monitored by fluorimetric methods, have been obtained in the recognition of some metallic cations by ligands **L3**, **L6**, **L7**, **L8**, **L11**, **L12**, **L13**, **L14** and **L15**. Intensity of emission depends on the geometry and stoichiometry of the formed complex and on the metallic cation itself. Coronand-related ligands have shown much better discrimination ability in the recognition process than those ligands containing open chain branches.
- **L7** and **L14** were tested in anion recognition. A clear enhancement of the fluorescence in presence of fluoride anion was obtained, specially in the case of the former.
- Affinity of **L2** towards Zn^{2+} and Cd^{2+} can be electrochemically modulated.
- High extraction constants and transport rates were found for **L2** with different alkaline and earth-alkaline picrate salts. No remarkable skills for **L2** in order to discriminate those cations were observed though.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

EP.1. EXPERIMENTAL TECHNIQUES

EP.1.1. PHYSICAL AND SPECTROSCOPIC TECHNIQUES:

- **Determination of Melting Points**

Melting points were determined in a microscope equipped with a heating slide from Cambridge Instruments or in a Büchi Doctor Tottoli's like apparatus, model 535, and measurements are uncorrected.

- **Analysis of Combustion**

Quantitative elementary analysis was carried out by 'Servicio de Microanálisis del Centro de Investigación y Desarrollo del CSIC' in Barcelona.

- **Infrared Spectroscopy**

Infrared spectra were registered in three different apparatus. A Mattson Satellite FTIR, model 3000, with a screen-width from 4000 cm^{-1} to 400 cm^{-1} , a Perkin-Elmer 1750 FTIR and a Bruker Equinox 55 FT-IR both with a screen-width from 4000 cm^{-1} to 400 cm^{-1} . All spectra are an average of 10 scans and 0.5 cm^{-1} was the step wavelength.

Spectra of solid compounds were performed as KBr disks. Liquid samples were solved in dichloromethane and the solution was dropped over a KBr disk forming thereby a thin film once solvent was evaporated.

Values of IR data belong to the maximum of absorbance for the more characteristic bands of the compounds.

▪ **¹H and ¹³C NMR Spectroscopy**

Magnetic Resonance Spectra were registered at the SCSIE (Servei Central de Suport a la Investigació Experimental from Universitat de València) apparatus.

- VARIAN UNITY-300 VXR (300 MHz)
- VARIAN UNITY-400 VXR (400 MHz)
- BRUKER ADVANCE AC-300 (300 MHz)
- BRUKER AC-500 (500 MHz)

Deuterated chloroform, methanol, acetone, dimethylsulfoxide and acetonitrile were utilized as solvents. Chemical shifts are reported in parts per million downfield from TMS. Spectra were referenced to residual undeuterated solvent.

▪ **Mass Spectroscopy**

High resolution mass spectra were taken at the SCSIE with a Fisons VG-AUTOSPEC and those using the eletrospray ionizing technique were recorded on an HPLC-MS with ion trap Bruker 3000-Esquire Plus.

▪ **UV Spectroscopy**

UV spectra were run at 20°C (thermostated) on a Shimadzu UV-2102 PC or on a Biotech Instruments XL spectrometer.

▪ **Fluorescence Spectroscopy**

Steady-state fluorescence measurements were carried out using an Instruments SA (Jobin-Yvon) Fluoromax-2, equipped with a red sensitive Hamamatsu R928 photomultiplier tube, and a Varian Cary Eclipse Fluorimeter. Fluorescence lifetimes were measured in the frequency domain, using an Instruments S.A. Fluorolog τ -3 instrument, by global fitting of the demodulation and phase shift of the emission, following excitation with sinusoidally-modulated light over the frequency range 10-250 MHz. A suspension of Ludox® in water was used as the standard, which acts as a scattering sample of τ 0.0 ns.

▪ **Potentiometric Determinations**

Potentiometric measurements were carried out using a Crison 2002 pH-metre with a glass combined electrode. Titrant agent were added by a Crinson 2031 automatic microburette. Titrations were automatically controlled by NEW PASSAT¹⁵⁴ software from a connected PC which registered both e.m.f values and added titrant volumes.

▪ **X-Ray Diffractometry**

X-Ray studies were performed at the SCSIE using a Nonius Kappa CCD diffractometer, Mo K α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), ω -scan, T = 298(2) K. Refinement was done on F² using SHELX97 program¹⁵⁵, and hydrogen atoms were refined using a *riding* model, R1[> 2 σ (I)] = 0.0693, wR2(all data) = 0.2204.

EP.1.2. CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES

▪ **Thin Layer Chromatography**

Depending on the polarity of the sample, one of these two types of chromatoslides was chosen: silica-gel upheld on a 0.2 mm thick aluminium foil DC-60 F (254) (ref. 5554 from Merk), or neutral alumina on a similar support (ref. 105550, also Merk).

Once eluted, slides were observed under 254 and 366 nm UV light, or were developed using, in each case, one of these reactants:

- Sulphuric acid: solution of sulphuric acid (50%). Slides, once sprayed, were heated in an oven at 100° C.
- Silica-gel absorbed iodine: some crystals of iodine are blended with 5g of column chromatography silica-gel. Mixture was stored in an airtight container.
- Phosphomolibdic acid: solution of phosphomolibdic acid (10% in Ethanol). Slide is immersed into the solution. After that, it is heated at 120°C until developed spots appear.

¹⁵⁴ F.J. Rosotti, H.J. Rosotti, *J. Chem. Educ.*, **1965**, 42, 375.

¹⁵⁵ G. M. Sheldrick, SHELX97, University of Göttingen, Germany, **1997**.

▪ Column Chromatography

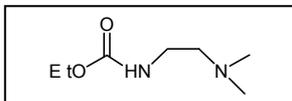
In a similar trend as above, two kinds of stationary phase were chosen for column chromatography regarding nature of samples and products to isolate (eluant is specified for each case in the section of synthesis).

- Silica-gel 60 for flash column chromatography. 230-400 mesh (ref. 9385, Merk)
- Neutral alumina (pH = 7.0 ± 0.7), with a particle size of 0.05-0.2 nm (ref. 2210017, Sds).

EP.1.3. DRYING OF SOLVENTS

- Dimethylformamide was kept for 72 hours on activated molecular sieves (3Å) and afterwards was distilled under conditions of reduced pressure. Fraction at 57°C (at 10 mm of Hg) was collected under activated molecular sieves (4 Å).
- Dichloromethane was dried with calcium chloride for 48 hours. It was distilled over molecular sieves (3 Å), collecting only fraction at 39-40°C.
- Toluene and benzene were dried by store them over spun sodium.
- Tetrahydrofurane was dried by store it over spun sodium for several days and transferred to a distilling set under an argon atmosphere where it was kept over spun sodium and benzophenone as an indicator. It was distilled, from a blue solution (reduced benzophenone) that ensures the absence of traces of water.

EP.2. SYNTHESIS OF LIGANDS

EP.2.1. Synthesis of N-ethyloxycarbonyl-N',N'-dimethylethylenediamine (**32**)

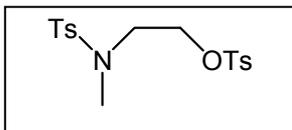
N,N-dimethylethylenediamine (**19**) (187 mg, 2.01 mmol) was introduced in a round bottom flask, provided with magnetic stirring and dissolved in 4 ml of cool water (0°C). Ethyl chloroformate (282 mg, 2.52 mmol) was added for 5 minutes to the former dissolution, stirring during the entire process. After this addition, NaOH (216 mg, 5.40 mmol) in 1 ml of water were dropped during 5 more minutes. The mixture of reaction was then stirred for 30 minutes at 0°C and 2 more hours at room temperature, and afterwards, it was extracted with ethyl acetate (3 x 10 ml). The organic phases were collected together, dried with anhydrous Na₂SO₄ and concentrated at low pressure to yield N-ethyloxycarbonyl-N',N'-dimethylethylenediamine (**32**) (205 mg, 64%) as a pale yellow oil.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3338 (NH), 2979 (CH), 1702 (CO), 1540 (CN), 1462 (CN), 1255 (CO)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.55 (1H, bs, N-H), 3.96 (2H, q, J = 6.9 Hz, -O-CH₂-CH₃), 3.12 (2H, q, J = 5.7 Hz, -CH₂-CH₂-NH-), 2.27 (2H, t, J = 5.7 Hz, (CH₃)₂N-CH₂-CH₂-), 2.09 (6H, s, (CH₃)₂N-), 1.10 (3H, t, J = 6.9, O-CH₂, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 156.5 (s), 60.2 (t), 58.1 (t), 44.9 (q), 38.0 (t), 14.4 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 160.1208. C₇H₁₆N₂O₂ requires 160.1218

EP.2.2. Synthesis of N-methyl-N,O-di(toluene-p-sulphonyl)ethanolamine (15)¹⁵⁶

N-methylethanolamine (**14**) (2.01 g, 26.76 mmol) was dissolved in 10 ml of pyridine in a round bottom flask. The solution was submerged into an ice-salt bath at -5°C . A suspension of tosyl chloride (10.70 g, 56.13 mmol) in 25 ml of pyridine was prepared in another similar bath. The solution of N-methylethanolamine was dropped then over the tosyl chloride solution. Temperature was kept below 0°C for 15 minutes and afterwards, the mixture was maintained at $+4^{\circ}\text{C}$ overnight. Water (0.2 ml) was added and, after 30 minutes, the mixture was poured onto crushed ice (60 g). Acetic acid (2 ml) was added and the mixture was stirred until the ice was completely melted. The yellow precipitated was filtered, washed with water and dried in a vacuum oven under CaCl_2 and concentrated H_2SO_4 at temperature below 60°C . **15** (8.62 g, 84%) was recrystallized in EtOH.

m.p.: $73-74^{\circ}\text{C}$

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 2925 (CH), 1597 (Ar), 1495 (CN), 1450 (CN), 1356 (OSO_2), 1329 (NSO_2), 1177 (OSO_2), 1152 (NSO_2), 1000 (CO)

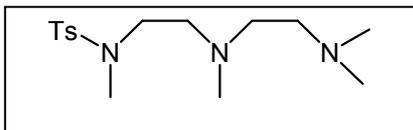
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.77 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-Ar- SO_2O -), 7.62 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-Ar- SO_2N -), 7.35 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-Ar- SO_2O -), 7.30 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-Ar- SO_2N -), 4.16 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, Ts-N(CH_3)- CH_2 - CH_2 -OTs), 3.29 (2H, t, $J = 5.7$ Hz, Ts-N(CH_3)- CH_2 - CH_2 -OTs), 2.75 (3H, s, Ts-N(CH_3)- CH_2 - CH_2 -OTs), 2.46 (3H, s, - OSO_2 - C_6H_4 - CH_3), 2.42 (3H, s, - NSO_2 - C_6H_4 - CH_3)

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 145.2 (s), 143.7 (s), 136.3 (s), 131.9 (s), 130.0 (d), 129.8 (d), 127.9 (d), 127.3 (d), 68.6 (t), 49.0 (t), 36.5 (q), 21.6 (q), 21.5 (q)

HRMS (EI): M^+ found 383.0878. $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}_2$ requires 383.0861

¹⁵⁶ D.B. Hope, K.C. Horncastle; *J. Chem. Soc. (C)*. **1966**, 1098.

EP.2.3. Synthesis of 2-tosyl-5,8-dimethyl-2,5,8-triazanonane (17)



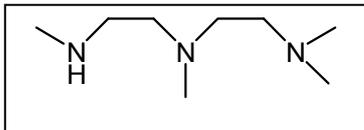
N-Methyl-N,O-ditosylethanolamine (**15**) (4.16 g, 10.86 mmol) was dissolved in dry acetonitrile (25 ml). NaI (1.76 g, 11.77 mmol) and K₂CO₃ (5.24 g, 37.94 mmol) were added. Afterwards N,N',N'-trimethylethylenediamine (1.74 g, 16.48 mmol) was added dropwise and the mixture was refluxed for 24 hours. The reaction mixture was filtered and the solvent was evaporated under *vacuum*, to give a brown oil. The crude reaction product was purified by chromatography through a silica flash column to give **17** as a brown oil (2.55 g, 8.14 mmol). (75% yield).

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2959 (CH), 1597 (Ar), 1465 (CN), 1333 (NSO₂), 1159 (NSO₂)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.68 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.40 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.10 (2H, t, J = 6.8 Hz, CH₂), 2.74 (3H, s, CH₃), 2.56 (2H, t, J = 6.8 Hz, CH₂), 2.54 (2H, t, J = 4.0 Hz, CH₂), 2.46 (2H, t, J = 4.0 Hz, CH₂), 2.42 (3H, s, CH₃), 2.25 (9H, s, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 143.8 (s), 134.6 (s), 129.8 (d), 127.5 (d); 56.5 (t), 55.4 (t), 54.9 (t), 48.0 (t), 44.7 (q), 41.7 (q), 34.8 (q), 20.5 (q)

MS (EI): M⁺ found 313.18. C₁₅H₂₇N₃O₂S requires 313.18

EP.2.4. Synthesis of 2,5-dimethyl-2,5,8-triazanonane (13)¹¹⁹

2-Tosyl-5,8-dimethyl-2,5,8-triazanonane (**17**) (1.58 g, 5.06 mmol) was stirred for 72 hours at 100°C in concentrated H₂SO₄ (8 ml). The dark obtained solution was poured dropwise into ether. The ethereal layer was separated and the remaining solution was solved in H₂O. After addition of NaOH until basic pH, the aqueous solution was filtered and extracted with CHCl₃. Evaporation of the organic solvent under reduced pressure gives rise to a yellow oil (**13**) (233.5 mg, 29%).

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3420(NH), 2954 (CH), 1657 (NH), 1466 (CN)

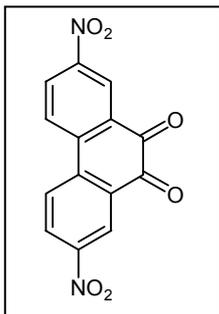
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.33 (2H, t, J = 6.4 Hz, CH₂), 2.19 (2H, t, J = 6.4 Hz, CH₂), 2.16 (2H, t, J = 7.6 Hz, CH₂), 2.12 (3H, s, CH₃), 2.08 (2H, t, J = 7.6 Hz, CH₂), 1.93 (3H, s, CH₃), 1.92 (6H, s, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 55.4 (t), 57.4 (t), 55.9 (t), 49.4 (t), 45.8 (q), 42.6 (q), 36.4 (q)

HRMS (CI): M⁺+1 found 160.1816. C₈H₂₂N₃ requires 160.1814

¹¹⁹ A. Bencini, A. Bianchi, E. García-España, V. Fusi, M. Micheloni, P. Paoletti, J.A. Ramírez, A. Rodríguez, B. Valtancoli, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1992**, 1059.

EP.2.5. Synthesis of 2,7-dinitro-9,10-phenanthrenequinone (6)



9,10-phenanthrenequinone (6.19 g, 29.74 mmol) was poured in a round bottom flask over a mixture of fuming nitric acid (80 ml) and sulphuric acid (10 ml). The reaction was refluxed for 30 min and was left at room temperature. When the mixture was cold, it was poured over crushed ice (750 g). The obtained yellow precipitate was filtered and purified by recrystallization in glacial acetic acid (650 ml). The crystalline yellow-orange solid obtained was filtered and dried to yield **6** (4.06 g, 46%).

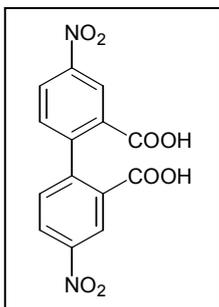
m.p.: 300-302°C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3080 (ArH), 1680 (CO), 1590 (Ar), 1515 (NO), 1355 (NO), 850 (CN)

¹H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ (ppm): 8.72 (2H, d, J = 8.5 Hz, Ar-H), 8.71 (2H, d, J = 2.6 Hz, Ar-H), 8.58 (2H, dd, J = 8.5 Hz, J = 2,6 Hz, Ar-H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ (ppm): 175.8 (s), 148.3 (s), 138.5 (s), 133.6 (s), 128.5 (d), 127.6 (d), 122.7 (d)

HRMS (EI): M⁺ found 298.0211. C₁₄H₆N₂O₆ requires: 298.0226

EP.2.6. Synthesis of 4, 4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (1)

2,7-dinitro-9,10-fenanthrenequinone (**6**) (4.07 g, 13.64 mmol) was introduced in a round bottom flask, provided with magnetic stirring, and dissolved in glacial acetic acid (100 ml). Once the mixture was under reflux, H₂O₂ (30%) (16.2 ml) was dropped during 30 minutes. Once the addition of oxidant was finished, the reaction was kept under heating for 5 further hours. The mixture was distilled under reduced pressure until all the acetic acid and water were removed.

The obtained solid was redissolved in saturated NaHCO₃ solution (110 ml), the solution was filtered and refluxed with active charcoal (0.5 g) for about 10 minutes. The cold mixture was filtered and the remaining aqueous solution was acidified with HCl (15%) until acid pH. The obtained white precipitate was filtered and washed with cold CHCl₃, and it was dried under vacuum to yield a white solid (**1**) (2.27 g, 50%).

m.p.: 249 -250 °C

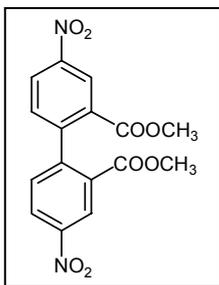
IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3200-2540 (OH), 1700 (CO), 1600 (Ar), 1480 (NO), 1300 (NO), 900 (CO), 850 (CN)

¹H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ (ppm): 8.66 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 8.44 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.52 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ (ppm): 166.1 (s), 148.6 (s), 147.6 (s), 132.3 (s), 131.9 (d), 126.7 (d), 125.0 (d)

HRMS (EI): M⁺ found 332.0281. C₁₄H₈N₂O₈ requires 332.0280

EP.2.7. Synthesis of 2,2'-bis(methoxycarbonyl)-4,4'-dinitrophenyl (2)



4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (2.27 g, 6.80 mmol) was dissolved in methanol (100 ml) in a 250 ml round bottom flask and concentrated sulphuric acid (3 ml) was added as catalyst. The mixture was refluxed for 12 h and eventually any appeared precipitate was filtered. Sulphuric acid (3 ml) was dropped into the filtrate and the dissolution was refluxed for another 12 hours. Afresh, the obtained solid was removed and the process was repeated until no turbidity was observed. The combined solids were washed with cold NaHCO₃ (10%) and cold water and dried in a vacuum oven to give the diester **2** (1.99 g, 81%).

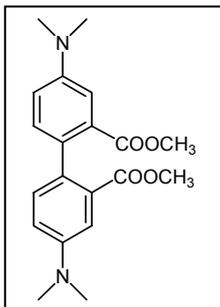
m.p.: 174 - 176°C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2940 (CH), 1720 (CO), 1600 (Ar), 1490 (NO), 1360 (NO), 1270, 1225 (CO), 850 (CN), 795

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.94 (2H, dd, J = 2.4 Hz, J = 0.8 Hz, Ar-H), 8.43 (2H, ddd, J = 8.4, J = 2.4 Hz, J = 0.8 Hz, Ar-H), 7.38 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 0.8 Hz, Ar-H), 3.75 (6H, s, CH₃)

¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 164.6 (s), 147.9 (s), 147.4 (s), 130.7 (d), 130.1 (s), 126.4 (d), 125.4 (d), 52.7 (q)

HRMS (EI): M⁺ found: 360.0593. C₁₆H₁₂N₂O₈ requires 360.0594

EP.2.8. Synthesis of 4, 4'-bis(dimethylamino)-2,2'-bis(methoxycarbonyl)-biphenyl (33)

2,2'-bis(methoxycarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (**2**) (709 mg, 1.97 mmol) was dissolved in absolute EtOH (spectroscopic-quality) (80 ml) in an hydrogenation vessel and formaldehyde (30% solution in water) (1.1 ml, 11.95 mmol) and Pd (10% on charcoal) (48 mg) were added to the solution. The vessel was fitted to a medium-pressure hydrogenation apparatus. Hydrogen was injected (50 PSI, 3.4 atm) and the reaction was kept for 24 hours with mechanical agitation.

Catalyst (48 more mg) was added afterwards and kept under the same conditions for another 24 hours. The green-fluorescent solution obtained after filtration of the catalyst was stored. Pd (C) retained at the filtering paper was washed with diluted HCl (pH = 2) (40 ml) until charcoal became in a shiny black colour. The washing water was neutralized with saturated NaHCO₃ and extracted with ethyl acetate (3x20 ml). The organic phases were combined with the previous ethylic solution and dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and evaporated until dryness. A fluorescent yellow and light sensitive solid (**33**) (598 mg, 85%) was obtained.

m.p.: 141-143 °C

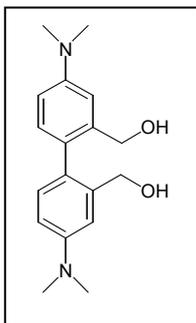
IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2940 (CH), 1710 (CO), 1590 (Ar), 1430, 1340 (CN), 1230 (CO), 1210 (CN), 1050, 800

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.28 (2H, d, J = 3.0 Hz, Ar-H), 7.05 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 6.84 (2H, dd, J = 8.7 Hz, J = 3.0 Hz, Ar-H), 3.59 (6H, s, O-CH₃), 2.96 (12H, s, N-CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 168.5 (s), 148.8 (s), 131.6 (d), 131.2 (s), 130.6 (s), 115.4 (d), 113.4 (d), 51.6 (q), 40.5 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 356.1735. C₂₀H₂₄N₂O₄ requires 356.1736

EP.2.9. Synthesis of 2,2'-bis(hydroxymethyl)-4,4'-bis(dimethylamino)-biphenyl (34)



Aminoester **33** (436 mg, 1.22 mmol) was introduced in a round bottom flask, provided with magnetic stirring. Dry diethyl ether (60 ml) was added. LiBH_4 (186 mg, 8.56 mmol) suspended on dry ether (20 ml) was added to the former suspension. The mixture was kept under reflux for 12 hours protected by an anhydrous CaCl_2 drying tube. After that time, the initial yellow suspension became a colourless and clear solution. Then, water (50 ml) was dropped and the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted twice with ethyl acetate (2 x 25 ml). All the organic phases were put together and dried over anhydrous Na_2SO_4 . They were concentrated until dryness, to yield a white solid, which was the expected product **34** (348 mg, 95%).

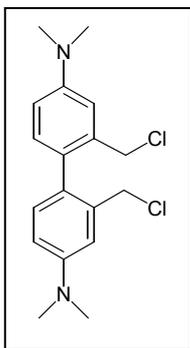
m.p.: 179-181°C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 3220 (OH), 2870 (CH), 1600 (Ar), 1480, 1340 (CN), 1200 (CN), 1010 (CO)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.02 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.84 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 6.70 (2H, dd, $J = 8.4$, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 4.40 (2H, AB, $J = 11.7$ Hz, Ar- CH_A), 4.28 (2H, AB, $J = 11.7$ Hz, Ar- CH_B) 2.99 (12H, s, N- CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 149.8 (s), 140.0 (s), 131.1 (d), 128.6 (s), 113.3 (d), 112.1 (s), 63.7 (t), 40.8 (q)

HRMS (EI): M^+ found 300.1839. $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ requires 300.1838

EP.2.10. Synthesis of 2,2'-bis(chloromethyl)-4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (30)

Diol **34** (358 mg, 1.19 mmol) was suspended in SOCl_2 (4 ml) in a 25 ml round bottom flask, provided with magnetic stirring. The reaction was kept stirred at room temperature and protected by a drying anhydrous CaCl_2 tube for 4 hours. The mixture of the reaction was poured thereafter over crushed ice (30 g). The aqueous solution was basified with Na_2CO_3 (10%) until the chloride **30** precipitated. The product was extracted with ethyl acetate (3 x 25 ml). The organic phases were collected together, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated. A white solid which corresponds to the expected chloride **30** (276 mg, 69%) was obtained.

m.p.: 128-132 °C

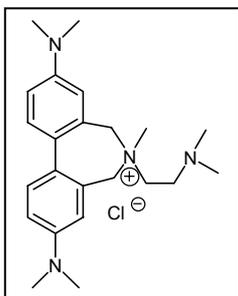
IR (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 2800 (CN), 1590 (Ar), 1340 (CN), 1200 (CN)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.10 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.86 (2H, d, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 6.72 (2H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 4.40 (2H, AB, $J = 11.0$ Hz, Ar- CH_A), 4.30 (2H, AB, $J = 11.0$ Hz, Ar- CH_B), 2.98 (12H, s, N- CH_3)

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 150.1 (s), 136.7 (s), 131.6 (d), 127.6 (s), 113.2 (d), 112.4 (d), 45.4 (t), 40.5 (q)

HRMS (EI): M^+ (^{35}Cl , ^{35}Cl) found 336.1153. $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{Cl}_2$ (^{35}Cl , ^{35}Cl) requires 336.1160

EP.2.11. Synthesis of 3,9-di(dimethylamino)-6-(2-dimethylaminoethyl)-6-methyl-6,7-dihydro-5H-dibenzo[c,e]azepinium chloride (35)



2,2'-bis(chloromethyl)-4,4'-bis(dimethylamino)biphenyl (30)

(144 mg, 0.43 mmol) was dissolved in distilled DMF (25 ml) in a round bottom flask. The mixture was heated, keeping magnetic stirring, and N,N,N'-trimethylethylenediamine (0.2 ml, 1.53 mmol) and K₂CO₃ (318 mg, 2.30 mmol) were added. The reaction was kept at 100°C for 5 hours. Raw reaction was filtered and DMF was removed by vacuum distillation. The residue was dried and a waxy, light sensitive product was obtained, which turned out to be the ammonium salt **35** (127 mg, 73%).

