

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE CALIX[4]ARENOS EN
CONFORMACION CONO Y 1,3-ALTERNADA
MODIFICADOS EN SU BORDE INFERIOR CON AMIDA Y
TIOUREA. ESTUDIO EN EL RECONOCIMIENTO DE IONES.***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Magíster en Química, área de Especialización en Química Medicinal y Memoria para optar al Título de Químico por:

***ANDRÉS NICOLÁS
OCHOA OCHOA***

Directores de Tesis: Dr. Claudio Antonio Saitz Barria y Dr. Alejandro Lorente

Santiago-CHILE
noviembre de 2021

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Dirección de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

ANDRÉS NICOLÁS OCHOA OCHOA

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Química, Área de Especialización: Química Medicinal y Título de Químico, en el examen público rendido el día

Director de Tesis:

Dr. Claudio Saitz

Co-director de Tesis:

Dr. Alejandro Lorente

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. German Gunther

Dr. Javier Romero

Dr. Fernando Godoy

Agradecimientos

Sin lugar a duda, este viaje ha sido uno de los más largos y difíciles de mi vida y si no fuera por todas las personas que me ayudaron de una u otra forma difícilmente podría estar aquí.

En primer lugar, quisiera agradecer a mi familia, a mi mamá Cinthya quien me mostro el cariño por la ciencia, a mi papá Miguel por su apoyo y sentido del humor, a mis tatas Jorge y Eliana por ser los pilares que me sostiene cuando nada más queda y mi tío Ricardo por ser uno de mis grandes compañeros. Además, a la familia Carrasco-Flores, que me abrieron las puertas de su casa sin conocerme y me han acompañado en gran parte de este proceso.

A mis directores de tesis, profesor Claudio Saitz y Alejandro Lorente, por guiarme, acompañarme y apoyarme, a todos mis profesores, quienes han marcado mi camino, como a la comisión conformada por los profesores German Gunther, Javier Romero, Fernando Godoy y al profesor Vicente Castro quien no solo fue un gran maestro si no que un gran amigo.

A mis compañeros de laboratorio Cinthia, Horacio, Juan pablo, Jazmín, Belén y José por su compañía y consejos, A la oleada española Alejandro y Julio por su amistad y enseñarme que las cosas se pueden hacer de mejore forma.

Y a todos mis amigos que sin ellos este viaje hubiese sido mucho más difícil.

Mis logros son también de ustedes.

Exposición de resultados

C. Saitz, A. Ochoa, C. Quiroga-Campano, H. Gómez-Machuca, C. Jullian, L. Chiassai, R. Ballestero-Garrido, R. Ballesteros, B. Abarca. 2017. Synthesis of New Receptors for Ions: Calixarene Linked Triazolopyridine by a Thiourea Bridge. Oral-Lecture en el 14th International Conference on Calixarenes, Tianjin, China.

A. Ochoa, C. Saitz, C. Jullian, H. Gómez-Machuca, C. Quiroga-Campano. Síntesis y Caracterización de nuevos Calix[4]arenos Unidos a Heterociclos a Través de un Enlace Amida. 2017. Presentación en Panel en la XII Jornadas Chilenas de Química, Puerto Varas, Chile.

Andrés Ochoa, Alejandro Lorente, Julio Rodríguez-Lavado, Carolina Jullian, Claudio Saitz. Development of chemosensors base don calix[4]arene Bound to BODIPY through thiourea and amide bridge in lower rim. 2019. Presentación en panel en el 15th International Conference on Calixarenes, Cassis, Francia.

A. Ochoa, A. Lorente, J. Rodríguez-Lavado, H. Pessoa, C. Saitz. Synthesis, characterization and binding properties of a mono and bis(calix[4]arene)-substituted BODIPY dye. 2019. Presentación en panel en el XIII International Workshop on Sensors and Molecular Recognition, Valencia, España.

Financiamiento

Beca de facultad de rebaja de arancel 2018 para estudio de magister.

El presente trabajo de tesis fue financiado por el Proyecto FONDECYT 1151310 a cargo de Dr. Claudio Saitz y por los Proyectos FONDECYT Postdoctoral N° 3170264 a cargo de Dr. Julio Lavado y N° 3180041 a cargo de Dr. Alejandro Lorente.

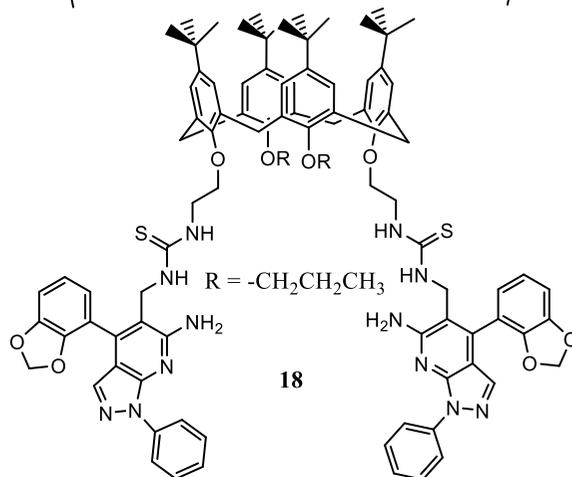
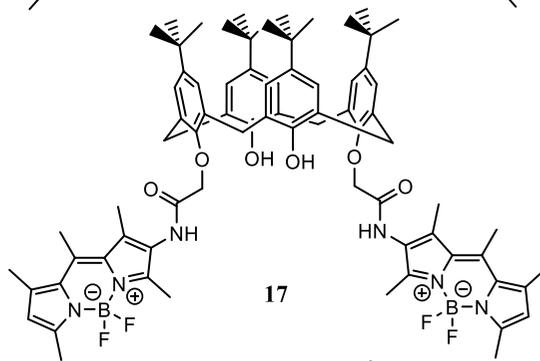
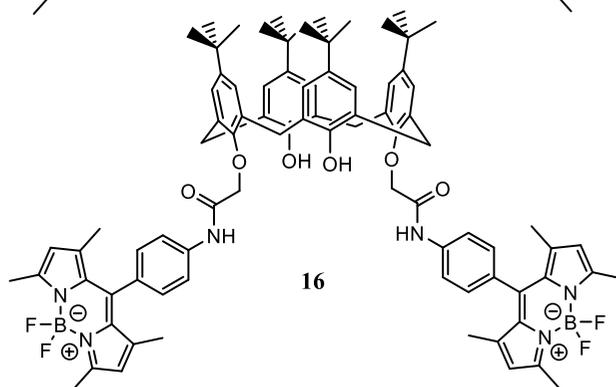
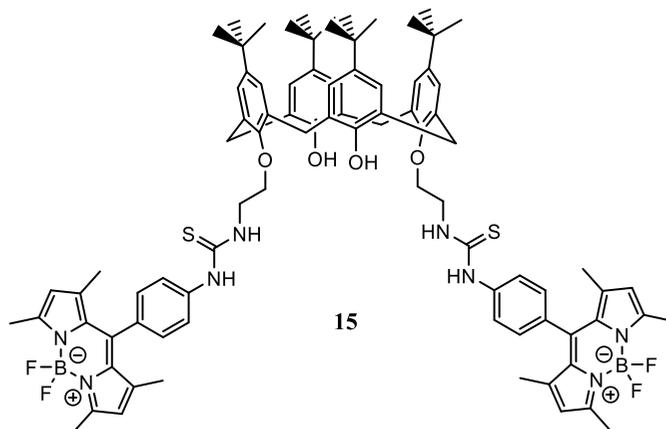
Resumen