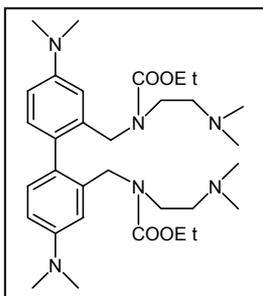
IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3412 (ArH), 2946 (CH), 2799, 1666, 1611 (Ar), 1503, 1464, 1354 (CN), 1209 (CN), 1129 (CN), 881, 811

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.47 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.02 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.5 Hz, Ar-H), 6.94 (2H, d, J = 2.5 Hz, Ar-H), 4.13, (2H, AB broad signal at 25°C, which got narrower at 45°C, J_{AB} (at 45°C) = 12.9 Hz, Ar-CH_A) 3.95 (2H, AB broad signal at 25°C, which got narrower at 45°C, J_{AB} (at 45°C) = 12.9 Hz, Ar-CH_B), 3.58 (2H, t, J = 6.3 Hz, (CH₃)₂N-CH₂-CH₂-), 3.26 (3H, s, (Ar-CH₂)₂-N(CH₃)-CH₂-), 3.03 (12H, s, Ar-N(CH₃)₂), 2.96-2.94 (2H, broad signal, (CH₃)₂N-CH₂-CH₂-), 2.36 (6H, s, (CH₃)₂N-CH₂-CH₂-)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 150.3 (s), 129.0 (s), 128.8 (d), 127.9 (s), 115.0 (d), 114.7 (d), 65.0 (t), 59.4 (t), 52.6 (t), 47.6 (q), 44.8 (q), 39.6 (q)

MS (EI): M⁺-CH₂=N-CH₃ (base peak) found 323.2. C₂₁H₂₉N₃ requires 323.2

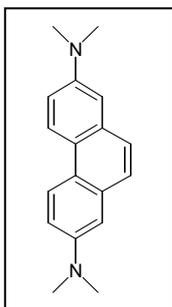
EP.2.12. Synthesis of 2,2'-bis(2-ethyloxycarbonyl-5-methyl-2,5,diazahexanyl)-4,4'-bis-(dimethylamino)-biphenyl (31)



N-ethyloxycarbonyl-N',N'-dimethylethylenediamine (**32**) (150 mg, 0.94 mmol) was dissolved in dry DMSO (3 ml) in a 25 ml round bottom flask, provided with magnetic stirring. NaH (60% in mineral oil, washed thrice with hexane) (100 mg, 2.5 mmol) dissolved in DMSO (3 ml) was dropped for 10 minutes under argon atmosphere. The reaction was stirred at room temperature for 2h. Compound **30** (170 mg, 0.49 mmol) dissolved in dry DMSO (3 ml) was added subsequently. The mixture was stirred, under argon atmosphere, for 2 days and maximum amount of DMSO was removed by distillation at low pressure afterwards. The raw mixture was purified by column of chromatography on alumina (ethyl acetate to ethyl acetate-methanol 1:2) first and after that, on silica (ethyl acetate to acetate methanol 1:2). Yellow oil (12 mg) was obtained which, even being not entirely pure, could be identified as **31**.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2928 (CH), 1697 (CO), 1609 (Ar), 1467, 1353 (CN), 1231 (CO), 809, 770

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.98 (2H, d, J = 8.5 Hz, Ar-H), 6.66 (2H, dd, J = 8.5 Hz, J = 2.5 Hz, Ar-H), 6.61 (2H, d, J = 2.5 Hz, Ar-H), 4.2-4.3 (2H, AB, Ar-CH_A), 4.2-3.9 (2H, AB, Ar-CH_B), 4.11 (4H, bq, O-CH₂-CH₃), 3.72 (4H, broad band, -CH₂-N(COOEt)-CH_{AB}-Ar), 2.95 (12H, s, Ar-N(CH₃)₂), 2.29 (4H, broad band, CH₂-N(CH₃)₂), 2.00 (12H, broad band, CH₂-N(CH₃)₂), 1.20 (6H, bt, O-CH₂-CH₃)

EP.2.13. Synthesis of N,N,N',N'-tetramethyl-2,7-phenanthrenediamine (36)**EP.2.13.1. Procedure 1:**

N,N,N'-trimethylethylenediamine (190 mg, 1.80 mmol) was introduced in a two-neck round bottom flask, provided with magnetic stirring. After purging the system with argon, dry THF (2 ml) was dropped from a syringe, and the flask was put into a dry ice - acetone bath. Once the temperature was -78°C , BuLi (1.2 ml, 1.92 mmol) was added. Temperature was increased till 0°C with an ice bath and, after 30 minutes, was decreased again until -78°C in order to add 2,2'-bis(chloromethyl)-4,4'-bis(dimethylamino)biphenyl (**30**) (300 mg, 0.89 mmol). Temperature was kept at -78°C for an hour and subsequently was raised until 0°C for another hour. Finally, reaction was left overnight at room temperature. The major identified product from the raw reaction was turned out to be **36**.

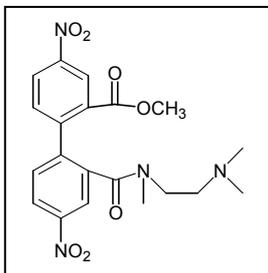
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.40 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, Ar-H), 7.55 (2H, s, Ar-H), 7.19 (2H, dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 7.02 (2H, d, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 3.06 (12H, s, N- CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 142.3 (s), 131.9 (s), 126.9 (d), 122.7 (d), 121.4 (s), 115.1 (d), 109.2 (d), 41.0 (q)

HRMS (EI): M^+ found 264.1636. $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2$ requires 264.1626

EP.2.13.2. Procedure 2

2,2'-bis(chloromethyl)-4,4'-bis(dimethylamino)biphenyl (**30**) (300 mg, 0.89 mmol) was introduced in a two-neck round bottom flask, provided with magnetic stirring. System was purged with argon, and dry THF (3 ml) was added. The flask was put on a dry ice-acetone bath. Once temperature was -78°C , BuLi (1.2 ml, 1.92 mmol) was added. Temperature was kept at -78°C for 1 hour. After that, it was increased until 0°C with an ice bath and finally, was left overnight at room temperature. The main product in the raw reaction was **36**.

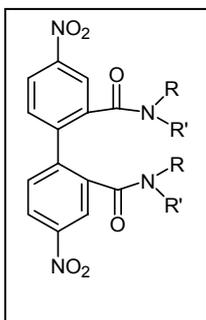
EP.2.14. Synthesis of 2-(methyloxycarbonyl)-2'-(N,N,N'-trimethylethylenediamine carbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (8)

2,2'-bis(methyloxycarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (**2**) (150 mg, 0.42 mmol) dissolved in dry dioxane (10 ml) was placed in a 25 ml round bottom flask. Subsequently, N,N,N'-trimethylethylenediamine (80 mg, 9.84 mmol) was added. The reaction was kept under reflux for 5 hours. The mixture of reaction was left to cool and solvent was removed by low pressure distillation in order to obtain a raw reaction, where **8** was identified as the major product (75%, from ^1H NMR spectrum).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 8.73 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 8.67 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 8.39 (1H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 8.25 (1H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.4$ Hz, Ar-H), 7.50 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.38 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 3.66 (3H, s, -OCH₃), 3.21 y 3.19 (3H, s, -CO-N(CH₃)-CH₂- anti and syn), 3.04 (2H, m, -CO-N(CH₃)-CH₂-), 2.64 (2H, m, -CO-N(CH₃)-CH₂-CH₂-), 2.32 (6H, s, -N(CH₃)₂)

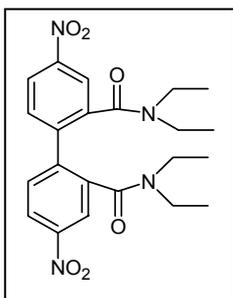
^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 171.1 (s), 165.6 (s), 147.5 (s), 147.1 (s), 146.9 (s), 146.3 (s), 140.2 (s), 139.8 (s), 131.6 (d), 130.5 (d), 125.8 (d), 124.4 (d), 123.4 (d), 123.1 (d), 63.6 (t), 51.9 (q), 45.9 (t), 44.1 (q), 33.0 (q), 33.9 (q)

EP.2.15. General procedure for the synthesis of 2,2'-(aminocarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl compounds



4,4'-Dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (ca. 500 mg, 1.50 mmol) was stirred in refluxing SOCl₂ (20 ml) for 3 hours. SOCl₂ was removed under *vacuum* and the remaining oil was washed with dry benzene (15 ml x 2) to obtain a clear brown oil. The oil was solved in benzene and dropped over a solution of the properly amine (see each case) (3.0 mmol) in benzene (35 ml) under argon atmosphere. The mixture was stirred for 10 hours to give a brownish solid (product as a HCl salt) which was filtered and dried under *vacuum* to yield a powder.

EP.2.15.1. Synthesis of 2,2'-bis(diethylaminecarbonil) - 4, 4'- dinitrobiphenyl (22, L9)



The general procedure described above (EP.2.15.) was followed. From 4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (536 mg, 1.61 mmol) and a mixture of diethylamine (238 mg, 3.26 mmol) and triethylamine (328 mg, 3.25 mmol), an orange powder was obtained. Product was purified through a chromatographic column of alumina, using CH₂Cl₂ as eluent to yield **22** (450 mg, 63%).

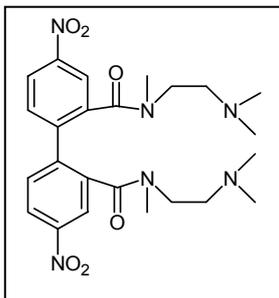
m.p.: 121-124 °C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3096 (ArH), 2969 (CH), 2933 (CH), 1639 (CO), 1524 (NO), 1348 (NO), 848, 744

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.26 (2H, d, J = 2.1 Hz, Ar-H), 8.25 (2H, dd, J = 9.0 Hz, J = 2.1 Hz, Ar-H), 7.65-7.55 (2H, bs, Ar-H), 3.35-3.6 (4H, bs, CH₂), 3.35-3.20 (4H, bs, CH₂), 1.2-1.0 (12H, t (J = 7.04 Hz) and 1 bs, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 167.7 (s), 148.1 (s), 141.7 (s), 139.2 (s), 131.8 (d), 123.8 (d), 122.6 (d), 43.7 (t), 39.6 (t), 14.5 (q), 12.8 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 442.1887. C₂₂H₂₆N₄O₆ requires 442.1852

EP.2.15.2. Synthesis of 2,2'-bis(N,N,N'-trimethylethylenediaminecarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (3,L1) · 2HCl

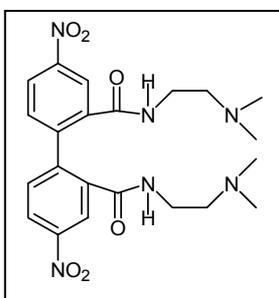
The general procedure described above (EP.2.15.) was followed. From 4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (513 mg, 1.54 mmol) and N,N,N'-trimethylethylenediamine (**4**) (330 mg, 3.13 mmol), a white powder of **3** · 2HCl (528 mg, 64%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2960 (CH), 2694(NH), 1635 (CO), 1524 (NO), 1350 (NO), 1295 (CN)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.57 (2H, d, J = 1.8 Hz, Ar-H), 8.45 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 1.8 Hz, Ar-H), 7.71 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.7-3.9 (2H, m, CONCH₂) 3.50 (4H, m, CH₂), 3.45-3.25 (2H, m, CONCH₂) 2.99 and 2.80 (6H, ds, CH₃), 2.94 and 2.91 (12H, ds, CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 169.8 (s), 148.2 (s), 142.1 (s), 136.0 (s), 132.3 (d), 124.6 (d), 123.0 (d), 54.4 (t), 52.9 (t), 42.8 (q), 36.9 (q), 32.8 (q)

HRMS (FAB): M⁺- H found 501.2482. C₂₄H₃₃N₆O₆ requires 501.2461.

EP.2.15.3. Synthesis of 2,2'-bis(N,N -dimethylethylenediaminecarbonyl) - 4, 4'-dinitrobiphenyl (18, L5) · 2HCl

The general procedure described above (EP.2.15.) was followed. From 4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (300 mg, 0.90 mmol) and N,N-dimethylethylenediamine (**19**) (168 mg, 1.81 mmol), a brownish powder of **18** · 2HCl (320 mg, 65%) was obtained.

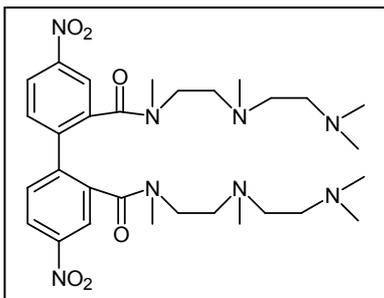
IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3411 (NH), 3043 (CH), 2940 (CH), 1653 (CO), 1523 (NO), 1351 (NO), 833 (CN)

¹H NMR (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 8.74 (2H, t, J = 5.7 Hz, N-H), 8.55 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 8.32 (2H, dd, J = 8.7 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.58 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH), 3.53 (4H, q, J = 6 Hz, -CH₂), 3.5-3.0 (4H, m, -CH₂), 2.71 (12H, s -CH₃)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 169.0 (s), 147.9 (s), 144.0 (s), 136.2 (s), 131.5 (d), 124.9 (d), 122.9 (d), 56.7 (t), 42.9 (q), 35.0 (t)

HRMS (EI): M⁺-2H found 472.2069. C₂₂H₂₈N₆O₆ requires 472.2070

EP.2.15.4. Synthesis of 2,2'-bis(2,5-dimethyl-2, 5, 8- triazanonanecarbonyl) - 4, 4'-dinitrophenyl (12, L4) · 2HCl



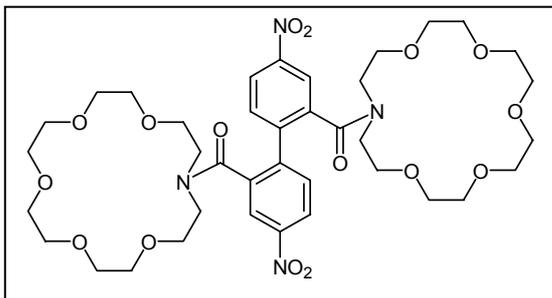
The general procedure described above (EP.2.15.) was followed. From 4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (151 mg, 0.45 mmol) and 2,5-dimethyl-2,5,8-triazanonane (**13**) (152 mg, 0.96 mmol), a brownish powder of **12 · 2HCl** (210 mg, 68%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2962 (CH), 2677 – 2462 (NH), 1635 (CO), 1523 (NO), 1348 (NO)

¹H NMR (400 MHz, D₂O+CF₃COOH) δ (ppm): 8.3-8.1 (2H, m, Ar-H), 7.47 (1H, d, J = 7.9 Hz, Ar-H), 7.35 (1H, d, J = 7.9 Hz, Ar-H), 7.3-7.1 (2H, m, Ar-H), 3.6-3.1 (16H, 3xbs, -CH₂), 2.9-2.5 (24H, m, -CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O+CF₃COOH, mixture of rotamers) δ (ppm): 170.0 (s), 167.5 (s), 147.4 (2C, s), 141.5 (2C, s), 134.7 (s), 131.3 (s), 131.1 (d), 128.8 (2C, d), 125.4 (d), 125.1 (s), 124.9 (d), 123.0 (d), 53.2 (t), 50.6 (t), 50.5 (t), 43.4 (t), 43.3 (q), 40.6 (q), 40.4 (q), 37.3 (q), 33.2 (q)

MS (EI): M⁺-2H found 614.37. C₃₀H₄₆N₈O₆ requires 614.35

EP.2.15.5. Synthesis of 2,2'-bis(1-aza-18-crown-6-carbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (20, L2)

4,4'-dinitro-2,2'-diphenic acid (**1**) (63 mg, 0.19 mmol) was stirred in refluxing SOCl_2 (15 ml) for 3 hours. After removal of the SOCl_2 under *vacuum* and washing with dry benzene twice, a clear brown oil was obtained. The oil was dissolved in benzene (30 ml) and dropped over a

stirred solution of 1-aza-18-crown-6 (**21**) (105 mg, 0.38 mmol) and triethylamine (39 mg, 0.38 mmol) in benzene (30 ml) under an argon atmosphere. The resulting solution was stirred overnight at room temperature, the reaction mixture filtered and the filtrate washed with water (3 x 2 ml), dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated to yield **20** (99.1 g, 63%) as a brown oil.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 2867 (CH), 1633 (CO), 1523 (NO), 1349 (NO), 1113 (CO)

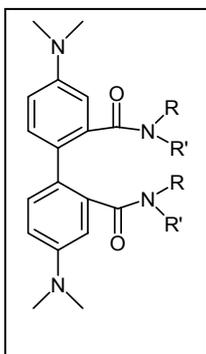
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.33 (2H, d, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 8.29 (2H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.7$ Hz, Ar-H), 7.74 (2H, dd, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 3.7-3.5 (48H, m broad band, $-\text{CH}_2-$ linked to O and N)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 168.2 (s), 147.3 (s), 141.3 (s), 138.2 (d), 131.2 (d), 123.2 (2C, d, s), 71.2 (t), 70.7-70.2 (several C, t), 68.7 (t), 50.0 (t), 45.0 (t)

HRMS (EI): $\text{M}^+ + 1$ found 823.3643. $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{N}_4\text{O}_{16}$ requires 823.3613

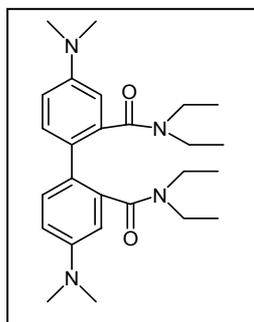
UV (CH_3CN): $\lambda_{\text{max}} = 293$ nm, $\epsilon = 17398$

EP.2.16. General procedure for the synthesis of 2,2'-bisamide-4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl compounds



An heterogeneous mixture of the corresponding 2,2'-bisamide -4,4'-dinitrobiphenyl compound (ca. 200 mg) (previously deprotonated by a basic extraction with NaHCO₃ and EtOAc), formaldehyde (0.3 ml, 30% solution in H₂O) and 10% Pd-C (100 mg) in absolute ethanol (60 ml) was stirred under H₂ atmosphere (3.4 atm) at room temperature for 36 hours. The reaction mixture was filtered, the ethanolic filtrate concentrated and the crude reaction product purified by column chromatography through neutral alumina (see each case for the eluents), leading to a green fluorescent cereous solid (except for **28** which was a white solid).

EP.2.16.1. Synthesis of 2,2'-bis(N,N-diethylaminecarbonyl)-4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (28**,L10)**



The general procedure described above (EP.2.16.) was followed and the crude reaction product was purified by column chromatography through neutral alumina from pure CH₂Cl₂ until CH₂Cl₂:MeOH (75:5) as eluents. From 2,2'-bis(diethylaminecarbonyl) - 4, 4'- dinitrobiphenyl (**22**) (386 mg, 0.87 mmol), **28** (228 mg, 60%) was obtained as a white powder.

m.p.: 164 - 166 °C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2966 (ArH), 2928 (CH), 1630 (CO), 1608 (Ar), 1486 (CN), 1428 (CN), 809

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.04 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 6.53 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.7 Hz, Ar-H), 6.49 (2H, d, J = 2.7 Hz, Ar-H), 3.8-3.6 (2H, m, CH_{AB}), 3.5-3.3 (2H, m, CH_{CD}), 3.1-2.9 (4H, m, CH_{AB}, CH_{CD}), 2.83 (12H, s, CH₃), 0.97 (6H, t, J = 7.0 Hz, CH_{AB}CH₃), 0.90 (6H, t, J=7.0 Hz, CH_{CD}CH₃)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.8 (s), 149.3 (s), 137.6 (s), 130.9 (d), 125.0 (s), 112.7 (d), 110.7 (d), 42.9 (t), 40.7 (q), 38.4 (t), 14.1 (q), 12.5 (q)

HRMS (EI): M^+ found 438.3013. $C_{26}H_{38}N_4O_2$ requires 438.2995

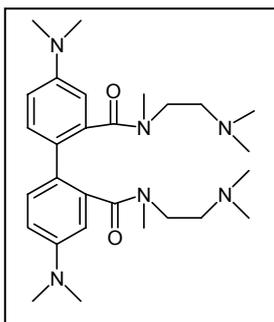
UV (CH_3CN): $\lambda_{max} = 294$ nm, $\epsilon = 27306$

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH_3CN): $\lambda_{em} = 478$ nm at $\lambda_{exc} = 340$ nm

QUANTUM YIELD (CH_3CN): 0.041 (quinine sulphate in 1M H_2SO_4)

LIFETIME OF THE GROUND EXCITED STATE (CH_3CN): 2.3 ns

EP.2.16.2. Synthesis of 2,2'-bis(N, N, N'-trimethylethylendiaminecarbonyl) - 4, 4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (24, L3)



The general procedure described above (EP.2.16.) was followed and the crude reaction was purified by column chromatography through neutral alumina with $CH_2Cl_2:AcOEt$ (8:2) as eluents. From 2,2'-bis(N,N,N',-trimethylethylendiaminecarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (**3**) (199 mg, 0.35 mmol), **24** (125 mg, 72%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 2952 (CH), 1605 (CO), 1411 (CN)

1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7.10 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.77 (2H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.8$ Hz Ar-H), 6.69-6.67 (2H, d, $J = 2.8$ Hz, Ar-H), 3.8-3.4 (2H, bs, $CONCH_2$), 3.30 (2H, m, $CONCH_2$), 2.97 (12H, s, CH_3), 2.91 (6H, bs, CH_3), 2.89 (2H, m, CH_2), 2.47 (2H, m, CH_2), 2.29 (12H, s, CH_3)

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 172.8 (s), 149.6 (s), 136.5 (s), 130.8 (s), 124.8 (s), 112.9 (d), 110.47 (d), 56.6 (t), 55.3 (t), 44.6 (q), 39.4 (q), 37.0 (q)

HRMS (EI): $M^+ + 1$ found 497.3580. $C_{28}H_{45}N_6O_6$ requires 497.3604

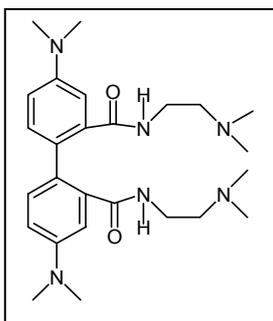
UV (CH_3CN): $\lambda_{max} = 290$ nm, $\epsilon = 18180$; shoulder at $\lambda = 330$ nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH_3CN): $\lambda_{em} = 482$ nm at $\lambda_{exc} = 340$ nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.041 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

LIFETIME OF THE GROUND EXCITED STATE (CH₃CN): 2.0 ns

EP.2.16.3. Synthesis of 2,2'-bis(N,N-dimethylethylendiaminecarbonyl)-4,4'-bis-(dimethylamine)-biphenyl (25,L7)



The general procedure described above (EP.2.16.) was followed and the crude reaction product was purified by column chromatography through neutral alumina with AcOEt:MeOH (1:1) as eluents. From 2,2'-bis(N, N, dimethylethylendiaminecarbonyl) - 4, 4'- dinitrobiphenyl (**18**) (203 mg, 0.43 mmol), **25** (138 mg, 68%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3247 (NH), 2943 (CH), 1639 (CO), 1602 (Ar), 1495 (CN), 1353 (CN), 810

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.69 (2H, t, CON-H), 7.09 (2H, dd, J = 8.5 Hz, J = 1.77 Hz, Ar-H), 6.88 (2H, bs, Ar-H), 6.71 (2H, dd, J = 8.5 Hz, Ar-H), 3.7 – 3.4 (2H, bs, CONHCH_{AB}), 3.3 – 3.1 (2H, bs, CONHCH_{AB}), 2.98 (12H, s, ArN(CH₃)₂), 2.5-2.3 (4H, bs, CH₂), 2.25 (12H, s, CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.1 (s), 149.5 (s), 137.2 (s), 131.6 (d), 126.3 (s), 113.2 (d), 110.8 (d), 57.6 (t), 44.5 (q), 40.5 (q), 36.2 (t)

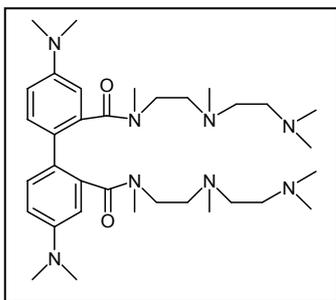
HRMS (EI): M⁺ found 468.3275. C₂₆H₄₀N₆O₂ requires 468.3213

UV (CH₃CN): λ_{\max} = 280 nm, ϵ = 15338; shoulder at λ = 336 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 473 nm at λ_{exc} = 340 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.035 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

LIFETIME OF THE GROUND EXCITED STATE (CH₃CN): 3.1 ns

EP.2.16.4. Synthesis of 2,2'-bis(2,5-dimethyl-2,5,8-triazanonanecarbonyl) - 4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (26,L8)

The general procedure described above (EP.2.16.) was followed and the crude reaction product was purified by column chromatography through neutral alumina with AcOEt:MeOH (8:2) as eluents. From 2,2'-bis(2,5-dimethyl-2,5,8-triazanonanecarbonyl)-4,4'-dinitrobiphenyl (**12**) (448 mg, 0.73 mmol), **26** (325 mg, 73%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2941 (CH), 1668 (CO), 1606 (Ar), 1495 (CN), 1354 (CN)

¹H NMR (400 MHz, D₂O+CF₃COOH) δ (ppm): 7.62 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.62 (2H, dd, J = 9.2 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.35 (2H, d, J = 9.2 Hz, Ar-H), 3.6-3.2 (12H, dbs, CH₂), 3.26 (4H, bs, CONCH₂), 3.13 (12H, s, Ar-N (CH₃)₂), 2.78 (6H, s, CH₃), 2.76 (12H, s, CH₃), 2.74-2.65 (6H, bs, CON(CH₃))

¹³C NMR (100 MHz, D₂O+CF₃COOH) δ (ppm): 170.3 (s), 142.3 (s), 137.2 (s), 136.0 (s), 132.6 (d), 122.4 (d), 120.2 (d), 53.2 (t), 50.7 (t), 49.8 (t), 46.3 (t), 43.4 (q), 42.3 (q), 40.6 (q), 39.9 (q), 37.3 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 610.4612. C₃₄H₅₈N₈O₂ requires 610.4683

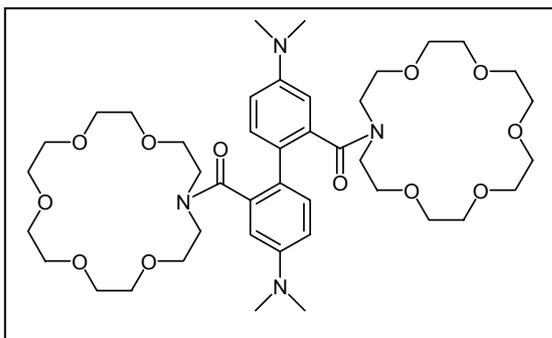
UV (CH₃CN): λ_{\max} = 295 nm, ϵ = 23059; shoulder at λ =333 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 483 nm at λ_{exc} = 340 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.035 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

LIFETIME OF THE GROUND EXCITED STATE (CH₃CN): 2.1 ns

EP.2.16.5. Synthesis of 2,2'-bis(1-aza-18-crown-6-carbonyl)-4,4'-bis(dimethylamino)-biphenyl (27, L6)



The general procedure described above (EP.2.16.) was followed and the crude reaction product was purified by column chromatography through neutral alumina with AcOEt:MeOH (9:1) as eluents.