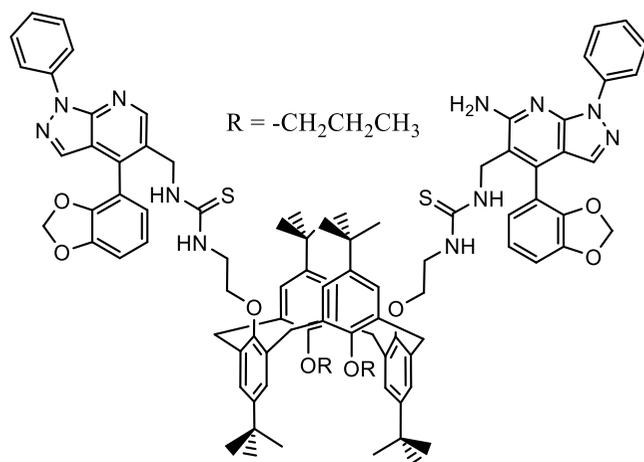
Los calix[4]arenos son compuestos macrocíclicos conformados por cuatro unidades fenólicas conectadas por puentes de metileno que poseen una cavidad hidrofóbica que permite la formación de complejos de inclusión con una gran variedad de moléculas. Dentro de sus principales características destacan su movilidad conformacional y su fácil funcionalización. A partir de estas modificaciones se pueden generar moléculas con estructuras definidas y con diferentes polaridades en su cavidad.

Gracias a sus características los calix[4]arenos han sido ampliamente estudiados en distintas áreas, destacándose en el desarrollo de receptores selectivos a iones, donde la funcionalización de estas moléculas a través de la incorporación de fluoróforos, permiten su estudio mediante técnicas espectroscópicas.

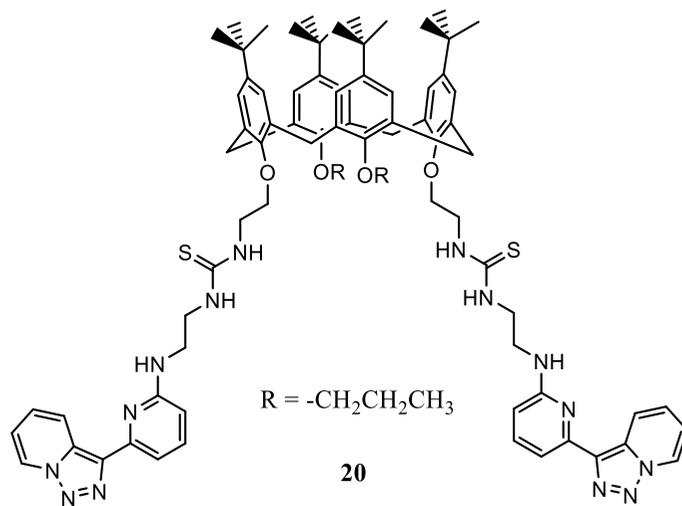
En la presente memoria de tesis se han diseñado, sintetizado y caracterizado siete nuevos calix[4]arenos (**15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20** y **21**) modificados en su borde inferior mediante la incorporación de grupos amida, tiourea y piridina unidos a derivados de BODIPY, triazolo[1,5-a]piridinas y pirazolo[3,4-b]piridina.

A través de espectroscopia de fluorescencia se evaluaron sus propiedades como receptores de iones, donde el calix[4]areno **15** presenta afinidad por el anión bisulfato con una constante de asociación $1,32 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Mientras que los receptores **20** y **21** resultaron específicos para los cationes Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} .

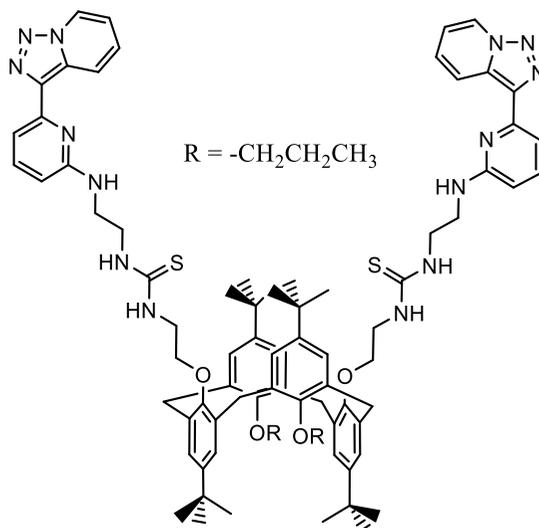




19



20



21

Tabla de contenido

1. Introducción	1
1.1 Química Supramolecular	1
1.2 Sensores moleculares	2
1.2.2 Importancia del desarrollo de sensores moleculares para iones.	2
1.2.3 Calixarenos.....	4
1.3 Sensores moleculares ópticos.....	8
1.3.1 Tipos de sensores ópticos según el tipo de interacción.....	10
1.3.3 Tipos de sensores fluorescentes según el proceso fotoinducido.	13
1.4 Fluoróforos	18
1.4.1 Derivados de 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.....	18
1.4.2 Heterociclos polinitrogenados	21
2. Hipótesis	24
3. Objetivos	25
3.1 Objetivo general	25
3.2 Objetivos específicos	25
4. Desarrollo experimental	27
4.1 Consideraciones generales	27
4.1.1 Reactivos y solventes comerciales.	27
4.1.2 Reactivos desarrollados por nuestro grupo u otros grupos de investigación.	28
4.1.3 Equipos.....	30
4.2 Procedimientos generales para el estudio espectroscópico.....	31
4.2.1 Análisis exploratorio de los sensores por espectroscopia de fluorescencia.....	31
4.2.2 Determinación de la estequiometría del complejo por método Job Plot. ⁴⁷	32
4.2.3 Determinación de la constante de asociación K_a por método lineal (Benesi-Hildebrand). ⁴⁸	32
4.2.4 Determinación de la constante K_{app} por método lineal de Hill. ⁵⁰	33

5. Resultados y discusión	35
5.1 síntesis de derivados de BODIPY	35
5.1.1 Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (1)	35
5.1.2 Síntesis de fenil-meso-BODIPYs (compuestos 3, 4 y 5).....	36
5.1.3 Síntesis de BODIPY- β -sustituidos	37
5.2 Síntesis los compuestos 16 y 17	40
5.3 Síntesis del compuesto 15	43
5.4 Síntesis y caracterización conformacional de los compuestos 18, 19, 20, 21	44
5.5 Estudio de calix[4]arenos con aniones y cationes por espectroscopia de fluorescencia.	47
5.5.1 Análisis exploratorio con iones	47
5.5.2 Determinación de las estequiometrias y constantes de asociación de los complejos receptor-ion.....	56
6. Conclusiones	66
7. Síntesis	68
7.1 Síntesis de 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol (1).	68
7.2 Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (2).....	69
7.3 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza- s-indaceno (3)	70
7.4 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a- diaza-s-indaceno (4).....	71
7.5 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a- 4a-diaza-s-indaceno (5)	72
7.6 Síntesis de 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído (6).....	73
7.7 Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (7).....	74
7.8 Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s- indaceno (8)	76
7.9 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s- indaceno (9)	77

7.10 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diaza-s-indaceno (10).....	78
7.11 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiociano-3a,4a-diaza-s-indaceno (11).....	79
7.12 síntesis de Calix[4]areno di-ácido (12)	80
7.13 Síntesis de 5,11,17,13-tetra- <i>tert</i> -butil-25,27-bis(2-ftalamidoetoxi)-26,28-dihidroxicalix[4]areno (13)	81
7.14 síntesis de 5,11,17,23-Tetra- <i>tert</i> -butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalix[4]areno(14)	82
7.15 síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Ph-BODIPY (15)	83
7.16 Síntesis de Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16)	84
7.17 Síntesis de Calix[4]areno-amida-BODIPY (17).....	86
7.18 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Pirazolo[3,4-b]piridina <i>cono</i> (18).....	87
7.19 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Pirazolo[3,4-b]piridina <i>1,3-alternado</i> (19).....	89
7.20 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Triazolo[1,5-a]piridinas <i>cono</i> (20)	90
7.21 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Triazolo[1,5-a]piridinas <i>1,3-alternado</i> (21).....	92
7. Bibliografía	94
Anexo 1 Espectros ¹ H-RMN.....	102
A.1.1 ¹ H-RMN 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (3)	102
A.1.2 ¹ H-RMN 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (4)	103
A.1.3 ¹ H-RMN 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (5).....	104
A.1.4 ¹ H-RMN 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (7).....	105
A.1.5 ¹ H-RMN 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (8).....	106
A.1.6 ¹ H-RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (9).....	107

A.1.7 ¹ H-RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diaza-s-indaceno (10)	108
A.1.8 ¹ H-RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiociano-3a,4a-diaza-s-indaceno (11)	109
A.1.9 ¹ H-RMN de Calix[4]areno di-ácido (12)	110
A.1.10 ¹ H-RMN 5,11,17,13-tetra- <i>tert</i> -butil-25,27-bis(2-ftalamidoetroxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (13).....	111
A.1.11 ¹ H-RMN 5,11,17,23-Tetra- <i>tert</i> -butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno(14).....	112
A.1.12 ¹ H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Ph-BODIPY (15)	113
A.1.13 ¹ H-RMN Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16).....	114
A.1.14 ¹ H-RMN Calix[4]areno-amida-BODIPY (17)	115
A.1.15 ¹ H-RMN Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy <i>cono</i> (18)	116
A.1.16 ¹ H-RMN Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy <i>1,3-altrnado</i> (19)	117
A.1.17 ¹ H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo <i>cono</i> (20).....	118
A.1.18 ¹ H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo <i>1,3-alternado</i> (21)	119
Anexo 2 Espectros de fluorescencia.....	120
A.2.1 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Ag ⁺ B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Ag ⁺	120
A.2.2 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Cd ²⁺ B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Cd ²⁺	121
A.2.3 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Zn ²⁺ B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Zn ²⁺ ...	121
A.2.4 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Cu ²	122
A.2.5 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Co ²	123
A.2.6 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Ni ²	124
A.2.7 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Cu ²	125

A.2.8 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Co ²	126
A.2.9 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Ni ²	127

Índice de figuras

Figura 1 Los cuatro diferentes conformeros del calix[4]areno Kappe, T. The early history of calixarene chemistry. <i>J Incl Phenom Macrocycl Chem</i> 19 , 3–15 (1994).	6
Figura 2: 4 Calix[4]areno como receptor de Ca ²⁺ y Na ⁺ . Kim, H. J., & Kim, J. S. (2006). <i>Tetrahedron Letters</i> , 47(39), 7051-7055.	7
Figura 3: Calix[4]areno receptor del cation Hg ²⁺ . Huang, J.; Fang, Y.; Dehaen, W. <i>Chemosensors</i> 2020, 8, 51.....	7
Figura 4: Diagrama de Jablonski. . Zimmermann, A. Zeug and B. Röder, <i>Phys. Chem. Chem. Phys.</i> , 2003, 5, 2964.	9
Figura 5: A) Ejemplo de sensor unidad receptora-unidad emisora B) Titulación del sensor utilizando ioduro desde 0 a 60 equivalentes. Gómez-Machuca, H. et al. <i>J Incl Phenom Macrocycl Chem</i> 80, 369–375 (2014).....	10
Figura 6: A) Dosímetro químico específico para cianuro B) titulación con ion cianuro. Y. M. Chung, B. Raman, D. Kim and K. H. Ahn, <i>Chem. Commun.</i> , 2006, 186.....	12
Figura 7:p-sulfonatocalix[4]areno y lucigenina como sensor por desplazamiento. G. Ghale, W. M. Nau, <i>Acc. Chem. Res.</i> 2014, 47, 2150– 2159.	13
Figura 8: A) Sensor selectivo a Zn ²⁺ B) Espectro de absorción y emisión al aumentar la concentración de Zn ²⁺ . Matthew E. McCarroll, et al. <i>J. Phys. Chem. B</i> 2006, 110, 46, 22991–22994.....	14
Figura 9: Estudio computacional de la transferencia electrónica fotoinducida para el sensor selectivo a Zn ²⁺ . Matthew E. McCarroll, et al. <i>J. Phys. Chem. B</i> 2006, 110, 46, 22991–22994.	15
Figura 10: A) 1H,3H-peptiridina-2,4-diona B) Estudio computacional de Transferencia de carga fotoinducida. Akef T. Afaneh et al. <i>J. Phys. Chem. A</i> 2015, 119, 29, 8106–8116.	16
Figura 11: A) Sensor sensible a mercurio y plata B) Espectro de emisión. Rodríguez-Lavado, J. et al. <i>RSC Adv.</i> 2020, 10 (37), 21963–21973.	17

Figura 12: Síntesis, numeración y posiciones de reacción de los BODIPY.	19
Figura 13: Reactividad básica de los BODIPY.....	20
Figura 14: Reactividad de BODIPY vía catalizadores.....	20
Figura 15 Síntesis de triazolo[1,5-a]piridinas	21
Figura 16: Síntesis de pirrolo[3,4-b]pirimidina con la piridina como base de síntesis.....	23
Figura 17: Síntesis de pirrolo[3,4-b]pirimidina con el pirazol como base de síntesis.....	23
Figura 18: Síntesis de amidas utilizando DCC y HOBt.	42
Figura 19: Análisis explotatorio con del calix[4]areno 15 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 475 nm..	48
Figura 20: Análisis explotatorio con del calix[4]areno 16 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 475 nm.	49
Figura 21: Rotameros de los meso-fenil-BODIPY.....	50
Figura 22: Análisis explotatorio con del calix[4]areno 18 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 320 nm..	51
Figura 23 Análisis explotatorio con del calix[4]areno 19 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 310 nm.	52
Figura 24: Análisis explotatorio con del calix[4]areno 20 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B)	

para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , $CH_3CO_2^-$ y $CF_3SO_3^-$. Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 350 nm..	54
Figura 25: Análisis explotartorio con del calix[4]areno 21 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , $CH_3CO_2^-$ y $CF_3SO_3^-$. Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 365 nm..	55
Figura 26: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de 5,03 μM del receptor 15 con el ion HSO_4^- en acetonitrilo.	56
Figura 27: a) Titulación del receptor 15 (1,15 μM) con 0 -1,8 equivalentes de HSO_4^- en acetonitrilo. b)Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Benesi-Hildebrand a 507 nm para el complejo 15 con HSO_4^-	57
Figura 28: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de 0,03 μM del receptor 20 con los iones Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} en acetonitrilo.....	59
Figura 29: a) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Cu^{2+} - en acetonitrilo. b) Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 con Cu^{2+}	60
Figura 30: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de 0,03 μM del receptor 21 con los iones Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} en acetonitrilo.....	63
Figura 31: a) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Co^{2+} en acetonitrilo. b) Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 con Co^{2+}	64