From 2,2'-bis(1-aza-18-crown-6-carbonyl)-4,4'-dinitrophenyl (**20**) (300 mg, 0.36 mmol), **27** (150 mg, 50%) was obtained

as a green oil, that eventually solidified.

m.p. 49-54°C.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2901 (CH), 2874, 1626 (CO), 1605 (Ar), 1468, 1352, 1112 (CO), 948

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.17 (2H, d, J = 8.5 Hz, Ar-H), 6.64 (2H, dd, J = 8.5 Hz, J = 2.6 Hz, Ar-H), 6.59 (2H, d, J = 2.6 Hz, Ar-H), 3.8-3.4 (48H, bm, -CH₂-linked to O and N), 2.93 (12H, s, -N(CH₃)₂)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 174.4 (s), 149.2 (s), 137.1 (s), 130.8 (d), 125.0 (s), 112.7 (d), 111.2 (d), 71.1 (t), 70.9 (t), 70.7 (t), 70.6 (t), 70.4 (t), 68.9 (t), 49.5 (t), 45.3 (t), 40.6 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 818.4690. C₄₂H₆₆N₄O₁₂ requires 818.4677

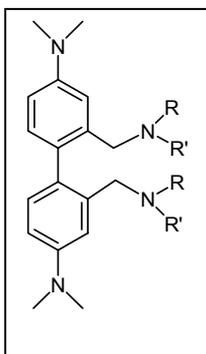
UV (CH₃CN): λ_{\max} = 295 nm, ϵ = 29600; shoulder at λ = 333 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 486 nm at λ_{exc} = 340 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.079 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

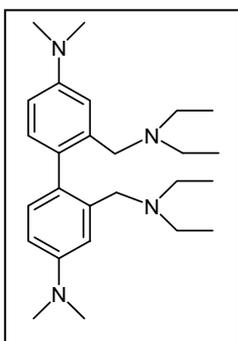
LIFETIME OF THE GROUND EXCITED STATE (CH₃CN): 3.581 ns

EP.2.17. General procedure for the synthesis of 2,2'-bisamine-4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl compounds



Properly 2,2'-bisamide-4,4'-bis(dimethylamine)biphenyl (ca. 250 mg) was dissolved in dry THF (20 ml) in a round bottom flask provided of a stirrer and under argon atmosphere. $\text{BH}_3\text{-THF}$ (ca. 1.0 M in THF) (10 ml, 10 mmol) was dropped to the stirred solution at room temperature. After 24 hours, more $\text{BH}_3\text{-THF}$ (10 ml, 10 mmol) was added and the reaction was stirred for a further 24 hours. H_2O was cautiously dropped until effervescence was over. HCl (6M) (2 ml) was added afterwards and the solution was stirred for 4 hours at room temperature. NaOH in pellets was added then until pH was ca. 9 and the latter solution was extracted in continuous with CHCl_3 during 48 hours. After drying over sodium sulphate and distillation of solvent the product was obtained.

EP.2.17.1. Synthesis of 2,2'-bis(N,N-diethylaminemethylen) - 4, 4'- bis(dimethylamine)-biphenyl (**41**, L12)



General procedure described above (EP.2.17.) was followed and the crude reaction product was washed 3 times with dry hexane (3x30 ml). After the work up of the collected hexane fractions, a thick brown oil (129 mg) was obtained (molar ratio of **41** in the oil, on NMR bases, 51%). From **28** (104 mg, 0.23 mmol), **41** (66 mg, 70 %) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 2928 (CH), 1610 (Ar), 1503 (CN), 1355 (CN), 811

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.18 (2H, d, $J = 2.8$ Hz, Ar-H), 6.97 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.67 (2H, dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.8$ Hz, Ar-H), 3.29 (4H, s, ArCH_2N), 3.03 (12H, s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.44 (8H, q, $J = 7.1$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 0.97 (12H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C NMR}$ (HSQC and HBQC) (125 MHz, CH_3OD) δ (ppm): 150 (s), 138 (s), 131(d), 130.5 (s), 113 (d), 111 (d), 54 (t), 47 (t), 39 (q), 10 (q)

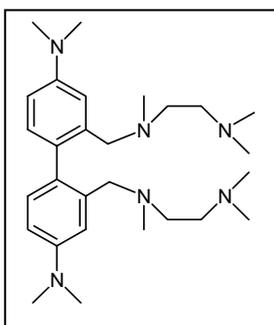
HRMS (EI): M^+ found 410.3340. $C_{26}H_{42}N_4$ requires 410.3409

UV (CH_3CN): λ_{max} = 269 nm, ϵ = 27781; shoulder at λ =310 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH_3CN): λ_{em} = 359 nm at λ_{exc} = 300 nm

QUANTUM YIELD (CH_3CN): 0.061 (quinine sulphate in 1M H_2SO_4)

EP.2.17.2. Synthesis of 2,2'-bis(N, N, N'-trimethylethylendiaminemethylen) - 4, 4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (29, L13)



General procedure described above (EP.2.17.) was followed and the crude reaction product was washed 3 times with dry CH_3CN (3x30 ml). The remaining residue was dried by distillation under vacuum to obtain a thick brown oil (215 mg) (molar ratio of **29** in the oil, on NMR bases, 99%). From **24** (250 mg, 0.50 mmol), **29** (213 mg, 91%) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 2943 (CH), 2813, 1608 (Ar), 1495 (CN), 1459 (CN), 1347 (CN), 809

1H NMR (400 MHz, D_2O + CF_3COOH) δ (ppm): 7.77 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.60 (2H, dd, J = 8.5 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.38 (2H, d, J = 8.5 Hz, Ar-H), 4.36 (2H, d, J = 13.4 Hz, $ArCH_2N$), 3.50 (2H, d, J = 13.4 Hz, $ArCH_2N$), 3.30-3.26 (8H, m, NCH_2CH_2N), 3.04 (12H, s, $ArN(CH_3)_2$), 2.59 (12H, s, $CH_2N(CH_3)_2$), 2.23 (6H, s, $N(CH_3)$)

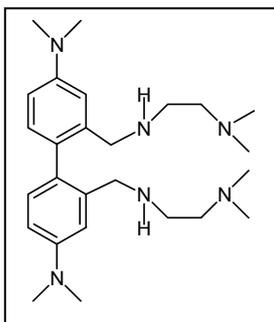
^{13}C NMR (100 MHz, D_2O + CF_3COOH) δ (ppm): 143.3 (s), 140.4 (s), 133.6 (d), 129.8 (s), 123.4 (d), 123.1 (d), 56.6 (t), 50.8 (t), 49.33 (t), 46.1 (q), 43.2 (q), 39.1 (q)

HRMS (EI): M^+ found 468.3986. $C_{28}H_{48}N_6$ requires 468.3940

UV (CH_3CN): λ_{max} = 268 nm, ϵ = 19944; shoulder at λ =310 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH_3CN): λ_{em} = 361 nm at λ_{exc} = 300 nm

QUANTUM YIELD (CH_3CN): 0.036 (quinine sulphate in 1M H_2SO_4)

EP.2.17.3. Synthesis of 2,2'-bis(N, N –dimethylethylenediaminemethylen) - 4, 4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (38, L14)

General procedure described above (EP.2.17.) was followed and the crude reaction product was washed 3 times with dry CH₃CN (3x30 ml). The remaining residue was dried by distillation under vacuum to obtain a thick brown oil (93 mg) (molar ratio of **38** in the oil, on NMR bases, 85%). From **25** (441 mg, 1.06 mmol), **38** (49 mg, 34 %) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2927 (CH), 2854, 1609 (Ar), 1498 (CN), 1459 (CN), 1353 (CN), 1129, 1061, 810

¹H NMR (400 MHz, D₂O + CF₃COOH) δ (ppm): 7.9-7.0 (6H, m, Ar-H), 4.5-3.4 (4H, tm, ArCH₂N), 3.4-3.1 (4H, m, NCH₂), 3.04 (18H, s, ArN(CH₃)₂, N(CH₃)₂), 2.85 (2H, m, NCH₂), 2.59 (6H, s, N(CH₃)₂), 2.28 (2H, t, J=16.4, NH), 1.0-0.8 (2H, m, NCH₂)

¹³C NMR (HBQC) (100 MHz, D₂O + CF₃COOH) δ (ppm): 142 (s), 140 (s), 133 (d), 129 (s), 123 (d), 121 (d), 56 (t), 51 (t), 50 (t), 48 (t), 46 (q), 44 (q), 43 (q)

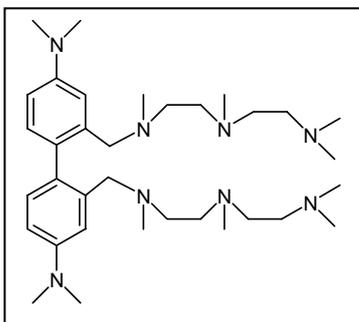
HRMS (EI): M⁺ found 440.3612. C₂₆H₄₄N₆ requires 440.3627

UV (CH₃CN): λ_{\max} = 271 nm, ϵ = 17272; shoulder at λ =313 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 367 nm at λ_{exc} = 300 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.054 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

EP.2.17.4. Synthesis of 2,2'-bis(2,5-dimethyl-2,5,8-triazanonanemethylen) - 4,4'-bis(dimethylamine)-biphenyl (39, L15)



General procedure described above (EP.2.17.) was followed and the crude reaction product was washed 3 times with dry CH₃CN (3x30 ml). The remaining residue was dried by distillation under vacuum to obtain a thick brown oil (177 mg) (molar ratio of **39** in the oil, on NMR bases, 72%). From **26** (302 mg, 0.49 mmol), **39** (128 mg, 45 %) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2943 (CH), 2858, 1610 (Ar), 1496 (CN), 1464 (CN), 1353 (CN), 811

¹H NMR (400 MHz, D₂O + CF₃COOH) δ (ppm): 7.6-7.1 (6H, 5m, ArH), 4.1-3.8 (2H, m, Ar-CH₂N), 3.7-3.5 (2H, m, Ar-CH₂N), 3.2-2.8 (16H, m, 2x CH₂ and ArN(CH₃)₂), 2.7-2.5 (10H, m, 2x CH₂ and 2 x CH₃), 2.48-2.40 (4H, m, 2 x CH₂), 2.25-2.20 (16H, m, 2xCH₂ and 4xCH₃), 1.82 (6H, s, 2x CH₃)

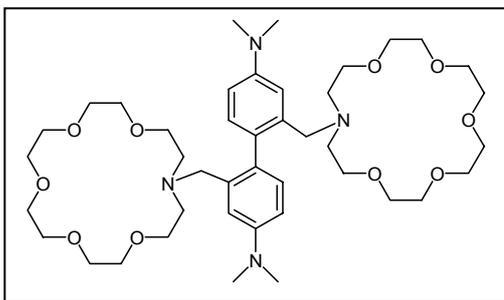
¹³C NMR (100 MHz, D₂O + CF₃COOH) δ (ppm): 142.3 (s), 139.1 (s), 132.2 (d), 128.7 (s), 123.5 (d), 121.8 (d), 55.5 (t), 53.0 (t), 50-49 (m), 47.4 (q), 44.8 (q), 42.0 (q), 38.0 (q)

HRMS (EI): M⁺ found 582.5070. C₃₄H₆₂N₈ requires 582.5097

UV (CH₃CN): λ_{\max} = 267 nm, ϵ = 21721; shoulder at λ =310 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 363 nm at λ_{exc} = 300 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.038 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

EP.2.17.5. Synthesis of 2,2'-bis(1-aza-18-crown-6-methylen)-4,4'-bis(dimethyl-amine)-biphenyl (40, L11)

General procedure described above (EP.2.17.) was followed and the crude reaction product was washed 3 times with dry hexane (3x30 ml). The collected hexane fractions were dried with sodium sulphate and distillation, and a thick brown oil (189 mg) was obtained (molar ratio of **40** in the oil, on NMR

bases, 52%). From **27** (193 mg, 0.23 mmol), **40** (98 mg, 54 %) was obtained.

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2940 (CH), 2870, 1607 (Ar), 1495 (CN), 1352 (CN), 1113 (CO), 807

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.09 (2H, d, J = 2.8 Hz, Ar-H), 6.91 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 6.62 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.8 Hz, Ar-H), 3.69-3.64 (24H, m, OCH₂), 3.60 (8H, m, OCH₂), 3.51 (8H, m, NCH₂CH₂O), 3.33 (4H, d, J = 8.0 Hz, ArCH₂N), 2.99 (12H, s, N(CH₃)₂), 2.69 (8H, t, J=5.9 Hz, NCH₂CH₂O)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 147.9 (s), 137.7 (s), 129.9 (d), 128.4 (s), 111.8 (d), 109.5 (d), 69.8-69.1 (t), 56.7 (t), 53.1 (t), 39.7 (q), 29.3 (t)

HRMS (EI): M⁺ found 790.5064. C₄₂H₇₀O₁₀N₄ requires 790.5092

UV (CH₃CN): λ_{\max} = 270 nm, ϵ = 42135; shoulder at λ =310 nm

EMISSION OF FLUORESCENCE (CH₃CN): λ_{em} = 362 nm at λ_{exc} = 300 nm

QUANTUM YIELD (CH₃CN): 0.057 (quinine sulphate in 1M H₂SO₄)

EP.3. METALLIC COMPLEXES

EP.3.1 GENERAL PROCEDURE TO SYNTHESIZE METALLIC COMPLEXES.

Ligand (1 equivalent) was dissolved in methanol or acetonitrile (depending on the ligand), and cation (1 equivalent) was added dissolved in the same solvent (always, the amount of solvent was the minimum). Solution was stirred during 1 hour, and afterwards, solvent was evaporated, giving the desired complexes, which were dried under *vacuum*.

EP.3.2. COMPLEXES WITH L1

General procedure was followed in order to achieve the complexes.

EP.3.2.1. L1· Cd I₂

Appearance: Yellowish-green crystalline solid.

m.p.: 135 °C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3481, 3027, 2730, 1607 (CO), 1523 (NO), 1348 (NO)

EP.3.2.2. L1· Cd (NO₃)₂

Appearance: Deep yellow crystalline solid

m.p.: 130°C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3482, 3033, 2741, 1637(CO), 1525 (NO), 1350 (NO)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.51 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 8.45 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.72 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.6-3.9 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_A-), 3.50 (4H, m, CO-N(CH₃)-CH_{AB}-CH₂-), 3.45-3.25 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_B-), 3.00 and 2.8 (6H, ds, CO-N(CH₃)-CH_{AB}- syn and anti), 2.95 y 2.90 (12H, ds, -N(CH₃))

EP.3.2.3. L1 · [HgI₂]₂**Appearance:** Pale yellow crystalline solid. Granulated texture**m.p.:** 115-117°C**IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹):** 3464, 3027, 2716, 1607 (CO), 1523 (NO), 1348 (NO)**¹H NMR** (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 8.47 y 8.45 (4H, m, Ar-H), 7.71 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.5-3.7 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_A-), 3.45-3.25 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_B-), 2.9 (6H, bm, CO-N(CH₃)-CH_{AB}- syn and anti), 2.85 (4H, bm, CO-N(CH₃)-CH_{AB}-CH₂-), 2.19 (12H, bs, -N(CH₃))**Elementary Analysis (%):** Calculated for C₂₄ H₃₂ N₆ O₆ · 2 (HgI₂)

	C	H	N
Calculated:	20.44	2.27	5.96
Found:	20.65	2.49	5.94

EP.3.2.4. L1 · Pb (NO₃)₂**Appearance:** White crystalline solid. Granulose texture**m.p.:** 320°C**IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹):** 3420, 3021, 2715, 1635 (CO), 1524 (NO), 1351 (NO)**EP.3.2.5. L1 · Cu (AcO)₂****Appearance:** Turquoise crystalline solid**m.p.:** 135°C**IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹):** 3422, 2932, 2680, 1634 (CO), 1523 (NO), 1461, 1412, 1348 (NO)

EP.3.2.6. L1·Zn (AcO)₂

Appearance: yellow cereous solid

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3489, 3034, 2737, 1635 (CO), 1524 (NO), 1349 (NO)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.52 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 8.44 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 7.70 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.6-3.9 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_A-), 3.45-3.25 (2H, AB, broad band, CO-N(CH₃)-CH_B-), 2.71 (4H, m, CO-N(CH₃)-CH_{AB}-CH₂-), 2.93 y 2.55 (6H, ds, CO-N(CH₃)-CH_{AB}- syn and anti), 2.86 and 2.47 (12H, ds, -N(CH₃))

Elementary Analysis (%): Calculated for C₂₄ H₃₂ N₆ O₆ · 2 (Zn (CH₃COO)Cl) · ½ HCl

	C	H	N	Cl
Calculated:	40.01	4.59	10.02	10.70
Found:	39.65	5.65	10.28	11.38

EP.3.3. COMPLEXES WITH L2

General procedure was followed in order to achieve the complexes.

EP.3.3.1. L2·Cd(NO₃)₂

Appearance: Yellow wax

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2873, 1635 (CO), 1524 (NO), 1456, 1351 (NO), 1250, 1176 (CO), 1096, 1047, 1032, 742, 639 (CO)

¹H NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 8.41 (2H, m, Ar-H), 8.31(2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2 Hz, Ar-H), 7.62 (2H, Ar-H), 4.10-3.50 (48H, m, broad band, -CH₂- linked to O and N)

¹³C NMR (75 MHz, CH₃CN) δ (ppm): 170.0 (s), 149.3 (s), 142.7 (bs), 139.2 (bs), 132.6 (bs), 124.7 (d), 124.6 (d), 73.0 (bs), 71.7 (t), 71.6 (t), 71.2 (t), 71.0 (t), 70.9 (t), 70.8 (t), 70.5 (t), 70.2 (t), 67.2 (t), 50.9 (bs), 47.4 (t)

MS (Electrospray): M⁺ found 467.8. C₃₈H₅₄N₄O₁₆Cd requires 468.1

EP.3.3.2. L2·Zn(NO₃)₂**Appearance:** Yellow wax**IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2874, 1653, 1635 (CO), 1525 (NO), 1351 (NO), 1260 (CO), 1159, 1112, 1097, 1047, 1032, 640**¹H NMR** (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 8.34 (2H, bs, Ar-H), 8.31 (2H, dd, J = 8.4 Hz, J = 2 Hz, Ar-H), 7.73 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 3.80-3.40 (48H, m, broad band, -CH₂- linked to O and N)**¹³C NMR** (75 MHz, CH₃CN) δ (ppm): 149.1 (s), 132.0 (bs), 127.2 (d), 124.6 (d), 71.8 (t), 71.7 (t), 71.6 (t), 71.5 (t), 71.5 (t), 71.4 (t), 71.4 (t), 71.2 (t), 71.0 (t), 69.2 (bs), 49.4 (t), 48.3 (t), 47.4 (t)**MS** (Electrospray): M⁺ found 442.9. C₃₈H₅₄N₄O₁₆Zn requires 443.1**EP.3.4. COMPLEXES WITH L6****EP.3.4.1. L6·Cd(NO₃)₂****Appearance:** Yellow wax**IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2903, 2872, 1653 (CO), 1603 (Ar), 1472, 1352, 1252, 1178, 1112 (CO), 1031, 945, 668**¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.00 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 6.82 (2H, dd, J = 8.6 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 6.67 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 4.0-3.4 (48H, m broad band, -CH₂- linked to O and N), 2.97 (12H, s, -N(CH₃)₂)**¹³C NMR** (75 MHz, CH₃CN) δ (ppm): 175.9 (s), 151.1 (s), 136.1 (s), 132.0 (d), 125.8 (s), 115.0 (d), 111.5 (d), 73.7 (t), 72.9 (t), 72.8 (t), 72.7 (t), 71.9 (t), 70.9 (t), 70.8 (t), 70.7 (t), 70.6 (t), 70.4 (t), 70.2 (t), 69.9 (t), 52.1 (t), 47.0 (t), 41.1 (q)**MS** (Electrospray): M⁺ found 465.9. C₄₂H₆₆N₄O₁₂Cd requires 466.2

EP.3.4.2. L6·Zn(NO₃)₂

Appearance: Amorphous yellow crystals

mp: 156-160°C

IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2903, 2872, 1653 (CO), 1607 (Ar), 1473, 1352, 1251, 1112 (CO), 945

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.10 (2H, d, J = 8.6 Hz, Ar-H), 6.86 (2H, dd, J = 8.6 Hz, J = 2.4 Hz, Ar-H), 6.77 (2H, d, J = 2.4 Hz, Ar-H), 3.95-3.40 (48H, m broad band, -CH₂- linked to O and N), 2.99 (12H, s, -N(CH₃)₂)

¹³C NMR (75 MHz, CH₃CN) δ (ppm): 176.4 (s), 151.0 (s), 135.2 (s), 132.2 (d), 125.5 (s), 115.4 (d), 111.5 (d), 71.7 (t), 71.7 (t), 71.6 (t), 71.5 (t), 71.4 (t), 69.6 (t), 69.0 (t), 52.9 (t), 47.5 (t), 41.1 (q)

MS (Electrospray): M⁺ found 441.1. C₄₂H₆₆N₄O₁₂Zn requires 441.2

4. STRUCTURAL DETERMINATION OF L1 · 2 HCl AND HgI₂.

4.1. CRYSTAL GROWTH

L1·2HCl (20.7 mg, 0.036 mmols) was dissolved in the minimum volume of methanol and was dropped into a branch of a H-shaped tube. Similarly, HgI₂ (19.5 mg, 0.043 mmol) were placed in the other branch. The tube was carefully filled up with methanol until both branches were connected, and the branches then sealed by a cork stopper. After one month, pale green crystals were obtained in the horizontal branch. They were collected, dried and their X-Ray diffraction was measured.