Índice de esquemas

Esquema 1 Estructura y reactividad del calix[4]areno.	5
Esquema 2: Síntesis de 3-(6-(N-dietilamina)-2-piridinil)-1,2,3-triazolo[1,5-a]piridina.	28
Esquema 3: Síntesis de 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi-26,28-dipropoxicalix[4]areno en conformación cono y 1,3-alternada.	29
Esquema 4: Síntesis de 5-(aminometil)-4-(benzo[1,3-d]dioxol-2-il)-3-metil-1-fenil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-amina	30
Esquema 5: Ruta de síntesis del 2,4-dimetilpirrol	35
Esquema 6: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno con sus intermediarios de reacción.	36
Esquema 7: Síntesis del compuesto 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno	37
Esquema 8: Síntesis del compuesto 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.	38
Esquema 9: Síntesis general del 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiocianato-3a,4a-diaza-s-indaceno.	39
Esquema 10: Síntesis de calix[4]arenos modificados en su borde inferior mediante la adición de grupos amida.	41
Esquema 11: Síntesis de calix[4]areno modificado en su borde inferior mediante la adición de tiourea.	43
Esquema 12: Síntesis de calix[4]arenos modificados en su borde inferior mediante la adición de tiourea en conformación cono y 1,3-alternada.	45
Esquema 13; Síntesis de 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol.	68
Esquema 14: Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (II).	69
Esquema 15: síntesis 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.	70

Esquema 16: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.	71
Esquema 17: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.	72
Esquema 18: Síntesis de 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído.....	73
Esquema 19: Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.	74
Esquema 20: Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.	76
Esquema 21: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.....	77
Esquema 22: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diaza-s-indaceno.....	78
Esquema 23: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiocianto-3a,4a-diaza-s-indaceno.	79
Esquema 24: Síntesis de calix[4]areno diácido.....	80
Esquema 25: Síntesis de 5,11,17,13-tetra-tert-butil-25,27-bis(2-ftalamidoetroxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno.	81
Esquema 26: síntesis de 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno.	82
Esquema 27: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Ph-bodipi (15).	83
Esquema 28: Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16)...	84
Esquema 29: Síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-amida-BODIPY (17).	86
Esquema 30: Síntesis de síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy cono (18).	87
Esquema 31: Síntesis de síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy 1,3-alternado (19).....	89
Esquema 32: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo cono (20).....	90

Esquema 33: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo 1,3-alternado (21).
.....92

Índice de tablas

Tabla 1 Patrones espectrales ¹H-RMN y ¹³C-RMN para las diferentes conformaciones del p-tert-butilcalix[4]areno y sus derivados.....5
Tabla 2: Log(K_{app}), coeficiente de Hill y valores de correlación para el receptor 20.....61

Glosario de abreviaciones

δ = Desplazamiento químico.

λ = Longitud de onda.

^1H -RMN = Resonancia magnética nuclear de protones.

AcOH = Ácido acético.

AcOEt = Acetato de etilo.

Ar = Aromático.

CDCl_3 = Cloroformo deuterado.

DMSO-*d*6 = Dimetilsulfóxido deuterado.

EtOH = Etanol.

K_A = Constante de asociación.

MHz (Hz) = Mega Hertz (Hertz).

t.a = Temperatura ambiente.

TEA = Trietilamina.

TFA = Ácido trifluoroacético.

TMS = Tetrametilsilano.

DDQ = 2,3-Dicloro-5,6-Diciano-1,4-Benzoquinona.

DMF = Dimetilformamida.

DIPEA = N,N-Diisopropiletilamina.

DCM = Diclorometano.

Hex = Hexano.

MeCN = Acetonitrilo.

MeOH = Metanol.

DCC = N,N'-diciclohexilcarbodiimida.

HOBT = 1-hidroxibenzotriazol.

1. Introducción

1.1 Química Supramolecular

La química supramolecular, más conocida como “la química más allá de la molécula”, es la rama de la ciencia que estudia las interacciones no covalentes existentes entre las moléculas: existe una molécula anfitrión o *host* que presentan sitios de unión convergentes (átomos básicos según la teoría de Lewis, átomos donadores de puentes de hidrógeno, etc.) y una molécula huésped o *guest* con sitios de unión divergentes (átomos ácidos según la teoría de Lewis, átomos receptores de puentes de hidrógeno, etc.).¹

Si bien los antecedentes de la química supramolecular se remontan al año 1756 con el descubrimiento de las zeolitas, no fue hasta 1978 en que el químico francés Jean-Marie Lehn introdujo el término, dando así inicio a su estudio formal, que ha permitido el entendimiento de diversos fenómenos naturales como el comportamiento de doble hélice del ADN, la relación sustrato enzima o el plegamiento de proteínas. Así, también como el desarrollo de catalizadores, inhibidores enzimáticos, extractantes, receptores de moléculas biológicas, sensores moleculares, entre otros.²

1.2 Sensores moleculares

Una de las aplicaciones más relevantes de la química supramolecular es el desarrollo de sensores moleculares. Estos son moléculas hospedadoras capaces de generar una respuesta macroscópica medible a la presencia de un analito específico, a través de distintas interacciones, permitiendo detectar y cuantificar al analito en cuestión. Para esto la molécula anfitriona debe tener, aparte del sitio de unión, una unidad señalizadora encargada de generar la señal macroscópica medible cuando el huésped se une al sitio de unión.

El tipo de señal medible es el que define el tipo de sensor con el que trabajamos, si la respuesta a la presencia del analito es un cambio en las propiedades redox de la molécula hospedadora, tendremos un sensor electroquímico. Los sensores sustituidos con cromóforos o fluoróforos permiten la obtención de sensores moleculares cromogénicos o fluorogénicos, respectivamente. Estos últimos sensores son conocidos también como sensores ópticos y son el tema principal por tratar en esta tesis.³

1.2.2 Importancia del desarrollo de sensores moleculares para iones.

El continuo desarrollo de sensores moleculares para iones se debe principalmente a la gran importancia que estos tienen en distintos procesos biológicos e industriales.⁴ Por ejemplo, los cationes sodio, potasio, magnesio, calcio y litio actúan en la transmisión de impulsos nerviosos, la contracción muscular, regulación de la actividad celular y están presentes en la formulación

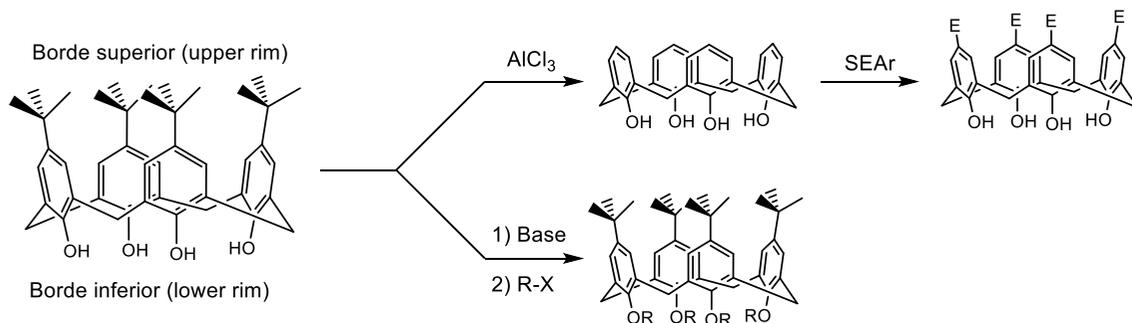
de diversos medicamentos para el tratamiento de trastornos mentales y la regulación de la presión arterial.⁵ Mientras que muchos otros iones metálicos participan como cofactores enzimáticos.⁶ Por otra parte, tanto el cobre y el cromo son micronutrientes esenciales para la vida, pero una elevada concentración de estos en el organismo puede provocar diversos daños incluso la muerte.⁷ Además, estos cationes pueden ser peligrosos contaminantes en medios acuosos.⁸ La presencia de elevadas concentraciones de aluminio ha sido identificado como un importante factor de riesgo en la enfermedad de Alzheimer¹¹ y metales pesados como cadmio, plomo, mercurio y arsénico, han sido identificados como carcinógenos, además de provocar serios daños al sistema músculo-esquelético y al sistema nervioso central.¹²

Los aniones, al igual que los cationes, juegan un papel importante en diversos procesos bioquímicos, además según su naturaleza y concentración pueden provocar daños a la salud y al medio ambiente. El anión cloruro es un importante electrolito responsable de mantener el potencial electroquímico en ambos lados de la membrana celular, mientras que el ion acetato es un sustrato fundamental en la biosíntesis de ácidos grasos.¹³ Por otro lado, debido a que la economía nacional depende fuertemente de la minería del cobre y que este se encuentre principalmente en forma de minerales sulfurados como la calcopirita (CuFeS_2), bornita (Cu_5FeS_4) calcosina (Cu_2S), covelina (CuS) y enargita (Cu_3AsS_4), existen graves problemas de contaminación por sulfuro, sulfatos y arseniatos, los cuales

provocan serios daños al sistema respiratorio y a la piel, además de ser cancerígenos.¹⁴ Los nitratos y fosfatos utilizados como insecticidas y fertilizantes provocan la acumulación excesiva de algas en cursos de agua (eutrofización), agotando el oxígeno disuelto, lo que provoca la muerte de la flora y fauna en ríos y lagos.¹⁵ Igualmente, los cromatos y dicromatos provenientes de diferentes procesos industriales (curtiembre, pinturas, cementos, etc) son altamente tóxicos y cancerígenos.¹⁶

1.2.3 Calixarenos.

Los calixarenos son compuestos macrocíclicos que se obtienen de la condensación en medio básico entre *p*-tertbutilfenol y formaldehído, los cuales fueron reportados por primera vez en 1941, iniciándose una tercera generación de la química anfitrión-huésped, después de los éteres-corona y las ciclodextrinas.¹⁷ Estas moléculas presentan dentro de su estructura “n” unidades fenólicas y dos zonas bien definidas, un borde superior hidrofóbico y un borde inferior hidrofílico, los cuales pueden ser fácilmente modificados al incorporar diversos grupos funcionales tales como ésteres, amidas, tioureas, bases de Schiff, organofosforados, etc. (esquema 1).¹⁸



Esquema 1 Estructura y reactividad del calix[4]areno.

Además de la fácil modificación que presentan los calix[4]arenos (constituidos por cuatro unidades fenólicas), se pueden obtener cuatro diferentes isómeros rotacionales: *cono*, *cono parcial*, *1,2-alternado* y *1,3-alternado* (figura 1), esto gracias a la libre rotación que presentan los puentes de metileno.¹⁹ Los conformeros son fácilmente identificables por espectroscopia de resonancia magnética nuclear, tanto de protones ($^1\text{H-RMN}$) como de carbono-13 ($^{13}\text{C-RMN}$), gracias a la relación entre el número de señales y a su multiplicidad (tabla 1).²⁰

Tabla 1 Patrones espectrales $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$ para las diferentes conformaciones del *p*-tert-butilcalix[4]areno y sus derivados.

Conformación	$^1\text{H-RMN}$		$^{13}\text{C-RMN}$	
	ArH	CH ₂	N° señales Ar	N° señales CH ₂
<i>Cono</i>	Un singulete	Par de dobletes	4	1
<i>cono parcial</i>	Dos singuletes y dos dobletes	Dos pares de dobletes	12	2
<i>1,2 alternado</i>	Dos singuletes	Un singulete y dos dobletes	4	2
<i>1,3 alternado</i>	Un singulete	Un singulete	4	1

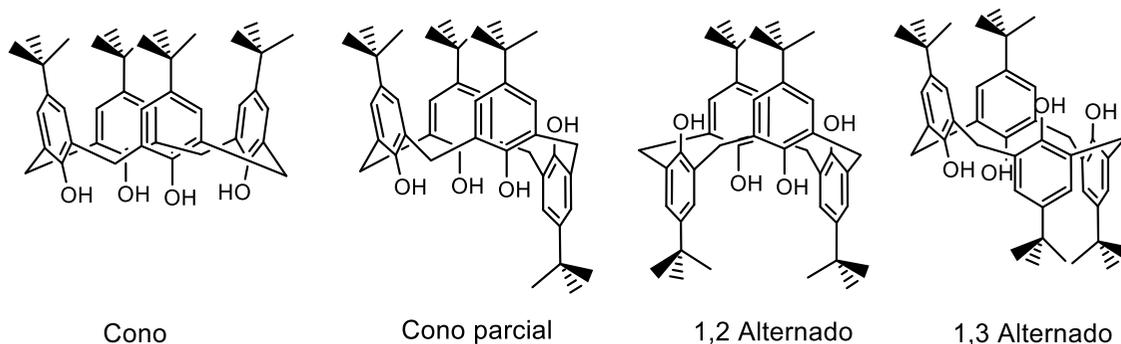


Figura 1 Los cuatro diferentes conformeros del calix[4]areno Kappe, T. *The early history of calixarene chemistry*. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **19**, 3–15 (1994).

Los calix[4]arenos se han transformado en moléculas de mucho interés para el desarrollo de catalizadores,²¹ reconocimiento de aminoácidos y dipéptidos,²² inhibidores enzimáticos,²³ extractantes de lantánidos y actínidos,²⁴ sensores altamente selectivos de cationes y aniones,²⁵ entre otras aplicaciones.

Ejemplo de lo anterior es el calix[4]areno sintetizado por Hyun Jung Kim *et al.*²⁶ el cual es un calix[4]areno modificado en su borde inferior al incorporar grupos ésteres y en su borde superior donde se encuentra el fluoróforo. Este calix[4]areno es capaz de reconocer selectivamente Ca^{+2} y Na^{+} (figura 2) siendo la respuesta macroscópica a la interacción la disminución de la intensidad de fluorescencia.

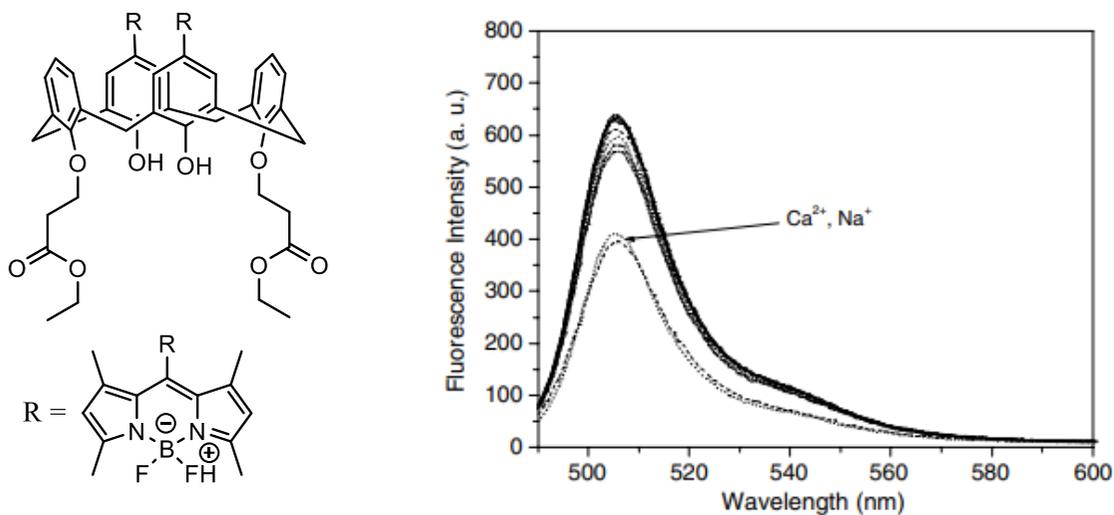


Figura 2: 4 Calix[4]areno como receptor de Ca²⁺ y Na⁺. Kim, H. J., & Kim, J. S. (2006). Tetrahedron Letters, 47 (39), 7051-7055.