4.2. X-RAY CRYSTAL STRUCTURE DETERMINATION OF C₂₄H₃₄Cl₂Hg₂I₄N₆O₆

Information related with crystallographic features is summarized in table EP.1. In the enclosed CD, it can be found supplementary crystal data: Table 2 shows atomic coordinates and equivalent isotropic displacement for each atom, table 3 bond lengths and angles. In table 4 are reported anisotropic displacement parameters. In table 5 hydrogen positions are refined using a *riding* model, $R1[I > 2\sigma(I)] = 0.0693$, $wR2(\text{all data}) = 0.2204$. Table 6 presents torsion angles. Finally, two hydrogen bonds (one intra- and one intermolecular ones) were found in the structure, whose data are collected in table 7. Data were refined on F^2 using SHELX97 program¹⁵². All data were registered with the code CCDC-235156 at the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (internat.) + 44-1223/336-033; Email: deposit@ccdc.cam.ac.uk. Data can be obtained free of charge at www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html. A molecular structure picture, including labelled atom scheme, can be consulted either, at chapter IV (fig. IV.4, page 87) or at the enclosed CD.

Table EP.1. Crystal data and structure refinement for L1·2HCl·2HgI₂.

Empirical formula	C ₂₄ H ₃₄ Cl ₂ Hg ₂ I ₄ N ₆ O ₆	
Formula weight	1482.25	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 10.3135(9) Å	α = 105.916(7)°.

¹⁵² G.M. Sheldrick, SHELX97, University of Göttingen, 1997.

	$b = 11.2280(10) \text{ \AA}$	$\beta = 95.243(7)^\circ$.
	$c = 18.8173(15) \text{ \AA}$	$\gamma = 108.559(7)^\circ$.
Volume	1948.0(3) \AA^3	
Z	2	
Density (calculated)	2.527 Mg/m^3	
Absorption coefficient	11.220 mm^{-1}	
F(000)	1348	
Crystal size	0.54 x 0.23 x 0.06 mm^3	
Theta range for data collection	5.12 to 26.37 $^\circ$.	
Index ranges	-12 $\leq h \leq$ 12, -14 $\leq k \leq$ 13, -23 $\leq l \leq$ 23	
Reflections collected	15070	
Independent reflections	7874 [R(int) = 0.0747]	
Completeness to theta = 26.37 $^\circ$	99.0 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.584 and 0.067	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	7874 / 311 / 397	
Goodness-of-fit on F ²	1.084	
Final R indices [I > 2 σ (I)]	R1 = 0.0693, wR2 = 0.2047	
R indices (all data)	R1 = 0.0944, wR2 = 0.2204	
Largest diff. peak and hole	2.803 and -3.856 e.\AA^{-3}	

EP.5. EXTRACTION AND EXPERIMENTS OF TRANSPORT WITH L2**EP.5.1. PREPARATION OF PICRATE SALTS**

Picric acid (ca. 7 g, 30.55 mmol) was dissolved in the minimum amount of purified hot water (ca. 800 ml). Stoichiometric amount of Li⁺, Na⁺, K⁺ and Cs⁺ (1:1 as regards picric acid) and Mg, Ca, Ba (1:2, metal:acid) hydroxides were weighted, dissolved in warm purified water, and dropped on the former acid dissolution, keeping a slight stirring. The appearing precipitate was left to mature for 2 hours, and afterwards was filtered and washed with CH₂Cl₂ until washing wastes were colourless. Product was normally recrystallized in hot ethanol or a water-ethanol mixture. Crystals thus obtained were dried in a *vacuum* oven at 132°C.

Li(Picr): Unable to be recrystallized. Semi-crystalline yellow solid (56%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3094 (ArH), 1615 (Ar), 1571 and 1548 (NO), 1339 (NO), 1316 (NO), 1269 (CO), 916, 793, 709

Na(Picr): Special caution not to overheat for a long time during the synthesis, in order to evaporate water, otherwise, solution becomes black and get ruined. Crystallized from water-ethanol. Crystalline yellow solid (31%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3084 (ArH), 1623 (Ar), 1553, 1478, 1418, 1357(NO), 1326 (NO), 1268 (CO), 1151, 1073, 927, 901, 785, 740, 703

K(Picr): It directly crystallizes, no need to recrystallize. Crystalline yellow solid (61%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3081 (ArH), 1618 (Ar), 1552, 1470, 1420, 1354 (NO), 1322 (NO), 1264 (CO), 1150, 1070, 929, 900, 788, 742

Cs(Picr): Crystalline yellow solid. **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3065 (ArH), 1634 (Ar), 1558, 1506, 1486, 1429, 1368 (NO), 1330 (NO), 1264 (CO), 1166, 1086, 925, 909, 789, 746, 703, 668

Mg(Picr)₂: Crystalline yellow solid. Unable to be recrystallized neither with water, ethanol nor water-ethanol. Used as a precipitate. **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3412, 1646 (Ar), 1558, 1489, 1432, 1332 (NO), 1272 (CO)
210

Ca(Picr)₂: Unable to be recrystallized. Special caution not to overheat for a long time during the synthesis, in order to evaporate water, otherwise, solution becomes black and get ruined. Amorphous yellow solid (84%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3090 (ArH), 1616 (Ar), 1569 (NO), 1336 (NO), 1275 (CO), 1165, 1085, 920, 791, 705

Ba(Picr)₂: Crystallized in water. Crystalline yellow solid (43%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3078 (ArH), 1612 (Ar), 1558, 1483, 1435, 1369 and 1339 (NO), 1268 (CO), 1162, 1079, 936, 907, 795, 746, 702, 668

EP.5.2. EXTRACTION EXPERIMENTS

The method described by Cram et al.¹⁴⁷ was followed in order to determine values of extractions constants (K_e) and association constants (K_a) for ligand **L2** against several cations in picrates. Calculations were based on absorbance at $\lambda = 430$ nm of the picric salts in the UV spectra. All the measurements were carried out at 293±1 K (thermostated) on a double beam Shimadzu UV-2102 PC spectrophotometer using a 1cm pathlength quartz UV- cell. Deionized water and ethanol-free CDCl₃ constituted the aqueous and organic phase respectively.

Initial 0.015M solutions in water of monovalent (Li⁺, Na⁺, K⁺) and divalent (Mg²⁺, Ca²⁺) cations as picrate salts were prepared. For Cs⁺ was 0.0076M (for solubility reasons). Solution of the host was 0.076M in CHCl₃.

The host solution (0.2 ml) was added to two 20 ml centrifuge tube. Picrate solution (0.5 ml) was introduced into one of them. Water (0.5 ml) was added to the other to be used as a blank. The tubes were stoppered and shaken vigorously by hand for 3 minutes. Phases were separated after that time by centrifugation.

An aliquot (10 μ l) of the organic layer was transferred by automatic pipette into a 3.5 ml UV-cell. CH₃CN (2.99 ml) was added to complete a total volume of 3 ml. The UV absorption was measured against a cell containing the organic layer at the blank experiment (10 μ l) and CH₃CN (2.99 ml). Three repetitions were run for a given cation and concentrations were found out using Beer-Lambert's law relationship. Extinction coefficients (ϵ) in HPLC-quality CH₃CN on the dynamic range of 10⁻⁵ to 10⁻⁶ M were determined using a set of standard different-concentration solutions of each salt and the values were recorded in table EP.2.

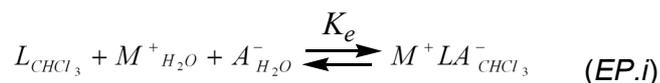
¹⁴⁷ S. S. Moore, T. L. Tarnowski, M. Newcomb, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6398.

Table EP.2: Extraction results with ligand L2:

Picrate Salts	ϵ at 430 nm in CH ₃ CN	$K_d \times 10^3$	log K_e	log K_a
Li ⁺	8626	1.42 M ⁻¹	2.38	5.23
Na ⁺	8975.9	1.74 M ⁻¹	2.59	5.35
K ⁺	9251.5	2.55 M ⁻¹	2.50	5.09
Cs ⁺	9586.4	5.41 M ⁻¹	2.95	5.21
Mg ²⁺	9339.4	39.8 M ⁻²	3.81	5.21
Ca ²⁺	10880	5.41 x 10 ⁺³ M ⁻²	3.86	3.12

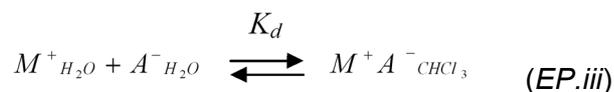
Values of K_a for monovalent cations were calculated using the model described by Cram.^{145,146}

Extraction constant, K_e is defined as:



$$K_e = \frac{[M^+LA^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3}[M^+]_{H_2O}[A^-]_{H_2O}} \quad (EP.ii)$$

And K_d , which is the distribution constant between both phases, is defined as:



$$K_d = \frac{[M^+A^-]_{CHCl_3}}{[M^+]_{H_2O}[A^-]_{H_2O}} \quad (EP.iv)$$

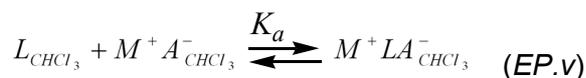
Values of the constant of distribution (K_d) for alkaline cations were reported by Cram et al.¹⁴⁷ and are showed in table EP.2.

¹⁴⁵ M. Newcomb, J. M. Timko, D. M. Walba, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6392.

¹⁴⁶ J. M. Timko, S. S. Moore, D. M. Walba, P. Hiberty, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 4207.

¹⁴⁷ S. S. Moore, T. L. Tarnowski, M. Newcomb, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6398.

Association constant, K_a , is defined as:



$$K_a = \frac{[M^+ LA^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} [M^+ A^-]_{CHCl_3}} = \frac{K_e}{K_d} \quad (EP.vi)$$

Where M refers to the metal cation, A to the picrate anion, L to the ligand behaving as a host with only one complexing site, V_{CHCl_3} and V_{H_2O} to the total volume in the organic and the aqueous phases.

K_a is then, easily calculable once value of K_e is found out. In order to estimate K_e , to regard these approaches is needed:

Through the mass balance we know:

a) For M^+ :

$$M^+ A_i^- = M^+ LA_{CDCl_3}^- + M^+_{H_2O} + (M^+ L_{H_2O} + M^+ A_{CHCl_3}^-) \quad (EP.vii)$$

· $M^+ L_{H_2O}$ is supposed to be neglectful. Formed complex is mainly dissolved in the organic phase.

· $M^+ A_{CHCl_3}^-$ is very insoluble in $CHCl_3$.

Then,

$$M^+ LA_{CDCl_3}^- + M^+_{H_2O} \gg \gg (M^+ L_{H_2O} + M^+ A_{CHCl_3}^-) \quad (EP.viii)$$

and thus, the first approach is:

$$M^+ A_i^- = M^+ LA_{CDCl_3}^- + M^+_{H_2O} \quad (EP.ix)$$

b) For L :

$$L_i = L_{CHCl_3} + M^+ LA_{CHCl_3}^- + L_{H_2O} + M^+ L_{H_2O} \quad (EP.x)$$

· L is supposed to be slightly soluble in water. ($L_{H_2O} \approx 0$)

· As formulated before, $M^+L_{H_2O}$ is supposed to be neglectful.

Therefore,

$$L_{CHCl_3} + M^+LA_{CHCl_3}^- \gggg L_{H_2O} + M^+L_{H_2O} \quad (EP.xi)$$

and the second approach is:

$$L_i = L_{CHCl_3} + M^+LA_{CHCl_3}^- \quad (EP.xii)$$

From (EP.ix) it is known:

$$M^+_{H_2O} = M^+A_i^- - M^+LA_{CHCl_3}^- \quad (EP.xiii)$$

and from (EP.x), dividing by V_{CHCl_3} :

$$[L_i]_{CHCl_3} = [L]_{CHCl_3} + [M^+LA^-]_{CHCl_3} \quad (EP.xiv)$$

In order to simplify expressions, factor R is defined as:

$$R = \frac{M^+LA_{CHCl_3}^-}{L_i} = \frac{[M^+LA^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} + [M^+LA^-]_{CHCl_3}} = \frac{[M^+LA^-]_{CHCl_3}}{[L_i]_{CHCl_3}} \quad (EP.xv)$$

From (EP.xiv), it is positively known that:

$$[L]_{CHCl_3} = [L_i]_{CHCl_3} - [M^+LA^-]_{CHCl_3} \quad (EP.xvi)$$

Substituting in (EP.xvi) value of $[M^+LA^-]_{CHCl_3}$ from (EP.xv):

$$[L]_{CHCl_3} = [L_i]_{CHCl_3} - [L_i]_{CHCl_3} R = [L_i]_{CHCl_3} (1 - R) \quad (EP.xvii)$$

$[L]_{CHCl_3}$ is now calculable.

It is only remained to express $[M^+]_{H_2O}$ in terms of measurable magnitudes. From (EP.ix):

$$M^+_{H_2O} = M^+ A_i^- - M^+ L A_{CDCl_3}^- \quad (EP.xviii)$$

and using (EP.xv):

$$M^+_{H_2O} = M^+ A_i^- - R L_i \quad (EP.xix)$$

Following relations are also known:

$$M^+_{H_2O} = V_{H_2O} [M^+]_{H_2O} \quad (EP.xx)$$

$$M^+ A_i^- = V_{H_2O} [M^+ A_i^-]_{H_2O} \quad (EP.xx\dot{i})$$

$$L_i = V_{CHCl_3} [L_i]_{CHCl_3} \quad (EP.xx\dot{i}\dot{i})$$

It's possible for (EP.xix) to be rewritten in terms of concentrations:

$$[M^+]_{H_2O} = [M^+ A_i^-]_{H_2O} - \left(\frac{V_{CHCl_3}}{V_{H_2O}} \right) R [L_i] = Q \quad (EP.xx\dot{i}\dot{i}\dot{i})$$

Finally, being aware that, in absence of common ion:

$$[A^+]_{H_2O} = [X^-]_{H_2O} \quad (EP.xx\dot{i}\dot{i}\dot{i}\dot{i})$$

K_e can be now easily calculated as:

$$K_e = \frac{[M^+ L A^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} [M^+]_{H_2O} [A^-]_{H_2O}} = \frac{[M^+ L A^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} [M^+]_{H_2O}^2} = \frac{[L_i]_{CHCl_3} R}{[L_i]_{CHCl_3} (1 - R) Q^2} \quad (EP.xx\dot{v})$$

$$K_e = \frac{R}{(1 - R) Q^2} \quad (EP.xx\dot{v}\dot{i})$$

And finally, K_a :

$$K_a = \frac{R}{K_d (1-R) \left\{ [M^+ A_i^-]_{H_2O} - \left(\frac{V_{CHCl_3}}{V_{H_2O}} \right) R [L_i]_{CHCl_3} \right\}^2} \quad (EP.xvii)$$

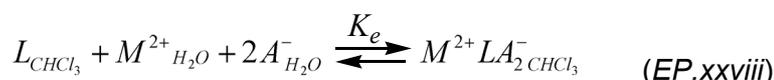
Following an analogous procedure, but taking into account new stoichiometry, K_a for divalent cations was calculated from (EP.xxxiv). Values of the constant of distribution (K_d) for alkaline cations were reported by Cram et al.¹⁴⁷ In the case of alkaline-earth cations, K_d were determined following the same experimental procedure as Cram et al. but using (EP.xxxii) instead, which regards the change on the stoichiometry.

Initial 0.02 M solution in water of divalent (Mg^{2+} , Ca^{2+}) cations as picrate salts were prepared.

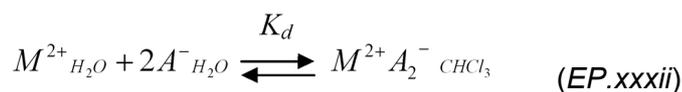
Picrate solution (20 ml) was extracted with ethanol-free $CHCl_3$ (30 ml) in a separating funnel. Phases were left for 24 hours in order to achieve complete separation. Organic phase was transferred into a round bottom flask and solvent was completely removed by distillation.

Remaining residue was quantitatively transferred, dissolved in CH_3CN in a 5 millilitre volumetric flask. Absorbance of the obtained solution was measured in a UV-visible spectrophotometer at 380 nm. Values of K_d thereby obtained are recorded in table EP.2.

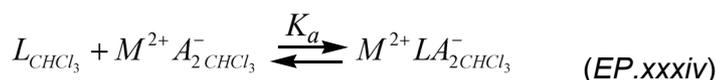
Then, regarding to the new stoichiometry:



$$K_e = \frac{[M^{2+} LA_2^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} [M^{2+}]_{H_2O} [A^-]_{H_2O}^2} = \frac{[M^{2+} LA_2^-]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3} 4[M^{2+}]_{H_2O}^3} = \frac{R}{(1-R) 4Q^3} \quad (EP.xxix)$$



$$K_d = \frac{[M^{2+}A_2^{-}]_{CHCl_3}}{4[M^{2+}]_{H_2O}^3} \quad (EP.xxxiii)$$



$$K_a = \frac{[M^{2+}LA_2^{-}]_{CHCl_3}}{[L]_{CHCl_3}[M^{2+}A_2^{-}]_{CHCl_3}} = \frac{K_e}{K_d} \quad (EP.xxxv)$$

Detailed calculation of constant of extraction and constant of association for each metal are included as supplementary material in the enclosed CD.

EP.5.3. EXPERIMENTS OF TRANSPORT

Experiments of transport were carried out across an organic liquid bulky membrane consisting of ethanol-free $CHCl_3$ (15 ml) confined in a U-shaped tube (12 mm of diameter). A known amount of carrier (**L2**) was dissolved in this membrane (see Table EP.3).

Previously-reported synthesised picrate salts were used as source of alkaline and earth-alkaline cations. Initial solutions of picrate salts in water were prepared: Li^+ (0.02 M), Na^+ (0.02 M), Na^+ (0.005 M), K^+ (0.005 M), Cs^+ (0.005 M), Mg^{2+} (0.02 M) and Ba^{2+} (0.005 M).

Solution of carrier in $CHCl_3$ (15 ml) was transferred to a U-shaped tube, provided with a magnetic stirring bar. Initial solutions of the picrate salts (5 ml) were added to one of the branches of the tube (source phase). Pure water (5 ml) was allocated in the other (receiving phase). In addition, one blank experiment for each initial solution was carried out, so as to determine the passive transport, by replacing the carrier solution with pure ethanol-free $CHCl_3$ (15 ml).

After 48 hours stirring (350 rpm) at 293 ± 1 K, aqueous receiving phase was homogenised and a convenient aliquot was transferred to a 1 cm pathlength quartz UV cell. Distilled water was added to the cell till complete the total volume (3 ml). Absorbance was registered at 400 nm. Factor of efficiency was calculated from (EP.xxxvi).

EXPERIMENTAL PROCEDURES

In order to determine concentrations, both in the source and in the receiving phase, Beer-Lambert's law at $\lambda = 400$ nm was used. Extinction coefficients (ε) for each picrate salt in water on the dynamic range of 3×10^{-5} to 6×10^{-6} M were determined using a set of standard different-concentration solutions of each salt. Values of ε were recorded in table EP.3.

$$E = \frac{\frac{\mu \text{ mol transported cation}}{\text{ml receiving phase}}}{\text{mmol carrier}} \quad (\text{EP.xxxvi})$$

Experiments of transports were carried out in triplicate and error bars were less than 5% between experiments.

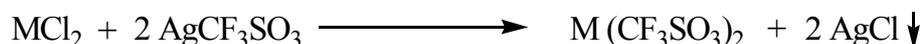
Table EP.3: Transport experiment results with ligands L2

Picrate salt	ε at 400 nm	L2			
		c. of H (M)	c. r. p. (M)	c. s. p. (M)	f. e.
Li⁺	9564	0.0012	$2.39 \cdot 10^{-4}$	$2.00 \cdot 10^{-2}$	14.43
Na⁺	9532	0.0012	$1.58 \cdot 10^{-4}$	$1.99 \cdot 10^{-2}$	88.68
Mg²⁺	16820	0.0012	$1.20 \cdot 10^{-4}$	$2.05 \cdot 10^{-2}$	7.26
Na⁺	9532	0.0003	$8.12 \cdot 10^{-5}$	$4.94 \cdot 10^{-3}$	17.79
K⁺	10626	0.0003	$4.73 \cdot 10^{-5}$	$5.01 \cdot 10^{-3}$	10.95
Cs⁺	10895	0.0003	$3.84 \cdot 10^{-5}$	$5.04 \cdot 10^{-3}$	9.55
Ba²⁺	19074	0.0003	$3.90 \cdot 10^{-5}$	$4.14 \cdot 10^{-3}$	9.45

c. of H= concentration of host in the membrane; c.r.p.= final concentration of salt at the receiving phase;
c.s.p.= final concentration of salt at the source phase. f.e.= factor of efficiency

EP.6. COMPLEXATION AND SENSING EXPERIMENTS WITH TETRAMETHYLBENZIDINE-DERIVATED LIGANDS

EP.6.1. PREPARATION OF TRIFLATE SALTS.



To MCl_2 (ca. 1 g) dissolved in the minimum volume of water AgCF_3SO_3 (2 equivalents) is added. The solution was rapidly stirred for 5-10 min, and the precipitated AgCl was removed by vacuum filtration through a bed of Celite on a glass plate funnel. Solution was left under a powerful bulb for 12 hours and filtered again through a bed of Celite. Water was removed under *vacuum*.

Ni(tf)₂ · 5H₂O: Pale green solid (99%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹): 1255 (SO), 1179 (CF), 1033 (SO), 770 (SO), 641 (CS)

Elementary Analysis (%): Calculated for C₂ O₆ S₂ F₆ Ni · 5 (H₂O)

	C	S	F	Cl
Calculated:	5.38	14.35	25.51	0
Found:	5.21	14.59	26-28	<0.5

Cu(tf)₂ · 5H₂O: Pale turquoise solid (93%). **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹): 1251 (SO), 1178 (CF), 1034 (SO), 770 (SO), 641 (CS)

Elementary Analysis (%): Calculated for C₂ O₆ S₂ F₆ Cu · 5 (H₂O)

	C	S	F	Cl
Calculated:	5.32	14.19	25.23	0
Found:	5.29	15.20	26-28	<0.5

Zn(tf)₂: White solid. Commercially available. **IR** (KBr) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹): 1260 (SO), 1179 (CF), 1033 (SO), 770 (SO), 644 (CS)

Cd(tf)₂: White solid (98%). IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 1256 (SO), 1179 (CF), 1033 (SO), 642 (CS)

Elementary Analysis (%): Calculated for C₂ O₆ S₂ F₆ Cd

	C	S	F	Cl
Calculated:	5.61	14.96	26.60	0
Found:	5.77	16.35	27-29	<0.5

Pb(tf)₂: White solid (74%). IR (KBr) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 1251 (SO), 1178 (CF), 1063, 1034 (SO), 770 (SO) 642 (CS)

Elementary Analysis (%): Calculated for C₂ O₆ S₂ F₆ Pb · CF₃SO₃H

	C	S	F	Cl
Calculated:	5.50	14.67	26.1	0
Found:	5.24	14.18	23-25	<0.5

EP.6.2. GENERAL PROCEDURE FOR NMR TITRATIONS.

NMR titrations were carried out by placing, in an NMR tube, the ligand ($2 \cdot 10^{-4}$ mol) in CD₃CN (0.7 ml) and recording its ¹H-NMR spectrum. After addition of the corresponding salt ($4.5 \cdot 10^{-6}$ mol), or mixture of salts in competition experiments (4.5×10^{-6} mol each), and evaporation of some of the solvent, in order to keep a constant volume, the resulting ¹H-NMR spectrum was recorded. The previous process was repeated until the total amount of salt (stated in each case) was added. From the analysis of the spectral assembly, stoichiometries of the complexes were determined using, when possible, the mole ratio method.¹⁵⁴ Complexing constants were determined, regarding LM₂, LM and L₂M possible stoichiometries, by fitting the data to the Benesi-Hildebrand equation¹⁵⁵ for by running the Clinp 2.1 program.¹⁵⁶ Stoichiometries which best fits experimental data to the model were used to calculate values of constants (for details about methods see appendix B, page 251).

¹⁵⁴ B. J. Whitlock, H. W. Whitlock, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3910.

¹⁵⁵ (a) H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 2703. (b) M. W. Hanna, A. L. Ashbaugh, *J. Phys. Chem.*, **1964**, 68, 811.

¹⁵⁶ Available from Y.V. Kholin, D.S. Konyaev, S.A. Merny in www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html.

EP.6.3. GENERAL PROCEDURE FOR UV SPECTRA AND FLUORIMETRIC TITRATIONS.

UV spectra and fluorimetric titrations were carried out in 1 cm pathlength quartz fluorescence cells at 20°C (thermostated). The concentration of ligand was *ca.* $5 \cdot 10^{-6}$ M in acetonitrile (Spectroscopic grade). An approximately constant ionic strength was maintained by addition of the inert salt $N(Bu)_4PF_6$ (*ca.* 30 mol per mol of ligand). The measurements were recorded in the presence of Zn (II), Cd (II), Ni (II), Cu(II) and Pb (II) triflates (metal-to-ligand ratio between 0.25 to 12 equivalents). Quantum yields were measured using quinine sulphate monohydrate in H_2SO_4 (1 M, aq) as the standard ($\Phi=0.546$).¹⁵⁷

Complexation constants were determined from the analysis of the spectral assembly, regarding LM_2 , LM and L_2M possible stoichiometries, by fitting the data to a one of the general models (specified in each case).

¹⁵⁷ S. R. Meech, D. Phillips, *J. Photochem.* **1983**, 23, 193.

EP.7. ELECTROCHEMICAL STUDIES

EP.7.1. POTENTIOMETRIC STUDIES

Potentiometries were performed in dioxane:water (70:30) and under nitrogen atmosphere in a thermostated (25.0 ± 0.1 °C) vessel. Glass electrode was calibrated for each experiment by a titration of a well known dissolution of HCl (ca. 0.1M) with a standard carbonate-free NaOH solution. Gran¹²⁶ method was used in order to determine the standard potential for that specific cell (E°) and the ionic product of the solvent ($K_w' = [H^+][OH^-]$). K_w' (dioxane:water, 70:30) was found to be 15.90 (25°C, KCl 0.1 mol·dm⁻³).

SUPERQUAD¹⁵⁸ software was utilized in order to calculate protonation constants. About 20 mg of ligand were used for each titration. Models which better fit to the titration curves for each system (ca. 200 experimental points from at least 3 repetitions) were used to find out the protonation constants.

EP.7.2. VOLTAMETRIC STUDIES

Electrochemical measurements have been performed at 298 K in a conventional three-electrode cell under argon atmosphere. Nominal ca. 2.0 mM concentrations of the ligand were used in dry MeCN using tetrabutylammonium hexafluorophosphate (0.10 M) as a supporting electrolyte.

Experiments were performed using a BAS CV 50 W equipment using a BAS MF2012 glassy carbon electrode (GCE) (geometrical area 0.071 cm²), and a BAS MF2014 platinum electrode (geometrical area 0.018 cm²) as a working electrode. A platinum wire auxiliary electrode and a AgCl (3M NaCl)/Ag reference electrode separated from the test solution by a salt bridge only containing supporting electrolyte completed the electrode arrangement. The potential of such reference electrode was -35 mV vs. the saturated calomel reference electrode (SCE).

¹²⁶ G. Gran, *Analyst*, (London), **1952**, 77, 661.

¹⁵⁸ P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, **1985**, 1195.

APÉNDICE A

Principios Básicos de Fluorescencia Molecular

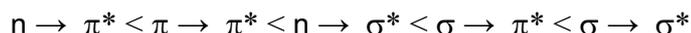
Para comprender mejor cómo el reconocimiento de cationes o aniones a nivel molecular en los sensores fluorescentes puede llevar a la generación de una señal macroscópicamente apreciable, es necesario tener en cuenta diversos factores que influyen en el fenómeno de la fluorescencia. Las espectroscopias de UV-visible o resonancia magnética nuclear son ampliamente conocidas y utilizadas por la totalidad de integrantes de la comunidad científica, sin embargo, es un hecho que la espectroscopia de fluorescencia no está tan difundida. A pesar de que la gran mayoría de los miembros de dicha comunidad posee unos fundamentos generales de fotofísica, muchas veces, los conceptos que se utilizan en las argumentaciones durante este trabajo no resultan evidentes para un lector no iniciado en la materia. Pensando en ellos, se ha decidido incluir este apéndice en la presente tesis para así tratar de hacer este trabajo sobre todo accesible, aunque también ameno y didáctico. El libro de referencia para la elaboración de este compendio ha sido “*Molecular Fluorescence. Principles and Applications*” de Bernard Valeur¹³⁷, una lectura muy recomendada para cualquier lector que quiera profundizar más en el extenso campo de la fluorescencia molecular.

A.1. ABSORCIÓN DE LUZ UV-VISIBLE

Para que haya fluorescencia, es decir emisión de fotones, previamente la molécula debe encontrarse en un estado excitado. Existen diversos métodos para promocionar electrones a niveles excitados siendo el más común la absorción de luz ultravioleta-visible (UV-visible).

¹³⁷ B. Valeur, “*Molecular Fluorescence. Principles and Applications*”, Wiley-VCH, Weinheim (Alemania), 2002.

Una transición electrónica consiste pues en la promoción de un electrón desde un orbital molecular con la molécula en estado fundamental a un orbital desocupado mediante la absorción de un fotón. Dependiendo del orbital de salida y de llegada del electrón, muchas son las transiciones posibles, pero solamente aquellas que cuenten con la energía suficiente podrán darse. Generalmente la energía de estas transiciones sigue el siguiente orden:



(donde n es un orbital de electrones no enlazantes, π es un orbital enlazante de solapamiento lateral, σ un orbital molecular enlazante de solapamiento frontal y el asterisco indica que el orbital es antienlazante).

En el caso de espectroscopia de absorción o de emisión de fluorescencia, dos tipos de orbitales se consideran relevantes: el HOMO (del inglés *Highest Occupied Molecular Orbital*, orbital molecular ocupado más elevado), y el LUMO (del inglés, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, Orbital molecular desocupado inferior). Ambos se refieren a la molécula en su estado fundamental. Normalmente la transición habitual en espectroscopía de absorción es la HOMO-LUMO. Dependiendo de la naturaleza del HOMO y del LUMO tenemos las transiciones anteriormente descritas y que van a ser de vital importancia para comprender muchos de los fenómenos que se dan en la emisión de fluorescencia.

Cuando promocionamos uno de los dos electrones de spin opuesto (que pertenecen a un orbital molecular de una molécula en estado fundamental) a un orbital molecular de mayor energía, su spin, en principio, no varía. De esta forma, el número cuántico de spin total ($S = \sum s_i$, con $s_i = +\frac{1}{2}$ o $-\frac{1}{2}$) es igual a cero. La multiplicidad de spin ($M = 2S + 1$) de ambos estados, el fundamental y el excitado es, por tanto, igual a 1 y por eso se les denomina estados singuletes (normalmente se denomina S_0 para el estado fundamental, S_1, S_2, \dots para los estados excitados), y la transición se denomina singulete-singulete. Una molécula en estado excitado singulete puede convertirse en otros estados en los que el electrón promocionado ha cambiado su spin. El spin total ahora será $S=1$ y la multiplicidad de este nuevo estado será $M=3$, por lo que se le denomina estado triplete puesto que existen tres estados degenerados para esta configuración electrónica. De acuerdo con la regla de Hund, para una misma configuración, el estado triplete es de menor energía que su homólogo singulete.

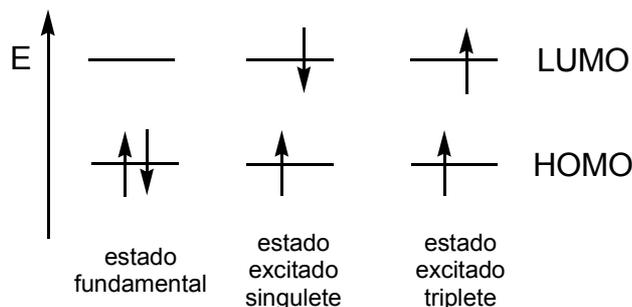


Figura A.1: Distinción entre el estado singulete y del estado triplete.

Existen dos reglas de selección para las transiciones de absorción:

1. Transiciones prohibidas por el spin: están prohibidas las transiciones entre estados con diferente multiplicidad. Así las transiciones entre singulete y singulete o entre triplete-triplete están permitidas, mientras que las transiciones singulete-triplete o triplete-singulete están prohibidas.

Sin embargo, el cruce entre sistemas (en inglés *Intersystem Crossing*, ISC) se puede dar entre el primer estado excitado singulete (S_1) y el primer estado excitado triplete (T_1) debido al acoplamiento spin-órbita. La eficacia de este efecto depende de Z^4 (Z es el número atómico). El efecto de amortiguamiento de la fluorescencia debido a la presencia de un átomo con un número atómico elevado por ISC se denomina “efecto del átomo pesado (en inglés *heavy atom effect*)”.

2. Transiciones prohibidas por la simetría: La absorción también puede estar prohibida por razones de simetría orbital. Sin embargo, no existe la transición enteramente prohibida, puesto que las vibraciones moleculares hacen que la simetría del orbital no sea siempre la perfecta. Este efecto es conocido como acoplamiento vibrónico. Los coeficientes de absorción molar de estas transiciones es muy pequeño comparado con las transiciones permitidas por la órbita. La mayoría de las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ son de este tipo, siempre que la absorción se dé en un disolvente en el que la molécula no pueda formar puentes de hidrógeno.

Finalmente cabe destacar que la transición electrónica tarda unos 10^{-15} s, mientras que el tiempo característico de un movimiento vibracional de los núcleos es del orden de 10^{-10} - 10^{-12} s, por lo que Frank-Condon postuló que la transición electrónica transcurre sin cambios en las posiciones nucleares, ni en el entorno de la molécula. Dichas transiciones se conocen como transiciones verticales. Así pues la probabilidad de absorción será directamente proporcional a la semejanza entre la curva de Morse del estado fundamental y el estado excitado (figura A.2).

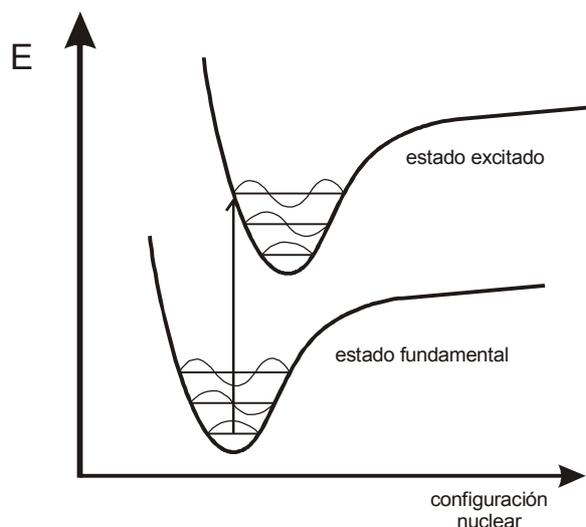


Figura A.2: Representación esquemática de una transición vertical de acuerdo con el principio de Frank-Condon.

Un cambio en la sustitución o en el entorno de la molécula (disolvente, etc.) normalmente trae asociado una variación en el espectro de absorción. Si el desplazamiento de la banda es hacia longitudes de onda mayores se denomina desplazamiento batocrómico (informalmente se le conoce como desplazamiento hacia el rojo). Si fuera hacia longitudes de onda menores, sería un desplazamiento hipsocrómico (corrimiento hacia el azul). El efecto hiperocrómico implicaría un incremento en el coeficiente de absorción molar, mientras que si hay una disminución, hablaríamos del efecto hipocrómico.

A.2. RELAJACIÓN DEL ESTADO EXCITADO

La molécula excitada dispone de varios mecanismos para disipar esa energía absorbida y volver al estado fundamental. Estas vías de desactivación se pueden dividir en dos tipos: transiciones radiativas (fluorescencia, fosforescencia, fluorescencia retardada, etc.) y transiciones no-radiativas (conversión interna, en inglés *internal conversion*, IC) atendiendo a si durante la desactivación se desprende o no un fotón. En el diagrama de Perrin-Jablonski (figura A.3) se encuentran representados los mecanismos más importantes.

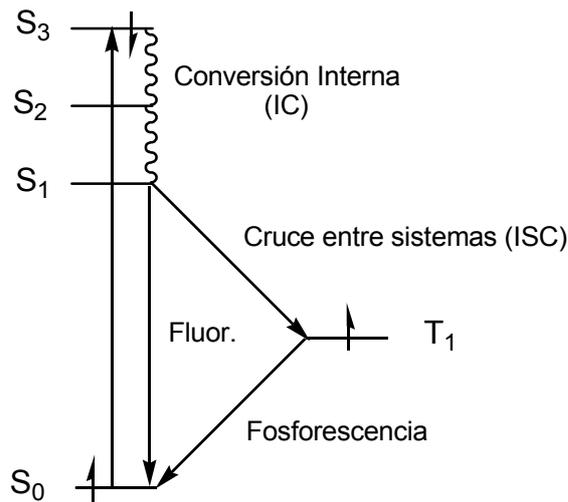


Figura A.3: Diagrama de Perrin-Jablonski.

Es muy importante tener presente la escala de tiempo en el que se puede dar un proceso, puesto que cada uno de ellos contribuirá a la desactivación en la medida que el resto de procesos se lo permitan (tabla A.1).

Tabla A.1: Tiempos característicos de los principales procesos de relajación.

TIEMPOS CARACTERÍSTICOS	
Absorción	10^{-15} s
Relajación Vibracional	10^{-12} s – 10^{-10} s
Tiempo Medio de Vida del Estado Excitado S ₁	10^{-10} s – 10^{-7} s
Cruce entre Sistemas (ISC)	10^{-10} s – 10^{-8} s
Conversión Interna (IC)	10^{-11} s – 10^{-9} s
Tiempo Medio de Vida del Estado Excitado T ₁	10^{-6} s – 1s

La transición de absorción normalmente se da entre el nivel vibracional de menor energía de S₀ (puesto que a temperatura ambiente y según la ley de Maxwell-Boltzman la mayoría de moléculas estarán en este nivel energético) y cualquiera de los niveles vibracionales de estados excitados singulete (S₁, S₂,...) permitidos por las reglas de selección y por el principio de Frank-Condon anteriormente mencionados. Una vez llegados a este punto, la molécula puede desexcitarse por:

A.2.1. CONVERSIÓN INTERNA (IC) Y RELAJACIÓN VIBRACIONAL

La IC es una transición no-radiativa entre dos estados electrónicos de la misma multiplicidad de spin. En disolución, normalmente después de darse una conversión interna, se produce una relajación vibracional hasta el nivel de menor energía

vibracional de dicho estado electrónico. El exceso de energía vibracional se va transfiriendo gradualmente a moléculas de disolvente vecinas al ir chocando éstas con la molécula excitada.

Según las reglas de selección y de Frank-Condon, puede que el estado electrónico más probable para la absorción no sea S_1 , ni el nivel vibracional más probable del estado excitado sea el de menor energía. Si esto ocurre, se da relajación vibracional hasta el nivel vibracional de menor energía del estado, seguido de IC. El proceso se repite sucesivamente hasta que el electrón queda en el nivel vibracional de menor energía del estado electrónico S_1 . Esta relajación por vía no-radiativa tarda entre 10^{-13} y 10^{-11} s, por lo que es más rápida que cualquier otro mecanismo de relajación y siempre se da.

La efectividad de la IC depende de la energía entre los estados. A menor diferencia de energía entre el estado inicial y final, mayor es la probabilidad de que se de IC.

Así, entre el estado S_1 y S_0 también se puede dar IC, pero será siempre mucho menos efectiva que entre S_2 y S_1 puesto que la diferencia energética entre S_1 y S_0 es mucho mayor que la que existe entre los diversos estados excitados. Esto quiere decir, que ahora la IC ya no es tan rápida y los fenómenos radiativos o de cruce entre sistemas pueden ya competir con ella.

A.2.2. EMISIÓN DE FLUORESCENCIA

Se denomina fluorescencia a la emisión de un fotón durante el proceso de relajación entre $S_1 \rightarrow S_0$. Puesto que la emisión siempre se da desde el estado S_1 , las características de la misma (salvo la polarización) serán, pues, independientes de la longitud de onda de la excitación.

Debido a la relajación vibracional y los IC que se puedan dar después de la absorción, el espectro de emisión siempre se situará a longitudes de onda mayores que el espectro de absorción. Esta regla, empírica cuando fue formulada, es conocida como la *Regla de Stokes*.

En general, las diferencias entre los estados vibracionales en el estado fundamental y en los estados excitados es similar, y por eso, el espectro de fluorescencia suele parecerse a la primera banda de absorción (regla de la *imagen especular*). La diferencia (expresada en números de onda) entre el máximo de la primera banda de absorción y el máximo de emisión de fluorescencia se le denomina *desplazamiento de Stokes* (*Stokes shift* en inglés).

Estamos considerando solamente los fotones de fluorescencia emitidos espontáneamente. Bajo ciertas condiciones, también se puede forzar que se produzca una emisión estimulada y obtendríamos de este modo un *LASER*.

A.2.3. CRUCE ENTRE SISTEMAS (ISC)

El cruce entre sistemas es una transición no-radiativa entre dos niveles vibracionales isoenergéticos pertenecientes a estados electrónicos de diferente multiplicidad. Este cruce entre sistemas, normalmente va seguido de la relajación por vibración hasta el estado vibracional de menor energía del estado electrónico T_1 , al igual que ocurría en los estados singletes. El mecanismo requiere un tiempo de unos 10^{-8} – 10^{-10} segundos y puede competir con la emisión de fluorescencia en muchos casos.

El cruce de estados de diferente multiplicidad es una transición prohibida por el spin. Como ya se ha visto, el acoplamiento spin-órbita hace que esta prohibición se relaje tanto más cuanto mayor sea la perturbación de la pureza de spin por la órbita. Por ello, la presencia de átomos pesados, cuyo acoplamiento spin-órbita es considerable (mayor número atómico, mayor acoplamiento) como el Pb o el Br incrementan mucho la probabilidad de que se dé ISC.

A.2.4. EMISIÓN DE FOSFORESCENCIA

Una vez se ha dado el ISC, la molécula queda en el estado T_1 . Puesto que la transición T_1 - S_0 nuevamente implica un cruce entre sistemas (y consecuentemente está prohibida por las reglas de selección del spin) tendrá un tiempo medio de vida muy elevado (10^{-6} -1s). Esta característica favorece mecanismos no-radiativos de desexcitación, por lo que, en general, estas vías prevalecerán sobre la emisión del fotón. Al proceso de desactivación por vía radiativa se le conoce con el nombre de fosforescencia y se dará en la extensión en que el acoplamiento spin-órbita lo permita.

A.2.5. EMISIÓN DE FLUORESCENCIA RETARDADA

Si se produce el cruce entre sistemas inverso, es decir de $T_1 \rightarrow S_1$, la molécula ahora puede desexcitarse por vía radiativa. La emisión de fluorescencia bajo estas circunstancias muestra una distribución espectral similar a la de la fluorescencia normal, pero un tiempo de decaimiento mucho mayor puesto que la molécula permanece en el estado triplete un largo periodo antes de emitir desde S_1 . Para que se dé la fluorescencia retardada hace falta una serie de factores: el estado S_1 y el estado T_1 deben ser próximos en energía y el tiempo de vida de T_1 debe ser suficientemente elevado como para que se produzca el cambio en la multiplicidad de spin. Este tipo de fluorescencia se ve activado térmicamente, puesto que el estado T_1 siempre es de menor energía que S_1 , por lo que solamente las moléculas en un estado vibracional de T_1 de energía similar a S_1 podrán pasar por el cruce de las superficies de energía potencial al estado singulete.

Este tipo de fluorescencia no se suele observar en hidrocarburos aromáticos debido a la gran diferencia en energía entre S_1 y T_1 . Sin embargo sí es muy frecuente observarla en fullerenos.

A.3. TIEMPO MEDIO DE VIDA DEL ESTADO EXCITADO

En la figura A.4 se muestran las diferentes constantes de velocidad de los distintos procesos que afectan a la relajación de la molécula excitada.

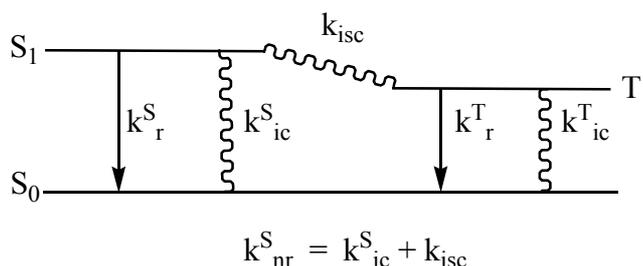


Figura A.4: constantes de velocidad de los diferentes procesos de relajación. k_r^S : cte para la relajación radiativa de $S_1 \rightarrow S_0$ con emisión de fluorescencia. k_{ic}^S : cte para la conversión interna entre $S_1 \rightarrow S_0$. k_{isc}^S : cte para el cruce entre sistemas. k_r^T : cte para la relajación radiativa de $T_1 \rightarrow S_0$ con emisión de fosforescencia. k_{nr}^T : cte para la desactivación no radiativa (por cruce entre sistemas) de $T_1 \rightarrow S_0$.

Teniendo en cuenta que la desactivación intramolecular (es decir, en ausencia de desexcitación intermolecular) es un proceso de primer orden respecto a la molécula excitada, se tiene que el tiempo medio de vida del estado S_1 se puede expresar según la ecuación (A.i):

$$\tau_S = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S} \quad (\text{A.i})$$

donde τ_S : tiempo medio de vida del estado S_1 , k_r^S : constante de desactivación radiativa (fluorescencia), k_{nr}^S : constante de desactivación no-radiativa ($k_{nr}^S = k_{ic}^S + k_{isc}$, ver figura A.4). Y al igual que los procesos radiativos, similares en cuanto al tratamiento matemático se refiere, se puede calcular el tiempo medio de vida del estado S_1 a partir de la medida de la intensidad de fluorescencia que emite la molécula (después de un pulso de excitación) en función del tiempo como se expresa en la ecuación (A.ii):

$$I(t) = I_0 \exp(-t/\tau) \quad (\text{A.ii})$$

donde $I(t)$ es la intensidad de emisión en cada momento, I_0 la intensidad de emisión inicial, t es el tiempo a partir del pulso de excitación y la constante τ es el tiempo medio de vida del estado S_1 .

Los tiempos medios de vida en una población homogénea de fluoróforos son normalmente independientes de la longitud de onda de excitación al igual que lo era el espectro de emisión. La IC y las relajaciones vibracionales son siempre mecanismos muy rápidos en disolución, lo que lleva a que la emisión siempre se dé desde el nivel vibracional de menor energía de S_1 .

τ_S se puede calcular también teóricamente a partir de la complicada ecuación de Strickler-Berg. Una de las consecuencias que se derivan de esta ecuación y que es muy importante a nivel práctico es que cuanto menor es el coeficiente de absorción molar (ϵ), mayor es el tiempo medio de vida del estado excitado (τ_S), con lo que los mecanismos de relajación no-radiativo toman mayor relevancia y por tanto, el porcentaje del proceso radiativo es menor.

El tiempo de decaimiento de la fluorescencia (τ_S) es una de las características más importantes de la molécula fluorescente en tanto en cuanto define la ventana temporal de observación de los procesos dinámicos. Como se puede observar en la figura A.5, por debajo de un tiempo de $\tau/100$ no se puede obtener ninguna información (es lo que constituye el tiempo de “vida privada” de la molécula), y por encima de 10τ la intensidad de fluorescencia es ínfima por lo que tampoco se puede obtener ya información (coloquialmente denominado “muerte” de la molécula). Por tanto, solamente se podrá extraer información durante el tiempo intermedio, que será lo que se denomina “vida pública” de la molécula.

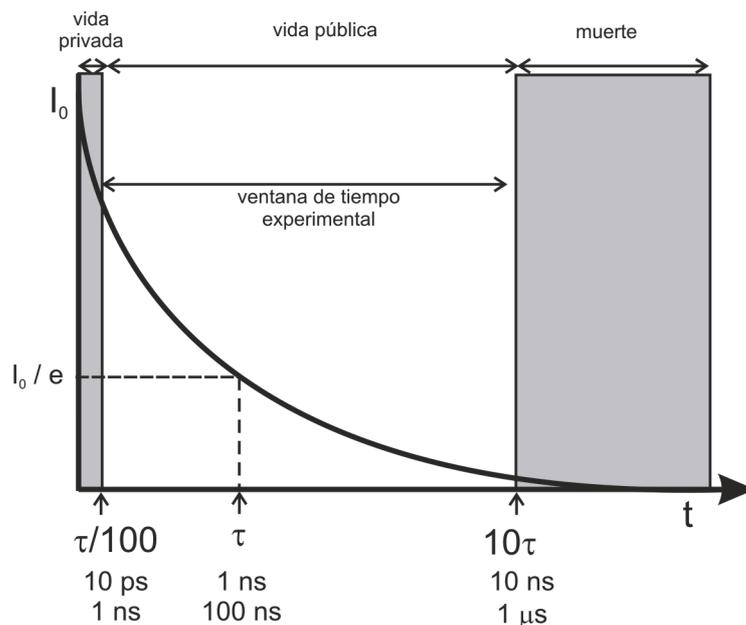


Figura A.5: Decaimiento de la fluorescencia.

A.4. RENDIMIENTO CUÁNTICO

El rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F) es la fracción de moléculas excitadas que vuelven al estado fundamental S_0 a través de emisión de fluorescencia.