Otro ejemplo de esto es el calix[4]areno desarrollado por Mine Sulak *et al.*²⁷ Este compuesto es capaz de reconocer selectivamente al catión Hg²⁺, siendo la respuesta macroscópica en este caso el desplazamiento hipsocrómico de la banda de absorción. (figura 3).

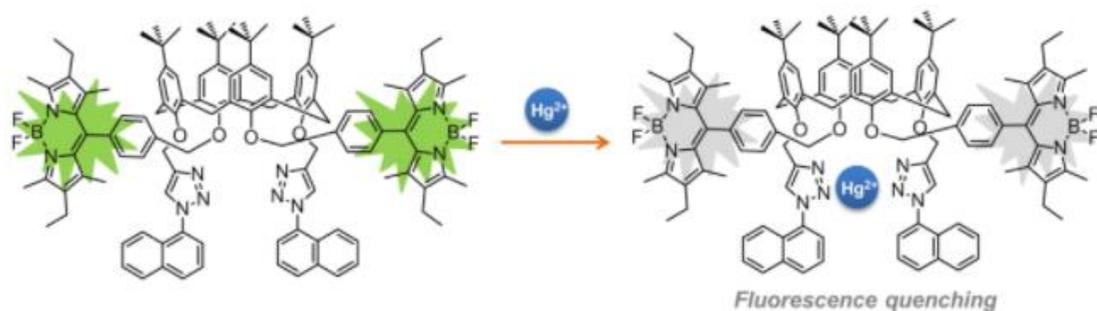


Figura 3: Calix[4]areno receptor del cation Hg²⁺. Huang, J.; Fang, Y.; Dehaen, W. Chemosensors 2020, 8, 51.

1.3 Sensores moleculares ópticos.

Los sensores ópticos corresponden a sensores donde la respuesta macroscópica a la presencia del analito provoca un cambio en la longitud de onda o en la intensidad de la radiación absorbida o emitida por la unidad señalizadora.

Cuando la unidad señalizadora es irradiada con radiación electromagnética de una longitud de onda específica, equivalente a la diferencia de energía entre los orbitales HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*, orbital más alto en energía ocupado) y LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, orbital más bajo en energía desocupado), absorbe energía pasando de su estado electrónico basal (S_0) a un estado electrónico excitado (S_1). Es por esto, que en la unidad señalizadora se busca incorporar distintos grupos funcionales que permitan transiciones del tipo $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ (alquenos, carbonilos y anillos aromáticos) o transiciones $n \rightarrow \pi^*$ (compuestos nitrogenados, azufrados, fosforados, etc.).²⁸

Los sensores en que se aprovecha el fenómeno de absorbancia se denominan sensores cromogénicos y presentan la ventaja de que se pueden realizar *in situ*. El material instrumental necesario suele ser simple, asequible y económico, no implica la destrucción de la muestra, presentan amplios intervalos de respuesta lineal y si los cambios espectrales ocurren en el rango de luz visible, la interacción con el analito provocará un cambio en el color, el cual puede ser detectado por el ojo humano.

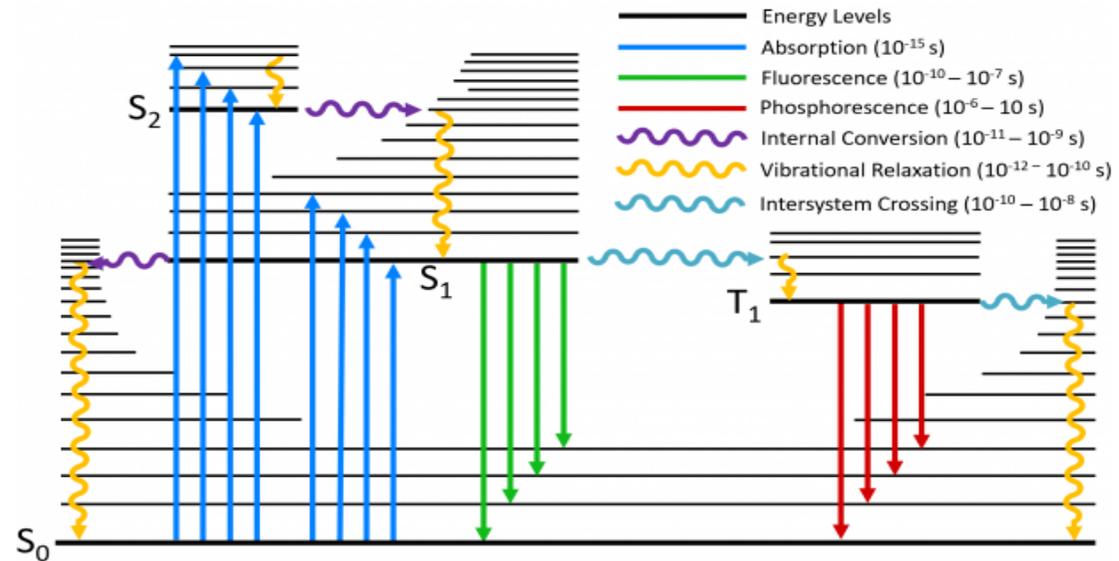


Figura 4: Diagrama de Jablonski. . Zimmermann, A. Zeug and B. Röder, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2003, 5, 2964.

Luego de que ocurre la absorción, la unidad receptora decae del estado excitado al estado basal como se ve en el diagrama de Jablonski (figura 4). Este relajamiento puede ocurrir por dos vías, que están en continua competencia. La desactivación no radiativa, dentro de la cual se encuentran mecanismos como la conversión interna (*Internal Conversion*, IC), relajación vibracional (*Vibrational Relaxation*, VR) y el cruce de sistemas (*Intersystem Crossing*, ISC), y la desactivación radiativa, donde tenemos la fluorescencia (tanto el estado basal y el estado excitado tienen multiplicidad singulete) y la fosforescencia (el estado basal es singulete y el excitado triplete).

Los sensores fluorescentes presentan las mismas ventajas que los sensores cromogénicos, pero se les suma una alta especificidad, así como un bajo límite de detección y cuantificación.

1.3.1 Tipos de sensores ópticos según el tipo de interacción.

Según el tipo de interacción podemos reconocer principalmente tres tipos de sensores ópticos que se detallan a continuación.

Unidad receptora-unidad emisora: En este tipo de sensores la unidad receptora y la unidad encargada de emitir la señal medible se encuentran unidas mediante enlaces covalentes. La interacción del analito con el anfitrión provoca un cambio en las propiedades espectroscópicas del sensor.