Es decir, según la figura A.4 se obtiene la ecuación (A.iii):

$$\phi_F = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_r^S \tau_S \quad (\text{A.iii})$$

También se puede definir el rendimiento cuántico de fluorescencia como la relación entre el número de fotones emitido (durante la duración del decaimiento) y el número de fotones absorbidos.

A efectos prácticos, el rendimiento cuántico se calcula de una forma sencilla. Se compara la molécula cuyo ϕ_F se quiera determinar con un patrón del que se conoce con exactitud el ϕ_F . Así:

$$\phi = \frac{n^\circ \text{ fotones emitidos}}{n^\circ \text{ fotones absorbidos}} \propto \frac{\text{Intensidad emisión fluorescencia}}{\text{Absorbancia}} \quad (\text{A.iv})$$

Si se mide la muestra y patrón en las mismas condiciones:

$$\frac{\phi_{\text{muestra}}}{\phi_{\text{patrón}}} = \frac{\frac{I_{\text{muestra}}}{A_{\text{muestra}}}}{\frac{I_{\text{patrón}}}{A_{\text{patrón}}}} \Rightarrow \phi_{\text{muestra}} = \frac{I_{\text{muestra}}}{I_{\text{patrón}}} \times \phi_{\text{patrón}} \quad (\text{A.v})$$

A.5. TIPOS DE ESPECTROS DE FLUORESCENCIA

Mediante las técnicas de fluorescencia de estado estacionario se pueden obtener básicamente dos tipos de espectros: espectros de emisión y espectros de excitación.

A.5.1. ESPECTRO DE EMISIÓN

El espectro de emisión es la representación de la distribución energética de fotones emitidos (F_λ) en función de su longitud de onda (λ_F) a una frecuencia de excitación fija (λ_E). El espectro de emisión refleja, pues la distribución de probabilidades de todas las transiciones desde el nivel vibracional de más baja energía de S_1 a los diferentes niveles vibracionales de S_0 . El espectro de emisión es característico de cada compuesto.

Tabla A.2: Desviación de la linealidad en la relación entre la intensidad de fluorescencia y la concentración para varias absorbancias debido al efecto del filtro interno.

Absorbancia	Desviación (%)
10^{-3}	0.1
10^{-2}	1.1
0.05	5.5
0.10	10.6
0.20	19.9

A efectos prácticos, podemos considerar la intensidad de fluorescencia (I_F) proporcional a F_{λ} , por lo que la representación de I_F en función de λ_F para una determinada λ_E también podrá tomarse como el espectro de emisión. Esta afirmación solamente se cumple cuando la absorbancia de la especie emisora no es demasiado elevada. A altas absorbancias se da un efecto conocido como “filtro interno”, en el que la fluorescencia emitida por unas moléculas es reabsorbida por otras (transferencia radiativa de energía, *radiative transfer* en inglés). Esto se traduce en que la utilización de la fluorimetría como técnica cuantitativa de evaluación de la concentración de una especie, estará limitada solamente al rango en que la intensidad sea proporcional a la concentración, es decir, solamente será válida para muestras diluídas (ver tabla A.2)

A.5.2. ESPECTRO DE EXCITACIÓN

La variación en la intensidad de fluorescencia en función de la longitud de onda de excitación (λ_E) para una longitud de onda fija de emisión (λ_F) es lo que se conoce como espectro de excitación. Así, si el rendimiento cuántico es independiente de la longitud de onda de excitación (λ_E), el espectro de excitación debería mostrar una forma idéntica al espectro de absorción, siempre que solamente exista una especie en el estado fundamental. Por el contrario, cuando se den varias especies o una sola especie presente diferentes formas en el estado fundamental (agregados, complejos, formas tautoméricas, etc.) el espectro de absorción y el de excitación ya no serían superponibles. Debido a este hecho, la comparación de estos espectros siempre es muy útil puesto que puede ofrecer información muy valiosa.

A.6. AMORTIGUAMIENTO DE LA FLUORESCENCIA

Hasta el momento solamente se han tratado procesos de desexcitación intrínseca de la molécula. Pero una molécula excitada M^* puede también interactuar con otra molécula Q según el esquema de la figura A.6:

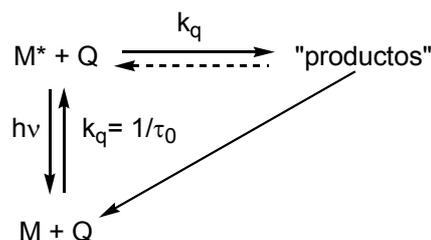


Figura A.6: Desexcitación del fluoróforo M^* por choque con una molécula de amortiguador (Q).

Los principales procesos fotofísicos responsables del amortiguamiento de la fluorescencia son los que se detallan en la tabla A.3:

En la mayoría de ellos, se da un proceso de transferencia rápida: transferencia electrónica, transferencia de protón o transferencia de energía.

Tabla A.3: principales procesos fotofísicos.

Proceso fotofísico	$M^* + Q \rightarrow$ productos	Dador	Aceptor
Colisión con un átomo pesado (I^- , Br^-) o con especie paramagnética (O_2 , NO)	$M^* + Q \rightarrow M + Q + \text{calor}$		
Transferencia Electrónica	${}^1D^* + A \rightarrow D^+ + A^-$ ${}^1A^* + D \rightarrow A^- + D^+$	${}^1D^*$ D	A ${}^1A^*$
Formación de Excímeros	${}^1M^* + {}^1M \rightarrow {}^1(MM)^*$		
Formación de Exciplejos	${}^1D^* + A \rightarrow {}^1(DA)^*$ ${}^1A^* + D \rightarrow {}^1(DA)^*$	${}^1D^*$ D	A ${}^1A^*$
Transferencia de Protón	$AH^* + B \rightarrow A^* + BH^+$ $B^* + AH \rightarrow BH^{*+} + A^-$	AH^* AH	B B^*
Transferencia de Energía	${}^1D^* + {}^1A \rightarrow {}^1D + {}^1A^*$ ${}^3D^* + {}^1A \rightarrow {}^1D + {}^3A^*$ ${}^3D^* + {}^3A \rightarrow {}^1D + {}^3A^*$ ${}^1M^* + {}^1M \rightarrow {}^1M + {}^1M^*$	${}^1D^*$ ${}^3D^*$ ${}^3D^*$ ${}^1M^*$	1A 1A 3A 1M

Los parámetros que determinan la fluorescencia (tiempo medio de vida y rendimiento cuántico) de M^* se verán ahora notablemente afectados por la presencia

de Q, puesto que se dará ahora una competición entre los mecanismos intrínsecos de desexcitación y el proceso intermolecular:

i) después de la excitación, la población de M^* en el estado excitado, y consecuentemente la intensidad de fluorescencia, decrece más rápidamente que en ausencia de esta interacción en el estado excitado con Q.

ii) El rendimiento cuántico de fluorescencia también decrece. A esta disminución en la intensidad se le denomina “amortiguamiento de la fluorescencia” (*fluorescence quenching* en inglés), independientemente de la naturaleza del proceso de competencia intermolecular e incluso si el proceso lleva a una especie diferente que siga siendo fluorescente (la palabra *quenching* sólo se aplica a la molécula inicialmente excitada). Por ello, a Q también se le denomina “amortiguador” (*quencher* en inglés).

Existe también desexcitación fotoquímica, pero puesto que la desexcitación implicaría reacciones fotoquímicas de rotura y formación de nuevos enlaces y la especie M no se puede recuperar nuevamente en el estado fundamental, no será muy adecuada para el diseño de sensores de fluorescencia.

Se pueden dar 3 tipos de situaciones de procesos intramoleculares entre M^* y Q que compiten con la desactivación intrínseca de M^* :

CASO A: Q se encuentra en disolución en un exceso muy grande respecto a M^* , por lo que la posibilidad de que Q esté a distancia efectiva dentro del tiempo de desexcitación es muy alta. Por ello no se necesita una aproximación mutua entre ellos durante el tiempo medio de vida del estado excitado.

Si la probabilidad de encontrar una molécula amortiguadora a distancia adecuada es menor que 1, esta situación se conoce como “*quenching estático*”. Si por el contrario, es igual a 1 (concentración uniforme), la reacción es de pseudo-primer orden (p. ej. El caso de la transferencia de protón fotoinducida).

CASO B: Q no está en un exceso elevado, y se necesita la aproximación mutua de M^* y Q durante el tiempo de que M^* permanece excitada. Es un proceso controlado por difusión y a este tipo de quenching se le denomina “*quenching dinámico*”

CASO C: Si Q no está en un gran exceso pero durante el tiempo que perdura el M^* no se puede dar la aproximación (τ demasiado corto o medio muy viscoso), se puede dar, en ocasiones, una transferencia no-radiativa de energía a larga distancia (hasta 100Å).

A.6.1. AMORTIGUAMIENTO DINÁMICO. MODELO DE STERN-VOLMER

Este modelo es muy efectivo para explicar la extinción de fluorescencia cuando se da un amortiguamiento por choque entre el amortiguador y el fluoróforo, siempre y cuando, el proceso esté controlado por difusión.

En una primera aproximación, la constante experimental de velocidad de amortiguamiento (K_q) se considera independiente del tiempo. A partir de la ecuación (A.vi).

$$\frac{d[M^*]}{dt} = -(k_M + k_q [Q])[M^*] \quad (\text{A.vi})$$

La resolución de esta ecuación diferencial (A.vii), se conoce como modelo de Stern-Volmer:

$$\frac{\phi_0}{\phi} = \frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + k_{SV} [Q] \quad (\text{A.vii})$$

donde I_0 e I son las intensidades de fluorescencia (para un par de longitudes de onda λ_E y λ_F) en ausencia y en presencia de moléculas amortiguadoras respectivamente. $k_{SV} = k_q \tau_0$ y es la constante de Stern-Volmer. Generalmente la relación I_0/I se representa frente a la concentración de amortiguador y es lo que se denomina representación de Stern-Volmer. Si se obtiene una variación lineal, la pendiente de la misma corresponderá a la k_{SV} . Entonces también se puede calcular k_q si se conoce el tiempo medio de vida en ausencia de amortiguador.

Este modelo, aunque basado en la suposición de que la constante de difusión es independiente del tiempo, es la base para todos los estudios de quenching dinámico (como por ejemplo, el quenching por colisiones de átomos pesados, etc.)

El modelo ha ido mejorándose gracias a la aparición de nuevos trabajos que intentaban corregir el efecto de factores que no se contemplaban en Stern-Volmer.

Así, gracias a la teoría de Smoluchowski, se puede refinar el modelo, teniendo en cuenta la dependencia con el tiempo de la constante de difusión (efecto transitorio) llegando a la ecuación:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + \frac{4\pi NR_c D \tau_0 [Q]}{Y} \quad (\text{A.viii})$$

en el que N el número de Avogadro, R_c es la distancia de aproximación máxima y D es el coeficiente de difusión mutua. Y corresponde a la siguiente ecuación:

$$Y = \frac{b\sqrt{\pi}}{\sqrt{a}} \exp\left(\frac{b^2}{a}\right) \operatorname{erfc}\left(\frac{b}{a}\right) \quad (\text{A.ix})$$

en el que erfc es la función de error complementaria, que se define como:

$$\operatorname{erfc}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_x^\infty e^{-u^2} du \quad (\text{A.x})$$

y a y b refieren a:

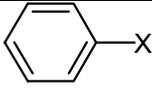
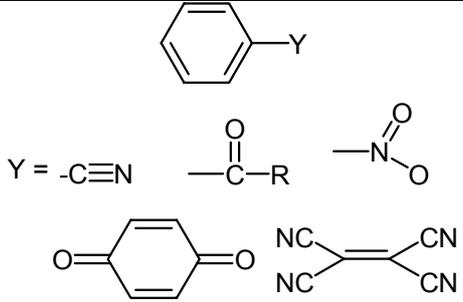
$$a = \frac{1}{\tau_0} + 4\pi NR_c D [Q] \quad (\text{A.xi}) \quad \text{y} \quad b = 4\sqrt{\pi D NR_c^2 [Q]} \quad (\text{A.xii})$$

A efectos experimentales, la introducción del factor Y^{-1} debido al término transitorio genera una pequeña curvatura hacia arriba respecto al modelo clásico en la representación Stern-Volmer.

A.6.2. TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA FOTOINDUCIDA (PET)

La transferencia electrónica fotoinducida (PET, del inglés *Photoinduced Electron Transfer*) está implicada en muchas reacciones fotoquímicas orgánicas y muy a menudo es la responsable del amortiguamiento de la fluorescencia en complejos metálicos con ligandos orgánicos.

Tabla A.4: Ejemplos de dadores y aceptores de electrones en el estado excitado.

<i>Dadores de electrones D*</i>	<i>Aceptores de electrones A*</i>
 X = H-, (CH ₃) ₂ N-, CH ₃ O-, HS- naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno, perileno	 Y = -C≡N -C(=O)-R -NO ₂ 9,10-dicianoantraceno

En la figura A.7 se ilustra la naturaleza del proceso de PET entre un fluoróforo y un centro amortiguador. Cuando, por ejemplo, el fluoróforo sea un fragmento aromático, la fluorescencia resultará de una transición $\pi^*-\pi$.

Si el amortiguador presenta tendencias reductoras, es decir, es una especie rica en electrones (dador, D, ver tabla A.4), transferirá un electrón desde su HOMO a un orbital π semicupado del fluoróforo fotoexcitado (aceptor, A), formándose la especie $A^- D^+$. Enseguida, tendrá lugar una retrodonación electrónica desde el orbital π^* del fluoróforo hacia el HOMO del D^+ , semicupado ahora, con lo que, a través de esta recombinación de carga, se llegará al estado original, con ambas partes en su estado fundamental.

La presencia de un centro reductor D, hace que el fluoróforo deje de emitir la radiación correspondiente a la transición $\pi^*-\pi$, volviéndose al estado fundamental por una vía no-radiativa, es decir, D está produciendo el amortiguamiento de la fluorescencia natural de A.

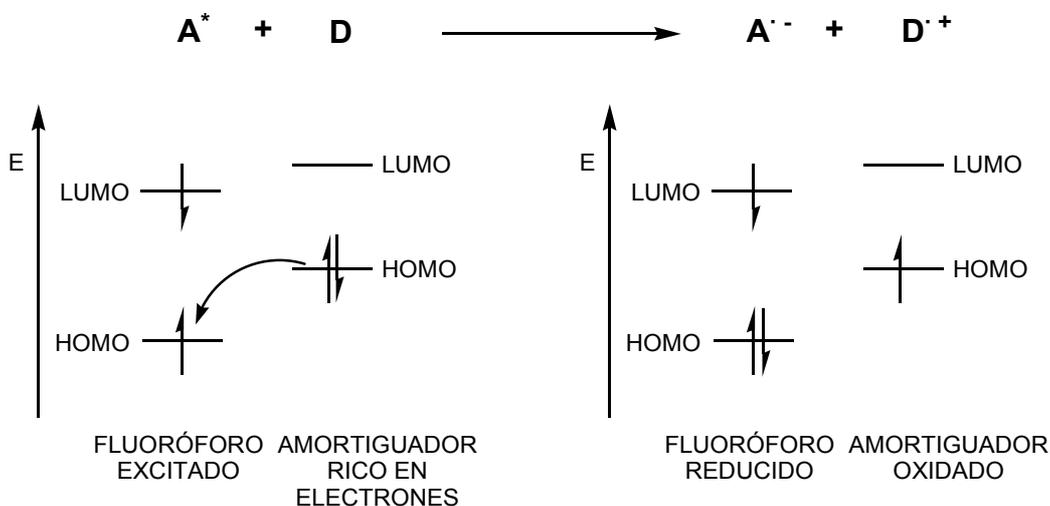


Figura A.7: Esquema orbital que ilustra el amortiguamiento de un fluoróforo fotoexcitado (A^*) por un amortiguador reductor (D), por un proceso de transferencia electrónica (PET) de D a A^* . El par iónico que se forma (A^- , D^+) se recombina por un proceso de retro-donación electrónica no-radiativa. Así la emisión natural de A^* queda amortiguada.

Midiendo la longitud de onda de la emisión, y el potencial medio de reducción del fluoróforo y de oxidación de D, fácilmente se puede formular un ciclo termodinámico y así calcular la energía libre del proceso. Como siempre, valores negativos de ΔG°_{PET} harán favorable este proceso de transferencia electrónica.

El otro caso posible se da cuando el amortiguador presenta un comportamiento oxidante. Esta vez, también puede darse un proceso PET entre fluoróforo y amortiguador (figura A.8). Ahora el amortiguador será un aceptor de electrones, A (ver tabla A.4) y ofrecerá un orbital vacío o semicupado de energía adecuada para que se transfiera un electrón del orbital π^* del fluoróforo próximo excitado D^* . De nuevo, gracias al centro amortiguador, la energía fotónica es desactivada a través de una vía no-radiativa, que genera el estado de transición $D^+ A^-$. Tras el proceso de retrodonación volvemos al estado fundamental del sistema y se ha amortiguado

nuevamente la fluorescencia natural. Al igual que en el caso anterior, se puede formular el ciclo termodinámico, aunque esta vez a partir de los valores de oxidación del fluoróforo y de reducción del amortiguador

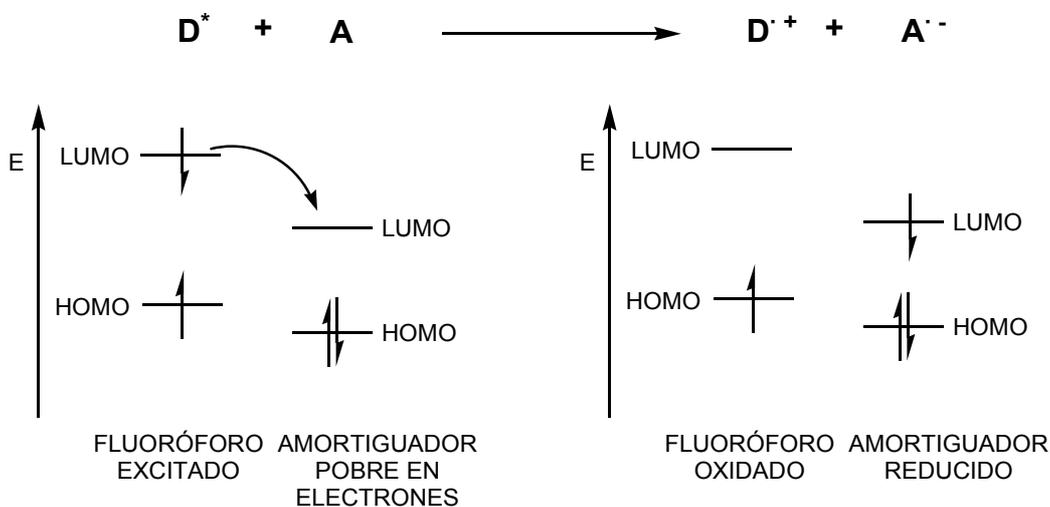
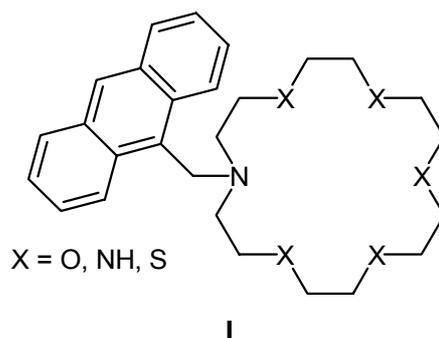


Figura A.8: Esquema orbital que ilustra el amortiguamiento de un fluoróforo fotoexcitado (D^*) por un amortiguador, en un proceso de transferencia electrónica (PET). En este caso, el amortiguador tiene tendencia a reducirse, y el proceso que tiene lugar una PET de D^* a A para dar el par iónico (D^+A^-) y la retro-donación electrónica no-radiativa hace que la fluorescencia quede amortiguada.

Sin embargo, el hecho de que ΔG^0_{PET} sea negativa no necesariamente implica que el *quenching* de la fluorescencia se produzca vía PET. Imaginemos que un ión metálico con tendencia a ceder electrones (caso figura A.7) se incorpora a la subunidad receptora del sistema bicomponente I. Para llegar al orbital π semiocupado del fluoróforo, el electrón debe moverse desde M a través del fragmento que une ambas subunidades conocido como espaciador. Este proceso es factible si el fragmento no es demasiado largo, es rígido y permeable al paso de los electrones. Estas dos últimas características se dan en estructuras con múltiples enlaces conjugados. Al poseer orbitales π^* vacíos, actúan como un puente electrónico. Si el espaciador es una cadena alifática, la transferencia electrónica “a través del enlace” es mucho más lenta. Sin embargo, si la cadena es suficientemente larga y flexible podría, ocasionalmente, doblarse de forma que acercase al fluoróforo y al metal hasta una distancia de van der Waals. Entonces se podría dar una transferencia directa y rápida del electrón. Este PET se dice que ocurre “a través del espacio” aunque se sabe que evidentemente el electrón no vuela a través de la disolución, sino que llega a su destino a causa de un movimiento aleatorio de una parte de la molécula.

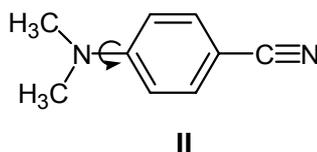


A.6.3. TRANSFERENCIA FOTOINDUCIDA DE CARGA (PCT) Y TRANSFERENCIA FOTOINDUCIDA DE CARGA CON ROTACIÓN INTRAMOLECULAR (TICT)

La excitación de un fluoróforo se da como consecuencia de que un electrón pasa de un orbital a otro. Si los orbitales inicial y final se encuentran separados en el espacio, esta transición electrónica se ve acompañada casi instantáneamente por un cambio en el momento dipolar del fluoróforo. Si éste posee un grupo electrón-donante ($-\text{NH}_2$, $-\text{NMe}_2$, $-\text{OCH}_3$, etc.) conjugado con un grupo electrón-aceptor ($-\text{C}=\text{O}$, $-\text{CN}$, etc.) el incremento en el momento dipolar puede ser considerable. Como consecuencia de esto, el estado excitado al que se llega después de la excitación (el llamado estado Frank-Condon) no está en equilibrio con las moléculas de disolvente que le rodean, si se trata de un disolvente polar. En un medio que sea suficientemente fluido, las moléculas de disolvente rotan durante el tiempo en que la molécula permanece excitada hasta que la esfera de solvatación alcanza el equilibrio termodinámico con el fluoróforo. Se consigue de este modo un estado relajado de transferencia intramolecular de carga (ICT, del inglés, *Intramolecular Charge Transfer*).

Si un receptor catiónico se une a un fluoróforo de transferencia de carga, de forma que el catión unido puede interactuar con el dador o el aceptor, puede que favorezca o desestabilice el ICT y de ello se derivarán cambios en las propiedades fotofísicas del fluoróforo. Así se pueden usar estos compuestos como sensores de cationes.

Esta relajación hacia un estado ICT puede verse acompañada por una rotación interna dentro del fluoróforo. El primer ejemplo de gran interés fue el 4-N,N-dimetilamino-benzonitrilo (DMABN) (II).



Esta molécula siempre ha sido objeto de muchos estudios, puesto que, a pesar de su aparente simplicidad, exhibe una fluorescencia dual en disolventes polares. Este

intrigante fenómeno fue explicado por Lippert¹⁵⁹ en 1987. En el estado fundamental, la molécula es casi plana, ya que de este modo la deslocalización electrónica entre los electrones del grupo dimetilamino y el anillo de fenilo es máxima. De acuerdo con el principio de Frank-Condon, el estado localmente excitado (LE, del inglés *Locally Excited State*), todavía es plano inmediatamente después de la excitación. Entonces tiene lugar la relajación por el disolvente, junto con una rotación concomitante del grupo dimetilamino hasta que alcanza un ángulo en el que la deslocalización es nula.

Esto lleva a una situación denominada estado TICT (del inglés *Twisted Intramolecular Charge Transfer*, transferencia intramolecular de carga con rotación) en la que la separación de cargas es total entre el grupo diamino y el grupo cianofenilo. Además este estado TICT se verá muy favorecido por la relajación que ofrecen las moléculas de disolvente polar.

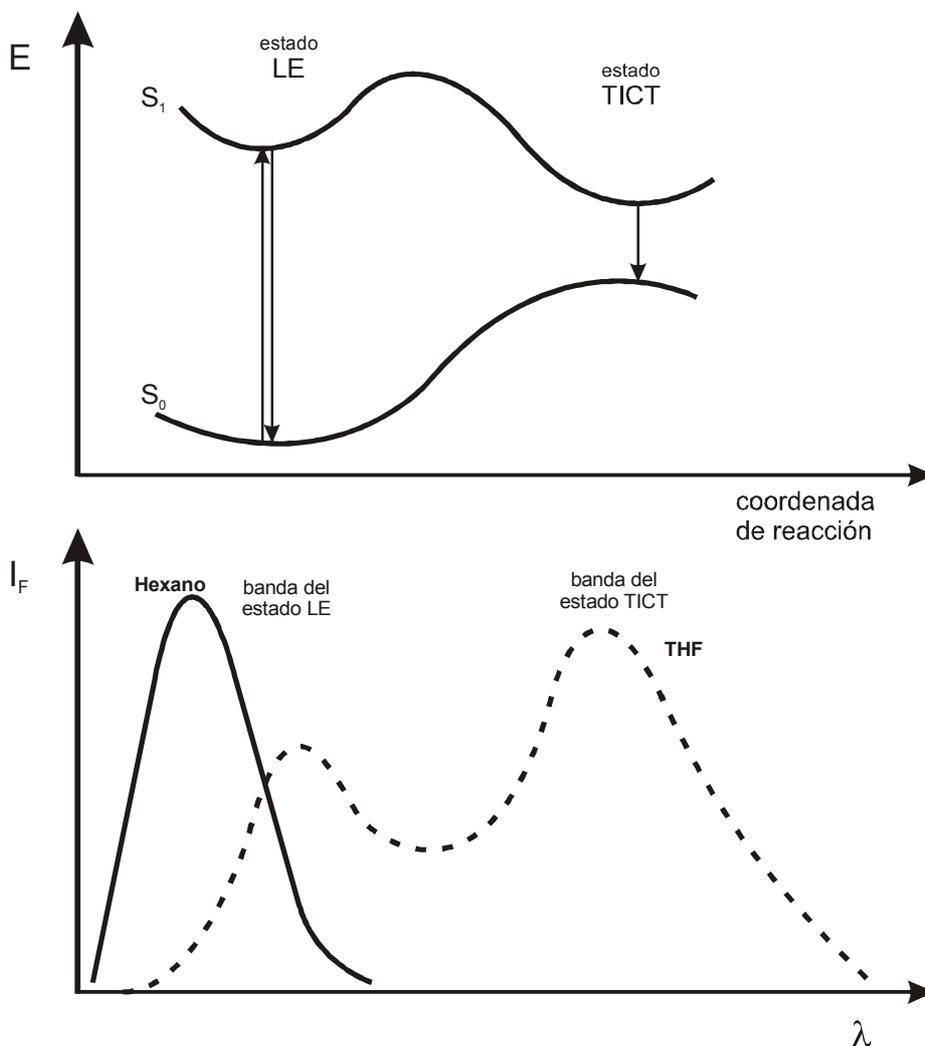


Figura A.9: Diagrama de estados en la emisión de fluorescencia para una molécula en la que se da el estado TICT.

¹⁵⁹ E. Lippert, W. Rettig, V. Bonacic-Koutecky, F. Heisel, J.A. Miené, *Adv. Chem. Phys.*, **1987**, 68, 1-173.

En el espectro de emisión, la banda debida a la emisión del estado LE (la banda “normal”) ahora se ve acompañada por otra banda a λ mayores, debida a la emisión del estado TICT (banda “anómala”) como se muestra en la figura A.9.

A.6.4. FORMACIÓN DE EXCÍMEROS Y EXCIPLEJOS

A.6.4.1. EXCÍMEROS

Un excímero es un dímero que se forma en el estado excitado (del inglés *excited dimer*). Se forma por colisión entre una molécula excitada y una molécula idéntica no excitada:



La representación simbólica $(MM)^*$ intenta describir que la energía de excitación está deslocalizada sobre los dos monómeros. Una vez se relaja la molécula, el excímero se disocia. La banda correspondiente a un excímero se localiza a λ mayores que la correspondiente al monómero y además nunca exhibe bandas vibrónicas: (figura A.10).

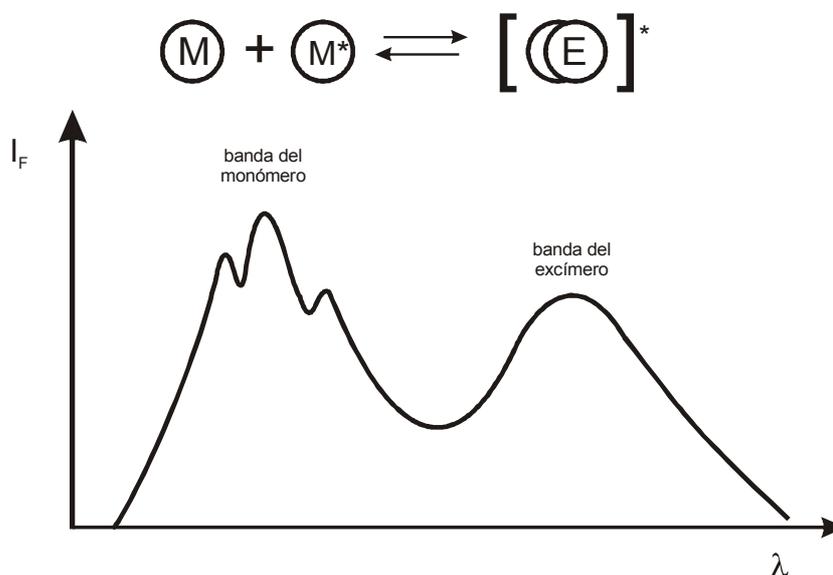


Figura A.10: Formación de un excímero con las correspondientes bandas de monómero y excímero.

Esta observación empírica se puede explicar con el modelo de superficies de energías (figura A.11). La curvatura monótona inferior representa la energía de repulsión entre dos moléculas en el estado fundamental. La curva superior, que se refiere a dos moléculas (una de ellas en estado fundamental), presenta un mínimo correspondiente a la formación del excímero en el que, por ejemplo, dos anillos aromáticos forman un apilamiento π a 3 - 4 Å. A diferencia de la banda del monómero,

la banda del excímero no presenta estructura puesto que el estado inferior ($M+M$) es disociativo y puede considerarse como un continuo. La formación de excímeros es un proceso controlado por difusión. Los efectos fotofísicos se detectan pues a concentraciones relativamente elevadas de las especies en la que pueden darse un número suficiente de colisiones durante el tiempo medio de vida del estado excitado. La temperatura y la viscosidad serán, pues, parámetros críticos.

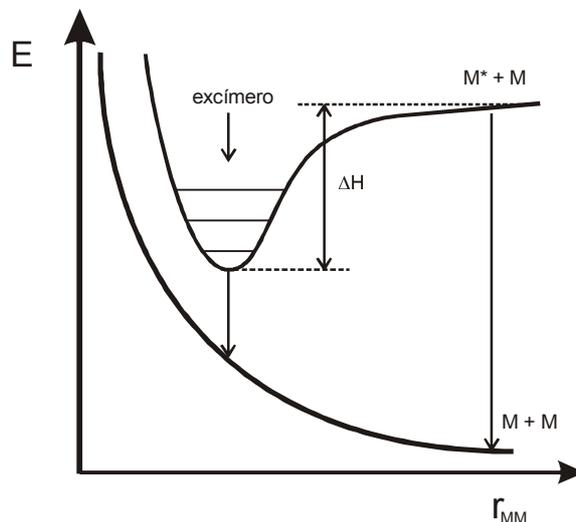
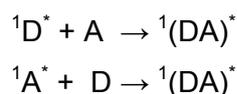


Figura A.11: Explicación de la naturaleza de la banda correspondiente al excímero.

A.6.4.2. EXCIPLEJOS

Son complejos en el estado excitado (del inglés **excited complex**). Se forman por colisión de una molécula excitada (un electrón-dador o aceptor) con una molécula no excitada de tendencias electrónicas opuestas (electrón aceptor o dador)



Al igual que los excímeros, el complejo se disocia al emitir la molécula, por lo que el complejo no se detecta en el estado fundamental. La banda correspondiente al exciplejo se observa a λ mayores que la de la molécula libre por la misma razón que en el caso de los excímeros.

Un ejemplo de exciplejo se da entre el antraceno y la dietilanilina (fig. A.12). Es el resultado de una transferencia de un electrón de la molécula de amina a una molécula excitada de antraceno.

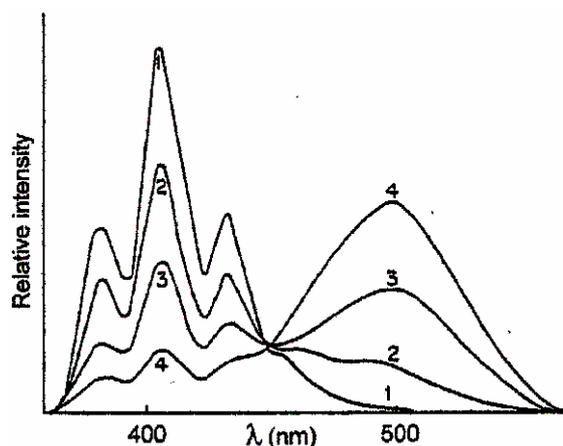


Figura A.12: Formación de excíplejos. Espectro de antraceno (3×10^{-4} mol L $^{-1}$) en presencia de dietilanilina a varias concentraciones en tolueno. **1:** 0 mol L $^{-1}$; **2:** 5×10^{-3} mol L $^{-1}$; **3:** 2.5×10^{-2} mol L $^{-1}$, **4:** 0.10 mol L $^{-1}$.

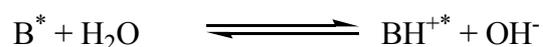
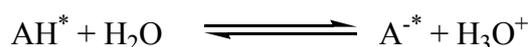
Los excíplejos se pueden considerar en algunos casos, especies intermedias en un proceso de transferencia electrónica de un dador a un aceptor.

A.6.5. TRANSFERENCIA DE PROTÓN FOTOINDUCIDA

En medio acuoso, las moléculas de agua pueden actuar como dadoras o receptoras de protones y además están en un contacto íntimo con las moléculas disueltas en él. Estas pueden ser ácidas o básicas y protonar o desprotonar respectivamente las moléculas de agua circundantes. En otras palabras, podemos decir que este proceso será muy rápido y no estará controlado por difusión.

Las propiedades ácidas o básicas de una molécula que absorbe luz no son las mismas en el estado fundamental o en el estado excitado. Una posible causa para este hecho experimental puede deberse a la redistribución de la densidad electrónica dentro de la molécula al pasar el electrón del HOMO al LUMO.

Los casos más interesantes son aquellos en los que los ácidos o las bases son más fuertes como tal en el estado excitado que en el fundamental, puesto que en estos casos, la absorción de un fotón desencadena la transferencia de un protón.

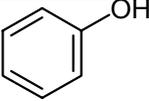
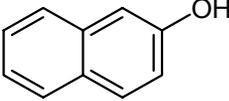
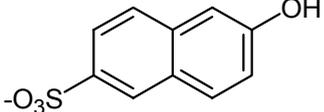
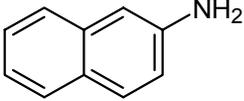
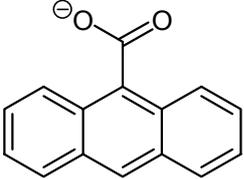
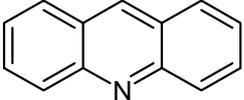


De este modo, el carácter ácido de un grupo dador de protones (p. ej. OH fenólico) puede verse incrementado después de la excitación de forma que el pK^* en el estado excitado sea mucho menor que el pK en el estado fundamental.

Igualmente, puede ocurrir que el pK^* de un grupo dador (p. ej. Un N heterocíclico) sea mucho mayor que el pK .

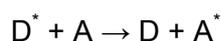
Existen muchos métodos para calcular los pK^* , como el método del ciclo de Förster. Algunos valores pueden verse en la tabla A.5.

Tabla A.5: Diferencia entre el pK en estado fundamental y el pK en estado excitado (pK^*) para diversas moléculas.

COMPUESTO	FÓRMULA	pK	pK^*
Fenol		10.6	3.6
2-naftol		9.3	2.8
2-naftol-6-sulfonato		9.12	1.66
2-naftilamina		7.1	12.2
Antraceno-9-carboxilato		3.7	6.9
acridina		5.5	10.6

A.6.6. TRANSFERENCIA DE ENERGÍA DE EXCITACIÓN (EET)

La transferencia de energía entre una molécula excitada (dador) a otra que es químicamente diferente (aceptor) de acuerdo con:



Es lo que se conoce como heterotransferencia. Este proceso es posible cuando el espectro de emisión del dador se solapa parcialmente con el de absorción del aceptor. Si el dador y el aceptor es el mismo, entonces tenemos una homotransferencia.

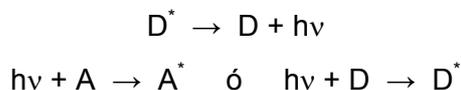


Si el proceso se reproduce de forma que la energía de excitación migra a través de unas cuantas moléculas, tenemos lo que se denomina transporte de excitación o migración de energía.

La transferencia de energía puede ser de dos tipos: radiativa y no-radiativa.

a) radiativa: La transferencia de energía radiativa corresponde a la absorción por una molécula A (o D) de un fotón emitido por una molécula D y puede ser observada cuando la distancia media entre D y A (o D) es mayor que la longitud de onda. Este tipo de transferencia no necesita ninguna interacción entre las partes implicadas, pero depende del solapamiento espectral y de la concentración.

Consta, como ya se ha dicho, de dos pasos diferentes:



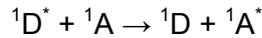
A veces este proceso también es conocido como transferencia trivial. Si la muestra no está lo suficientemente diluida, este proceso cobra mucha importancia y constituye el ya descrito efecto de filtro interno.

b) no radiativa: se da sin emisión de fotón y es el resultado de una interacción de corto o largo alcance entre moléculas. Por ejemplo, una transferencia no-radiativa por interacción dipolo-dipolo es posible a distancias de 80-100 Å entre fluoróforos.

La transferencia no-radiativa de energía de excitación requiere la interacción entre la molécula dadora y una aceptora, y solamente puede ocurrir si el espectro de emisión del dador solapa con el espectro de absorción del aceptor de tal forma que algunas transiciones vibrónicas en el dador tengan prácticamente la misma energía que las correspondientes transiciones en el aceptor. Estas transiciones están en resonancia y por eso es frecuente denominar a este tipo de transferencia transferencia resonante de energía (RET, del inglés *Resonante Energy Transfer*). Algunos autores también la denominan Transferencia de Energía de Excitación, en inglés *Excitation Energy Transfer*, EET).

La transferencia de energía se puede dar a través de diferentes mecanismos de interacción. Estas interacciones pueden ser de tipo coulómbico o debido al solapamiento intermolecular. Las interacciones de tipo coulómbico consisten en interacciones de largo alcance de tipo dipolo-dipolo (mecanismo de Förster) e interacciones multipolares de corto alcance. Las interacciones debidas a solapamiento orbital, que incluyen el intercambio electrónico (mecanismo de Dexter) y las

interacciones de resonancia de carga, y son, por supuesto, de corto alcance. Mientras la transferencia de energía entre singuletes:



pueden darse por cualquiera de los mecanismos anteriormente citados, las transiciones con cambio de spin solamente podrán darse por solapamiento orbital.

Si consideramos que únicamente dos son los electrones implicados en la transición, uno en D y otro en A, podemos escribir el estado inicial y el estado final como:

$$\psi_i = \frac{1}{\sqrt{2}} (\psi_{D^*}(1) \psi_A(2) - \psi_{D^*}(2) \psi_A(1)) \quad (\text{A.xiii})$$

$$\psi_f = \frac{1}{\sqrt{2}} (\psi_D(1) \psi_{A^*}(2) - \psi_D(2) \psi_{A^*}(1)) \quad (\text{A.xiv})$$

donde los números 1 y 2 corresponden a los dos electrones.

La matriz de interacción sería pues:

$$U = \langle \psi_i | V | \psi_f \rangle \quad (\text{A.xv})$$

Donde V es el factor de perturbación del hamiltoniano total ($\hat{H} = \hat{H}_D + \hat{H}_A + V$).

Así, U se puede escribir como la suma de dos términos:

$$U = \langle \psi_{D^*}(1) \psi_A(2) | V | \psi_D(1) \psi_{A^*}(2) \rangle - \langle \psi_{D^*}(1) \psi_A(2) | V | \psi_D(2) \psi_{A^*}(1) \rangle \quad (\text{A.xvi})$$

El primer término correspondería al mecanismo coulombico (fig. A.13).

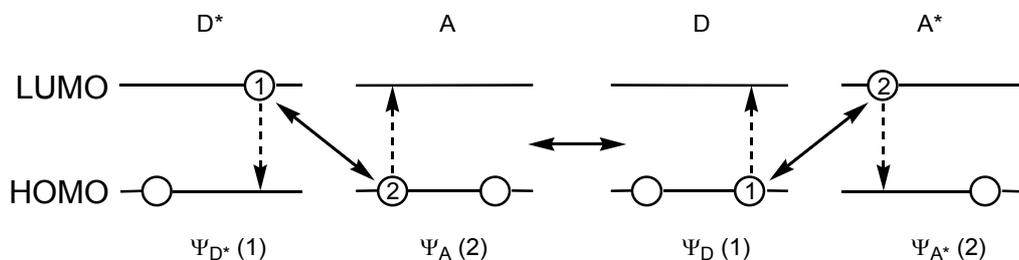


Figura A.13: Representación esquemática del mecanismo coulombico en la transferencia de energía de excitación.

Se tendría que el electrón excitado de D vuelve al estado fundamental, mientras que se promociona instantáneamente el electrón sobre A, que ahora quedará excitado.

El término coulombico se puede expandir en una suma de términos (serie multipolo-multipolo), pero normalmente se aproxima al primer término que representa la interacción dipolo-dipolo y es el predominante. Es pues una interacción entre los momentos de transición dipolares M_D y M_A de la transición $D \rightarrow D^*$ y $A \rightarrow A^*$. Depende pues del ángulo entre los momentos y es inversamente proporcional al cubo de la distancia $D - A$. La magnitud de este término puede ser grande incluso a largas distancias (80 – 100 Å) y es por eso que a largo alcance es el mecanismo claramente predominante.

El segundo término, $\langle \psi_{D^*}(1) \psi_A(2) | V | \psi_D(2) \psi_{A^*}(1) \rangle$, correspondería al mecanismo de intercambio, es decir, como consecuencia de un solapamiento entre nubes electrónicas. El electrón excitado (1) pasa de ser de D a ser de A, mientras que simultáneamente el electrón (2), de A en un principio, pasa a ser ahora de D (fig. A.14).

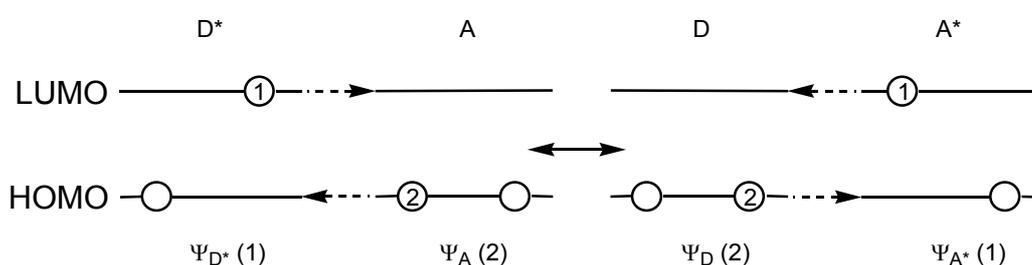


Figura A.14: Representación esquemática del mecanismo de intercambio en la transferencia de energía de excitación.

Este solapamiento requiere un contacto físico entre las nubes de carga de D y de A, puesto que la densidad electrónica decae aproximadamente de forma exponencial fuera de los límites de cada molécula, razón que explica por qué el valor de este término solamente es considerable a corta distancia ($<10\text{Å}$). Para una distancia r_{12} en el par D-A, el término se puede reescribir como:

$$U_{ex} = \left\langle \phi_{D^*}(1) \phi_A(2) \left| \frac{e^2}{r_{12}} \right| \phi_D(2) \phi_{A^*}(1) \right\rangle \quad (\text{A.xvii})$$

donde ϕ_D y ϕ_A son los armónicos esféricos de los orbitales de D y de A implicados. Es decir, que mayor será cuanto mayor sea la similitud entre las simetrías de ambos orbitales. El hecho de que el término U_{ex} no dependa de la simetría de los momentos de transición, al contrario que el término coulombico, sino que solamente de la simetría orbital, hace que se pueda dar este mecanismo entre moléculas perteneciente a diferentes multiplicidades de spin, pero siempre tendrá que ser cuando éstas estén separadas por pocos Å.

La figura A.15, constituye un resumen gráfico de los tipos de interacciones de EET que operan en cada una de las situaciones que pueden darse.

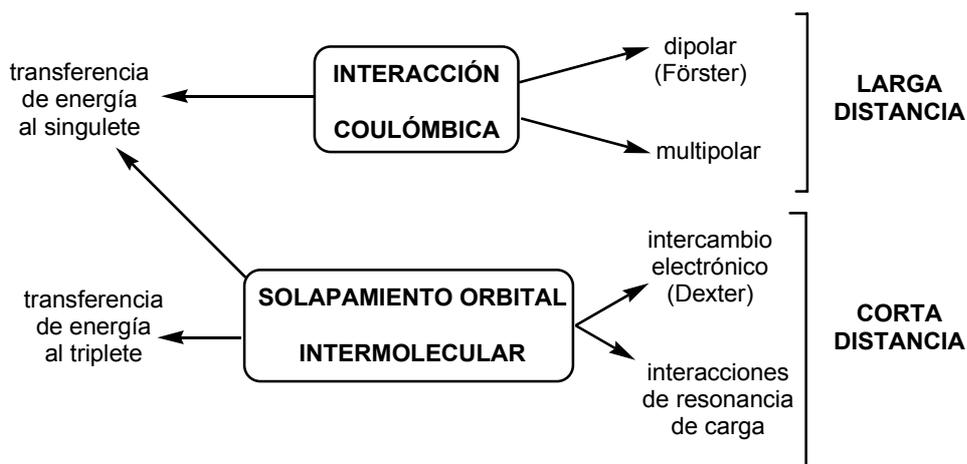


Figura A.15: Tipos de interacciones implicadas en el mecanismo de transferencia no-radiativa.

APÉNDICE B

Métodos de Cálculo de Constantes de Complejación

Dada la relevancia que el cálculo de constantes de complejación ha tenido a lo largo de la realización de este trabajo de investigación, y puesto que se han empleado varios métodos, se ha considerado oportuno escribir este apéndice en el que se exponen, brevemente, las bases de cada uno de los modelos utilizados.

B.1. MÉTODO DE LA RAZÓN MOLAR¹⁵⁴

La determinación de la constante de estabilidad pasa por la formulación de un modelo plausible de unión receptor-sustrato. Para construir dicho modelo, el conocimiento de la estequiometría es muchas veces fundamental. De entre las diversas técnicas existentes, el método de la razón molar es uno de los métodos más utilizados en la determinación de la estequiometría. Puesto que es difícil juzgar con exactitud a partir de un solo espectro qué especie, dentro del sistema formulado, está contribuyendo en el equilibrio de complejación, será necesario para deducir la naturaleza de la complejación, realizar una serie de medidas en las que la concentración de los componentes cambie a intervalos conocidos. En el método de la razón molar la concentración total de receptor $[L^0]$ se mantiene constante mientras se va variando la concentración total de sustrato $[M^0]$. La representación gráfica de una propiedad adecuada del sistema frente a la razón $[M^0]/[L^0]$ puede dar lugar a discontinuidades y cambios abruptos de pendiente. Las abscisas de estos puntos singulares se corresponden con la estequiometría de los complejos formados. En ocasiones estos cambios no son tan drásticos, dando lugar a una gráfica redondeada en la zona donde se produce la inflexión. Esto se produce generalmente cuando la

¹⁵⁴ B.J. Whitlock, H.W. Whitlock, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3910.

constante de complejación es baja y el complejo se forma en menor extensión. En estos casos se emplea la extrapolación de las regiones lineales de la gráfica a ambos lados para determinar la abscisa en el punto de intersección. Este método es bastante popular puesto que también se puede estimar el valor de la constante de estabilidad a partir de los datos obtenidos.

B.2. ECUACIÓN DE HILDEBRAND-BENESI¹⁵⁵

Este método es muy útil para calcular la constante de complejación en valoraciones donde la complejación solamente produce cambios en la señal del ligando (L) y no se observa ninguna señal debida al catión metálico en su forma libre (M). El segundo requisito para la validez del método, implica la linealidad y proporcionalidad de la señal que genere la técnica analítica elegida con la concentración de las especies en cada momento. Así los datos obtenidos en una valoración en RMN o en UV-visible y en fluorescencia (dentro del rango dinámico de concentración) pueden ser apropiados para ser tratados con este modelo. A continuación se expone el modelo aplicado a una valoración en RMN, pudiéndose adaptar a cualquier técnica anteriormente citada con pequeñas modificaciones.

La expresión general de la constante de estabilidad entre un receptor (L) y un sustrato (M) en un equilibrio de formación de complejos 1:1 es:



$$K = \frac{[LM]}{[L][M]} \quad (\text{B.ii})$$

donde [L], [M] y [LM] son las concentraciones en el equilibrio de L libre, M libre y de complejo LM. Si el intercambio en el equilibrio es muy lento y es posible la separación de la señal de L libre y la del complejo LM, se puede emplear la intensidad de éstas para determinar directamente las estequiometrías y la constante de estabilidad.