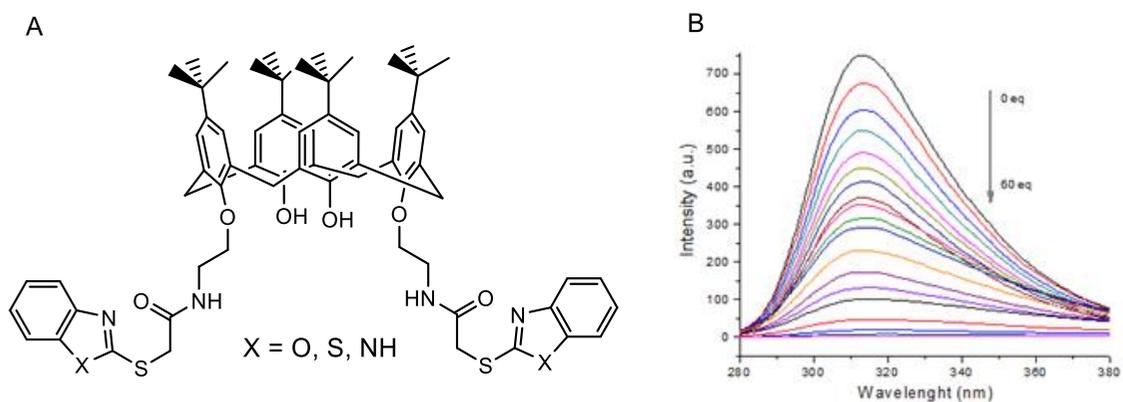


Figura 5: A) Ejemplo de sensor unidad receptora-unidad emisora B) Titulación del sensor utilizando yoduro desde 0 a 60 equivalentes. Gómez-Machuca, H. et al. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 80, 369–375 (2014).

Horacio Gómez-Machuca *et al.*²⁹ desarrollaron una serie de sensores cromogénicos a base de calix[4]arenos sustituidos en su borde inferior (figura

5A). Para esto se incorporaron al calix[4]areno los grupos amida, ya que son capaces de formar interacciones por puentes de hidrógeno con aniones, y como unidad señalizadora se utilizaron los heterociclos benzoxazol, benzotiazol y benzimidazol. El estudio de selectividad de estos compuestos arrojó una fuerte selectividad para el ion yoduro, mostrando una disminución de la absorbancia del sensor en presencia del analito (figura 5B).

Dosímetro químico: en estos sensores se ve involucrada una reacción química (muchas veces irreversible) entre la molécula anfitriona y el huésped. Al ocurrir esta reacción química se genera la respuesta macroscópica medible, la que puede tratarse del cambio de color, así como la activación o desactivación de la fluorescencia.

Las sales de cianuro son unos de los compuestos más tóxicos para el ser humano, por esto resulta importante el desarrollo de técnicas que permitan detectar y cuantificar su presencia. Así Yun Mi Chung *et al*⁸⁰ sintetizaron la molécula 5-(dimetilamino)naftalen-1-ácido sulfónico [2-(2,2,2-trifluoroacetil)fenil]-amida (figura 6A), capaz de detectar el ion cianuro mediante una reacción química, que provoca un aumento en la intensidad de la fluorescencia con un desplazamiento hacia menores longitudes de onda de esta (figura 6B).

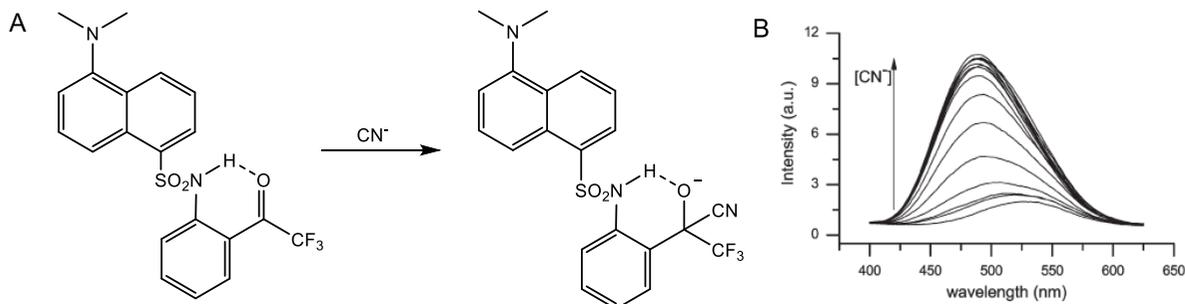


Figura 6: A) Dosímetro químico específico para cianuro B) titulación con ion cianuro. Y. M. Chung, B. Raman, D. Kim and K. H. Ahn, *Chem. Commun.*, 2006, 186.

Sensor por desplazamiento: en este tipo de sensor la unidad receptora no se encuentra enlazada mediante enlaces covalentes a la unidad emisora, sino que lo hace a través de interacciones no covalentes. Cuando el analito se encuentra en contacto con este tipo de sensores, se genera una competencia por el sitio de unión entre la unidad emisora y el huésped. Cuando el huésped desplaza a la unidad emisora esta última queda libre en solución emitiendo así la señal correspondiente.

Garima Ghale *et al.*³¹ utilizando *p*-sulfonatocalix[4]areno como unidad receptora y lucigenina (figura 7) como fluoróforo desarrollaron un sensor por desplazamiento sensible a colina, acetilcolina y protamina. Esto con el fin de estudiar el traspaso de estas sustancias a través de la membrana celular. En un inicio la lucigenina no presenta fluorescencia, debido a que se encuentra encapsulada dentro del *p*-sulfonatocalix[4]areno. De este modo cuando los analitos en cuestión ingresan al medio intracelular desplazan al fluoróforo provocando la aparición de la fluorescencia.

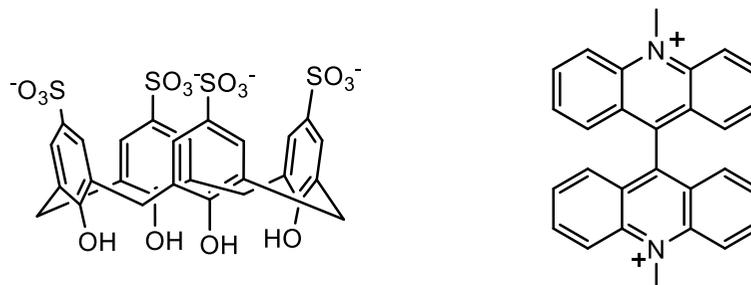


Figura 7: p-sulfonatocalix[4]areno y lucigenina como sensor por desplazamiento. G. Ghale, W. M. Nau, *Acc. Chem. Res.* 2014, 47, 2150– 2159.

1.3.3 Tipos de sensores fluorescentes según el proceso fotoinducido.

También podemos clasificar a los sensores moleculares según el proceso fotoinducido que ocurre cuando se estudia la interacción anfitrión-huésped. Los principales procesos son: transferencia electrónica fotoinducida (PET), transferencia de carga fotoinducida (PCT) y formación de excímeros.

Trasferencia electrónica fotoinducida: El fenómeno de fluorescencia ocurre cuando un electrón excitado del orbital molecular LUMO decae al orbital HOMO, emitiendo luz como se vio anteriormente en el diagrama de Jablonski. Mediante el mecanismo PET podemos obtener dos tipos de sensores: los sensores “*Off-on*” y los sensores “*On-off*”. En los sensores *Off-on* el sitio de unión con el analito posee un par de electrones ubicados en un orbital, cuya energía se encuentra entre la de los orbitales HOMO y LUMO del fluoróforo, ofreciendo un mecanismo de desactivación no radiativa de la fluorescencia. Cuando ocurre el “sensado” el par electrónico del sitio de unión participa de éste, estabilizando así el orbital donde se encuentran permitiendo que ocurra la fluorescencia.

En el caso de los sensores *on-off* el sensor sin el analito presenta el mecanismo de fluorescencia, pero al ocurrir el “sensado” un orbital vacío ya sea del sitio de unión o del analito adquiere una energía que se encuentra entre el HOMO y el LUMO del fluoróforo, ofreciendo un mecanismo de desactivación no radiativa.