Si por el contrario el intercambio es rápido, sólo se podrá observar el promedio de ambas señales, lo que origina un desplazamiento en la señal original de L según avanza la valoración. Si este desplazamiento químico es considerable a medida que se va formando el complejo LM, se puede entonces pensar en un desplazamiento

¹⁵⁵ a) H.A. Benesi, J.H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 2703. b) M.W. Hanna, A.L. Ashbaugh, *J. Phys. Chem.*, **1964**, 68, 811.

ponderado. Teniendo en cuenta el peso de las especies se podría definir el desplazamiento total como:

$$\delta_{obs} = N_L \delta_L + N_{LM} \delta_{LM} \quad (\text{B.iii})$$

en donde δ_{obs} es el desplazamiento observado de la señal de L en la disolución en equilibrio. δ_L es el desplazamiento de L libre y δ_{LM} es el desplazamiento del complejo. Definimos ahora las fracciones molares (N) de cada uno de las especies como:

$$N_L = \frac{[L]}{[L] + [LM]} \quad (\text{B.iv}) \quad \text{y} \quad N_{LM} = \frac{[LM]}{[L] + [LM]} \quad (\text{B.v})$$

$$N_L + N_{LM} = 1 \quad (\text{B.vi})$$

Entonces, δ_{obs} se puede reescribir como:

$$\delta_{obs} = \delta_L + \frac{[LM]}{[L] + [LM]} (\delta_{LM} - \delta_L) \quad (\text{B.vii})$$

Y teniendo en cuenta que la concentración total de L y M es $[L^0]$ y $[M^0]$, entonces:

$$[L^0] = [L] + [LM] \quad (\text{B.viii})$$

$$[M^0] = [M] + [LM] \quad (\text{B.ix})$$

De la ecuación (B.vii) y (B.viii) se obtiene:

$$[LM] = \frac{[L^0] (\delta_{obs} - \delta_L)}{(\delta_{LM} - \delta_L)} = [L^0] \left(\frac{\Delta}{\Delta_0} \right) \quad (\text{B.x})$$

donde $\Delta = \delta_L - \delta_{obs}$ y $\Delta_0 = \delta_L - \delta_{LM}$. Δ/Δ_0 es lo que se denomina fracción de saturación y es igual a N_{LM} . Sustituyendo $[L]$ de la ecuación (B.ii) en la ecuación (B.viii) resulta:

$$[L^0] = \frac{[LM]}{K[M]} + [LM] = [LM] \left(\frac{1}{K[M]} + 1 \right) \quad (\text{B.xi})$$

de la ecuación (B.x) y la ecuación (B.xi), se obtiene:

$$\frac{1}{\Delta} = \frac{1}{\Delta_0 K [M]} + \frac{1}{\Delta_0} \quad (\text{B.xii})$$

Esta representación doble-recíproca es lo que se conoce como ecuación de Benesi-Hildebrand. Esta ecuación se resuelve por métodos gráficos.

El principal problema del método radica en encontrar el valor de [M] en cada punto, puesto que M no da señal analítica. Por ello, es necesario recurrir a un método iterativo para obtener un valor de [M] apropiado. Podemos aproximar el valor de [M] de una manera sencilla utilizando un valor estimado de Δ_0 en:

$$[M] = [M^0] - \left(\frac{\Delta}{\Delta_0} \right) [L^0] \quad (\text{B.xiii})$$

Si el valor de Δ_0 es el correcto, en la representación gráfica de la ecuación de Benesi-Hildebrand se obtendrá una recta. Si la gráfica se desvía de la linealidad, será necesario ir cambiando sistemáticamente el valor de Δ_0 hasta conseguir el mejor ajuste a la recta.

B.3. AJUSTE DIRECTO A LA ECUACIÓN ESTEQUIOMÉTRICA¹⁶⁰

Se puede determinar la constante de complejación ajustando directamente los datos obtenidos en una valoración a la ecuación estequiométrica, teniendo en cuenta, como posibles estequiometrías, LM_2 , LM y L_2M . La estequiometría vendrá determinada por los coeficientes estequiométricos (n y m) con los que se obtenga un valor menos disperso de K_{eq} a lo largo de la serie de puntos experimentales en el rango de α (fracción molar de complejo) de entre 0.20 y 0.80.



$$\alpha = \frac{I - I_0}{I_{lim} - I_0} \quad (\text{B.xv})$$

¹⁶⁰ A. Bianchi, A. Doménech, E. García-España, S.V. Luis, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3137.

$$[L] = C_L - n[M_m L_n] = C_L - \alpha C_L = C_L (1 - \alpha) \quad (\text{B.xvi})$$

$$[M] = C_M - m[M_m L_n] = C_M - (m/n)\alpha C_L \quad (\text{B.xvii})$$

$$K_{eq} = \frac{[M_m L_n]}{[M]^m [L]^n} \quad (\text{B.xviii}) \quad K_{eq} = \left(\frac{C_L^{\frac{n-1}{m}}}{n^{\frac{1}{m}}} \right) \left(\frac{\alpha^{\frac{1}{m}}}{\left(C_M - \frac{m}{n} \alpha C_L \right) (1 - \alpha)^{\frac{n}{m}}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{B.xix})$$

en donde:

C_L : concentración de ligando

C_M : concentración de metal

α : fracción molar de complejo

I : señal analítica en cada adición (intensidad de emisión de fluorescencia)

I_0 : valor inicial de la señal analítica (100% ligando)

I_{im} : valor final de la señal analítica (100% complejo)

B.4. CLINP 2.1

Clinp es una aplicación desarrollada por Y.V. Kholin et al. (V.N. Karazin Kharlov National University) que permite calcular constantes de complejación a partir de datos empíricos como valoraciones en RMN, UV o fluorimetrías. Está disponible en <http://www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html> (enlace revisado el 24.01.2005).

B.4. SPECFIT/32™

SPECFIT/32™ GLOBAL ANALYSIS SYSTEM v.3.0 desarrollada por Spectrum Software Associates (Marlborough, MA, USA) es una aplicación que permite realizar simulaciones de valoraciones en RMN, UV y fluorescencia y posteriormente ajustar todos los puntos de los espectros obtenidos en la valoración al modelo realizado. Esta aplicación es comercial, pero una versión de evaluación puede obtenerse de <http://www.bio-logic.info/rapid-kinetics/specfit.html> (enlace revisado el 24.01.2005).

Referencias

1. J. M. Lehn, "Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives", VCH, Weinheim (Alemania), **1995**.
2. P. Ehrlich, "Studies on Immunity", Wiley, New York, **1906**.
3. E. Fischer, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, **1894**, 27, 2985.
4. A. Werner, *Zeitschr. Anor. Chem.*, **1893**, 3, 267.
5. a) C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 7017; b) C. J. Pedersen, *Angew. Chem.*, **1988**, 100, 1053; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 1053.
6. a) B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 2885, 2889; b) B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage, J. Blanzat, *Tetrahedron*, **1973**, 29, 1629.
7. J.M. Lehn, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 1.
8. J.M. Lehn, J. Simon, J. Wagner, *Angew. Chem.*, **1973**, 85, 621; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.*, **1973**, 12, 578.
9. L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, L. Parodi, A. Taglietti, "Transition Metals in Supramolecular Chemistry", Editado por J.P. Sauvage, Wiley, New York, **1999**.
10. A. Weller, *Pure Appl. Chem.*, **1968**, 16, 115.
11. D. Rehm, A. Weller, *Isr. J. Chem.*, **1970**, 8, 259.
12. Y.C. Wang, H. Morawetz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 3611.
13. B.K. Selinger, *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 2087.
14. A.P. de Silva, S.A. de Silva, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 1709.
15. J. Bourson, M. N. Borrel, B. Valeur, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 257, 189.
16. J. Bourson, J. Pouget, B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 4552
17. J. Bourson, F. Badaoui, B. Valeur, *J. Fluoresc.*, **1994**, 4, 275.
18. M.Y. Chae, X.M. Cherian, A.W. Czarnik, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 5797.
19. E.U. Akkaya, M.E. Huston, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3590.
20. M.E. Huston, K.W. Haider, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 4460.
21. L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Taglietti, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 1733.
22. F. Unob, Z. Asfari, J. Vicens, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 2951.
23. A.P. de Silva, K.R.A.S. Sandanayake, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 1173.
24. G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, C. Mangano, D. Sacchi, N. Sardone, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, 257, 69.
25. L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, D. Sacchi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 1975.
26. L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.*, **1996**, 2, 167.
27. D.K. Cabbiness, D.W. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 2151.
28. L.C. Siegfried, T.A. Kaden, *J. Phys. Org. Chem.*, **1992**, 5, 549.
29. P. Suppan, "Chemistry and Light", The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1994**.
30. I. Aoki, T. Sakaki, S. Shinkai *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 730.

31. M.M. Martin, P. Plaza, N. Dai Hung, Y.H. Meyer, J. Bourson, B. Valeur, *Chem. Phys. Lett.*, **1993**, 202, 425.
32. M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, L. Begin, J. Bourson, B. Valeur, *J. Fluoresc.*, **1994**, 4, 271.
33. M.M. Martin, P. Plaza, Y.H. Meyer, F. Badaoui, J. Bourson, J.P. Lefebvre, B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 6879.
34. R.Y. Tsien, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, **1983**, 12, 91.
35. R.Y. Tsien, *Am. J. Physiol.*, **1992**, 263, 723.
36. R.Y. Tsien, *Trends Neurosci.*, **1988**, 11, 419.
37. R.Y. Tsien, M. Poenie, *Trends Biochem. Sci.*, **1986**, 11, 450.
38. R.Y. Tsien, *Annu. Rev. Neurosci.*, **1989**, 12, 227.
39. R.Y. Tsien, "In *Optical Methods in Cell Physiology*", P. de Weer, B.M. Salzburg, Eds., Wiley, New York, **1986**.
40. G. Grynkiewicz, M. Poenie, R.Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 3440.
41. A. Minta, R.Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 19449.
42. A.T. Harootunian, J.P.Y. Kao, B.K. Eckert, R.Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 19458.
43. B. Raju, E. Murphy, L.A. Levy, R.D. Hall, R.E. London, *Am. J. Physiol.*, **1989**, 256, 540.
44. R. Crossley, Z. Goolamali, P.G. Sammes, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 1615.
45. G.X. He, F. Wada, K. Kikukawa, S. Shinkai, T. Matsuda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1987**, 1294.
46. a) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, J.P. Sauvage, C.O. Dietrich-Buchecker, J.M. Kern, A. Bailal, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 3241. b) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, J.P. Sauvage, C.O. Dietrich-Buchecker, J.M. Kern, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1992**, 88, 553. c) N. Armaroli, L. De Cola, V. Balzani, C. Hemmert, J.P. Sauvage, *New J. Chem.*, **1994**, 18, 775.
47. S.A. Jonker, J.W. Verhoeven, C.A. Reiss, K. Goubitz, D. Heijdenrijk, *Rec. Trav. Chem. Pays Bas*, **1990**, 109, 154.
48. S.A. Jonker, S.A. Van Dijk, K. Goubitz, C.A. Reiss, W. Schuddeboom, J.W. Verhoeven, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **1990**, 183, 273.
49. S. Delmond, J.F. Létard, R. Lapouyade, R. Mathevet, G. Jonusauskas, C. Rullière, *New J. Chem.*, **1996**, 20, 861.
50. A.P. de Silva, H.Q.N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A.J.M. Huxley, C.P. McCoy, J.T. Rademacher, T.E. Rice, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1515.
51. D.B. MacQueen, K.S. Schanze, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 6108.
52. Y. Kikazawa, T. Akita, H. Nakamura, *Chem. Lett.*, **1993**, 1671.
53. H. Bouas-Laurent, A. Castellan, M. Daney, J.P. Desvergne, G. Guinand, P. Marsau, M.H. Riffaud, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 315.
54. F. Fages, J.P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, J.P. Konopelski, P. Marsau, Y. Barrans, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1990**, 655.
55. F. Fages, J.P. Desvergne, K. Kampke, H. Bouas-Laurent, J.M. Lehn, M. Meyer, A.M. Albrecht-Gary, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 3658.
56. I. Aoki, H. Kawabata, K. Nakashima, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, **1991**, 1771.
57. D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1995**, 1305.
58. A. Beeby, D. Parker, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1996**, 1565.
59. A. Bianchi, K. Bowman-James, E. Garcia-España, "Supramolecular Chemistry of Anions", Wiley-VCH, New York, 1997.
60. M. Shionoya, H. Furuta, V. Lynch, A. Arriman, J.L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5714.
61. M.E. Huston, E.U. Acalla, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8735.

62. D.H. Vance, A.W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 9397
63. A.W. Czarnik, *ACS Symp. Ser.*, **1994**, 561, 314.
64. M.W. Hosseini, A.J. Blacker, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3896.
65. P.D. Beer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1996**, 689.
66. P.D. Beer, S.W. Dent, T.J. Wear, *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, **1996**, 2341.
67. P.D. Beer, A.R. Graydon, L.R. Sutton, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2457.
68. F. Szemes, D. Heseck, Z. Chen, S.W. Dent, M.G.R. Drew, A.J. Goulden, A.R. Graydon, R. Grieve, R.J. Mortimer, T.J. Wear, J.S. Weightman, P.D. Beer, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 5868
69. M. Dhaenens, J.M. Lehn, J.P. Vigneron, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1993**, 1379.
70. G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, A. Poggi, A. Taglietti *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 202.
71. A. Homsí, J.C. Chambron, J.P. Sauvage, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 1841.
72. Y. Jenkins, A.E. Friedman, N.J. Turro, J.K. Barton, *Biochemistry*, **1992**, 31, 10809.
73. N.J. Turro, J.K. Barton, D.A. Tomalia, *Acc. Chem. Res.*, 1991, 24, 332.
74. R.E. Holmlin, J.K. Barton, *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 7.
75. P.L. Boulas, M. Gómez-Kaifer, L. Echegoyen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 216.
76. S.R. Miller, D.A. Gustowski, Z.C. Chen, G.W. Gokel, L. Echegoyen, A.E. Kaifer, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 2021.
77. M. Delgado, D.A. Gustowski, H.K. Yoo, V.J. Gatto, G.W. Gokel, L. Echegoyen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 119.
78. T. Saji, *Chem. Lett.*, **1986**, 275.
79. A. Benito, R. Martínez-Máñez, J. Soto, M.J.L. Tendero, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1997**, 93, 2175.
80. J.C. Medina, T.T. Goodnow, M.T. Rojas, J.L. Atwood, B.C. Lynn, A.E. Kaifer, G.W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 10583.
81. P.D. Beer, Z. Chen, M.G.B. Drew, A.J. Pilgrim, *Inorg. Chim. Acta*, **1994**, 225, 137.
82. P.D. Beer, Z. Chen, M.G.B. Drew, A.R. Graydon, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 4129.
83. A.M. Costero, C. Andreu, R. Martínez-Máñez, J. Soto, L.E. Ochando, J.M. Amigó, *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8159.
84. J.M. Fritsch, R.N. Adams, *J. Chem. Phys.*, **1965**, 43, 1887.
85. T. Mizoguchi, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 2058.
86. E.T. Seo, R.I. Nelson, J.M. Fritsch, L.S. Marcoux, D.W. Leedy, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 3498.
87. G.W. Gokel, *Crown Ethers and Cryptands*, The Royal Society of Chemistry. Cambridge. **1991**.
88. T. Osa, J.L. Atwood, "Inclusion Aspects of Membrane Chemistry", Kluwer Academic Publishers, **1991**.
89. R.M. Izatt, K. Bradshaw y Pawlak, *Chem. Rev.*, **1995**, 95, 2529.
90. J.M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 89.
91. J.M. Lehn, "Physical Chemistry of Transmembrane Ion Motions", Elsevier, Amsterdam, **1983**, 181
92. W. Simon, W.E. Morf, P.C. Meier, *Struct. Bonding*, **1973**, 16, 113.
93. M. Burgard, L. Jurdy, H.S. Park, R. Heimbürger, *Nouv. J. Chem.*, **1983**, 7, 575.
94. J.J. Christensen, J.D. Lamb, S.R. Izatt, S.E. Starr, G.C. Weed, M.S. Astin, B.D. Stitt, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 3219.
95. J.D. Lamb, J.J. Christensen, S.R. Izatt, K. Bedke, M.S. Astin, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 3399.

96. Y. Kobuke, K. Hanji, K. Horigushi, M. Hasada, Y. Nakayama, J. Furukawa, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 7414.
97. M. Sugiura, T. Shinbo, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1979**, 52, 684.
98. J.D. Lamb, J.J. Christensen, J.L. Oscarson, B.L. Nielsen, B.W. Asay, R.M. Izatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 6820
99. Y. Marcus, T. Nakashima, *J. Phys. Chem.*, **1983**, 87, 794.
100. J.D. Lamb, J.J. Christensen, R.M. Izatt, *J. Chem. Edu.*, **1980**, 57, 227.
101. S. Yoshida, T. Watanabe, *J. Coord. Chem.*, **1988**, 18, 63-68.
102. J.P. Behr, M. Kirch, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 241.
103. C. Chartoux, K. Wichmann, G. Goretzki, T. Rambusch, K. Gloe, U. Müller, W. Müller, F. Vögtle, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2000**, 39, 3616.
104. a) M. Newcomb, S.S. Moore, D.J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6405. b) T.W. Bell, P.G. Chang, M. Newcomb, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 5185. c) T. Kaneda, K. Sigjara, M. Kamiya, S. Misumi, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 4407.
105. J.S. Bradshaw, J.M. Guynn, S.G. Wood, B.E. Wilson, N.K. Dalley, R. M. Izatt, *J. Heterocyclic Chem.*, **1987**, 24, 415.
106. Y. Nakatsuji, T. Inoue, M. Wada, M. Okahara, *J. Incl. Phen. And Mol. Recog. In Chem.*, **1991**, 10, 379.
107. S. Sinkai, T. Minami, Y. Kusano, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 1851.
108. S. Shinkai, T. Ogawa, Y. Kusano, O. Manabe, K. Kikukawa, T. Goto, T. Matsuda, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 1960.
109. T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 7042.
110. T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 6321.
111. N.N. Li, *A. I. Ch. E. Journal*, **1971**, 17, 459.
112. J. Schmidt, A. Kampf, *Chem. Ver.*, **1903**, 36, 3738.
113. T.K. Mukherjee, *J. Phys. Chem.*, **1967**, 71, 2277.
114. Vogel's, "Textbook of Practical Organic Chemistry". Longman Scientific & Tech., 5^a Ed. Pág. 1061.
115. *Org. Syn. Coll. Vol. 1*: 12, 147 (**1941**), *Vol 3*: 169, 490, 547, 555, 712 (**1955**), *Vol. 4*: 154, 263, 339, 715, 739 (**1963**).
116. J. Szmuszkovicz, *J. Org. Chem.*, **1964**, 28, 843.
117. S.M. Tuladhar, C. D'Silva, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 3203.
118. L. Echegoyen, Y. Hafez, T. Torres, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 3814.
119. A. Bencini, A. Bianchi, E. García-España, V. Fusi, M. Micheloni, P. Paoletti, J.A. Ramírez, A. Rodríguez, B. Valtancoli, *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, **1992**, 1059.
120. P. Newman, P. Rutkin, K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 465.
121. D.M. Hall, J.M. Insole, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1972**, 1164.
122. E.M. Brun, S. Gil, M. Parra, *Tetrahedron Asym.*, **2001**, 12, 915.
123. D.P.J. Pearson, S.J. Leigh, I.O. Sutherland, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, **1979**, 3113.
124. H.C. Brown, P. Heim, *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 3566.
125. "The Merk Index", Merk & Co. Inc., New Jersey, **1996**. 12^a Ed.
126. G. Gran, *Analyst*, (London), **1952**, 77, 661.
127. HYSS. Hyperquad Simulation and Speciation. Desarrollado por: L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coordination Chemistry Reviews*, **184** (1999) 311-318. Software disponible en www.hyperquad.co.uk/hyss.htm (enlace revisado 24.01.2005).
128. I.B. Berlman, *J. Chem. Phys.*, **1970**, 52, 5616.
129. S.A. Mc Farland, N.S. Finney, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 1260.
130. S.A. Mc Farland, N.S. Finney, *Chem. Commun.*, **2003**, 388.

131. La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MMX como campo de fuerza incluidos en el programa PcModel para Windows versión 8.00.1, 14 junio 2001, Serena Software (www.serenasoft.com).
132. A.M. Costero, S. Gil, J. Sanchis, S. Peransí, V. Sanz, J.A.G. Williams, *Tetrahedron* **2004**, 60, 6327.
133. J.M. Lehn, F. Montavon, *Helv. Chim. Acta*, **1978**, 61, 67.
134. F. Arnaud-Neu, B. Spiess, M. J. Schwing-Weill, *Helv. Chim. Acta*, **1977**, 60, 2633.
135. K. Adam, S. Donnelly, A. Leong, L. Lindoy, B. McCool, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1990**, 1635.
136. La optimización de la geometría se realizó por Mecánica Molecular, utilizando MM+ como campo de fuerza y el algoritmo de Polac-Ribiere (gradientes conjugados) incluidos en el programa HyperChem versión 7.01 de Hypercube Inc. (www.hyper.com).
137. B. Valeur, "Molecular Fluorescence. Principles and Applications", Wiley-VCH, Weinheim (Alemania), **2002**.
138. L.S. Marcoux, J.M. Fritsch, R.N. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 89, 5766.
139. A.C. Aten, C. Buthker, G.J. Hoijtink, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1959**, 55, 324.
140. R.D. Allendoerfer, P.H. Rieger, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 2336.
141. E.J. Majeski, J.D. Stuart, W.E. Ohnesorge, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 633.
142. V.D. Parker, L. Ebersson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 7488.
143. SPECFIT/32™ GLOBAL ANALYSIS SYSTEM v.3.0, desarrollado por Spectrum Associates (Marlborough, MA, USA). Disponible en www.biologic.info/rapid-kinetics/specfit.html (enlace revisado 24.01.2005).
144. S.M. Peransí-Llopis, *Memoria de Investigación*, 2003.
145. M. Newcomb, J. M. Timko, D. M. Walba, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6392.
146. J. M. Timko, S. S. Moore, D. M. Walba, P. Hiberty, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 4207.
147. S.S. Moore, T.L. Tarnowski, M. Newcomb, D. J. Cram., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 6398.
148. J.D. Lamb, R.M. Izatt, J.J. Christensen, D.J. Eatough, "Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds", Plenum Press, New York, **1979**.
149. K. Gloe, H. Graubaum, M. Wüst, T. Rambusch, W. Seichter, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 222, 103.
150. T.B. Stolwijk, E.J.R. Sudhölter, D.N. Reinhoudt, J. Van Eerden, S. Harkema, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1000.
151. F.J. Rosotti, H.J. Rosotti, *J. Chem. Educ.*, **1965**, 42, 375.
152. G. M. Sheldrick, SHELX97, University of Göttingen, Germany, 1997.
153. D.B. Hope, K.C. Horncastle; *J. Chem. Soc. (C)*. **1966**, 1098.
154. B. J. Whitlock, H. W. Whitlock, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3910.
155. a) H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 2703. (b) M. W. Hanna, A. L. Ashbaugh, *J. Phys. Chem.*, **1964**, 68, 811.
156. Available from Y.V. Kholin, D.S. Konyaev, S.A. Merny in www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html.
157. S. R. Meech, D. Phillips, *J. Photochem.* **1983**, 23, 193.
158. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, **1985**, 1195.
159. Lippert, W. Rettig, V. Bonacic-Koutecky, F. Heisel, J.A. Miené, *Adv. Chem. Phys.*, **1987**, 68, 1.
160. A. Bianchi, A. Doménech, E. García-España, S.V. Luis, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3137.

Publicaciones

- A.M. Costero, J. Sanchis, S. Peransi, S. Gil, V. Sanz, A. Doménech. Bis(crown ethers) derived from biphenyl: Extraction and Electrochemical Properties. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4683-4691
- A.M. Costero, S. Gil, J. Sanchis, S. Peransi, V. Sanz, J.A.G. Williams. Conformationally regulated fluorescent sensors. Study of the selectivity in Zn²⁺ versus Cd²⁺ sensing. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 6327-6334
- A.M. Costero, J. Sanchis, S. Gil, V. Sanz, M.C. Ramírez de Arellano, J.A.G. Williams. Polyazapodands derived from biphenyl. Study of their behaviour as conformationally regulated fluorescent sensors. *Supramolecular Chemistry*, **2004**, 16, 435-446
- A.M. Costero, J. Sanchis, S. Gil, V. Sanz, J.A.G. Williams. Polyamine biphenyl derivatives as fluorescent sensors for anions and cations. *J. Mat. Chem.*, **2005**, en prensa. DOI:10.1039/D418022D