Como ejemplo de este mecanismo tenemos el sensor específico para Zn^{2+} estudiado por Matthew E. McCarroll *et al.*³² (figura 8). En este estudio se realizaron los cálculos computacionales para determinar la energía de los orbitales HOMO y LUMO tanto del fluoróforo y de la unidad receptora, antes y después de la interacción con el analito.

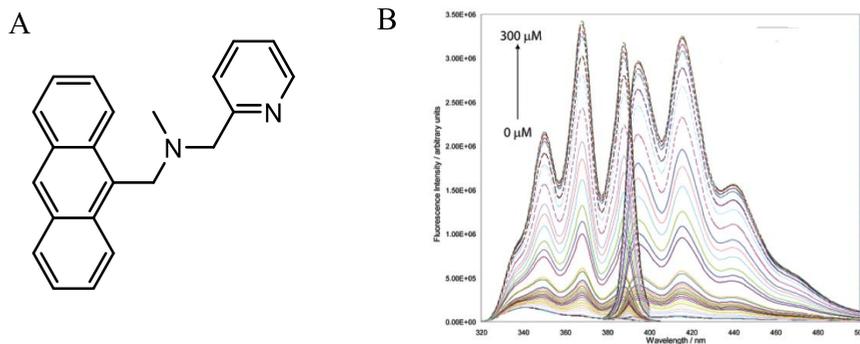


Figura 8: A) Sensor selectivo a Zn^{2+} B) Espectro de absorción y emisión al aumentar la concentración de Zn^{2+} . Matthew E. McCarroll, *et al.* *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 46, 22991–22994

Los resultados computacionales (figura 9) muestran que antes de la interacción con el ion, el orbital HOMO de la unidad receptora presenta una energía cercana pero superior al orbital HOMO del fluoróforo, ofreciendo así un mecanismo de desactivación no radiativa de la fluorescencia. Pero, al ocurrir la interacción

anfitrión-huésped tanto el orbital HOMO y LUMO pertenecientes a la unidad receptora son estabilizados, bajando su energía, permitiendo la fluorescencia, obteniendo así un sensor del tipo “Off-on”.

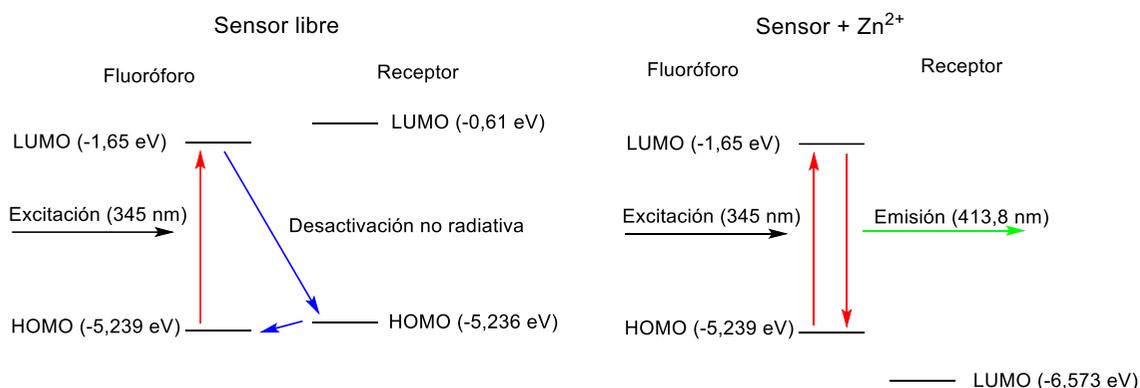


Figura 9: Estudio computacional de la transferencia electrónica fotoinducida para el sensor selectivo a Zn^{2+} .
Matthew E. McCarroll, et al. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 46, 22991–22994.

Trasferencia de carga fotoinducida: Este fenómeno ocurre cuando dentro del sensor molecular tenemos grupos electrodonadores conjugados con grupos electroattractores los cuales se ubican en la unidad receptora y en el fluoróforo. Con estas condiciones se genera un sistema de “tira y empuje” de la nube electrónica, el cual puede ser controlado mediante la incorporación del analito. Por ejemplo, la interacción de un catión con el grupo electroattractor aumentara su capacidad de atraer la nube electrónica, estabilizando el estado excitado generando un desplazamiento batocrómico de la absorción y emisión. Por el contrario, si es el grupo electrodonador el que se encuentra en el sitio de unión, al ocurrir la interacción con un catión, este perderá capacidad electrodonora

desestabilizando el estado excitado produciendo un desplazamiento hipsocrómico de la absorción y emisión.

El estudio de la 1H,3H-peptiridina-2,4-diona (figura 10a) como sensor fluorescente de Cd²⁺ y Hg²⁺, realizado por Akef T. Afaneh *et al.*³³ mostro un desplazamiento batocrómico de la fluorescencia cuando este compuesto está en presencia de los analitos. Estudios computacionales de las energías de los orbitales HOMO y LUMO para la 1H,3H-peptiridina-2,4-diona muestran una estabilización de los orbitales HOMO y LUMO para ambos complejos (figura 10b).

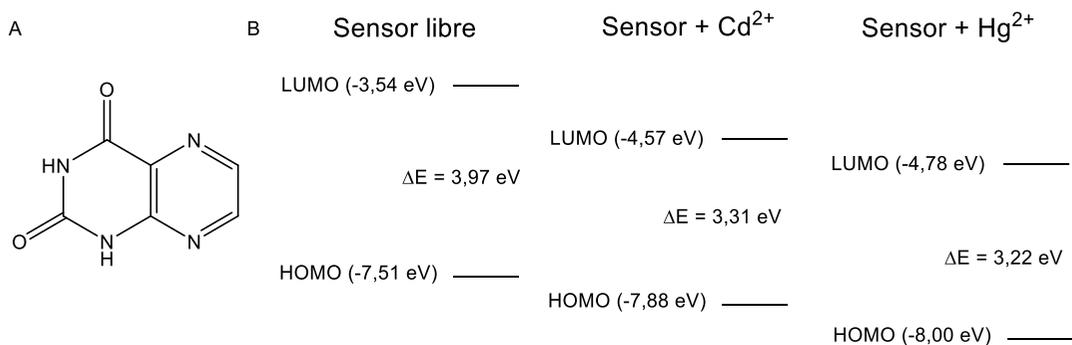


Figura 10: A) 1H,3H-peptiridina-2,4-diona B) Estudio computacional de Trasferencia de carga fotoinducida. Akef T. Afaneh *et al.* *J. Phys. Chem. A* 2015, 119, 29, 8106–8116.

Formación de excímeros: Un excímero se define como un complejo formado por la interacción de un fluoróforo en estado excitado con otro fluoróforo de la misma molécula, pero en estado basal. Un aspecto importante del espectro de emisión de un excímero es que este tiene un desplazamiento batocrómico con

respecto al espectro de emisión del monómero y en muchos casos se puede observar la emisión dual tanto del monómero y del excímero. Por lo tanto, monitoreando la formación o ruptura del excímero tras la adición del analito permite estudiar la formación del complejo anfitrión-huésped, siendo los fluoróforos más comunes en la formación de excímeros el antraceno y el pireno.

Julio Rodríguez-Lavado *et al.*³⁴ desarrollaron y estudiaron un sensor a base de *p-tert*-butilcalix[4]areno sustituido en su borde inferior con tiourea y Pirineo, el cual resulto ser sensible a Hg^{2+} y Ag^+ (figura 11A). En el espectro de fluorescencia del sensor libre de iones es posible ver la emisión dual del monómero (377 nm y 395 nm) y de la relajación del excímero (472 nm).

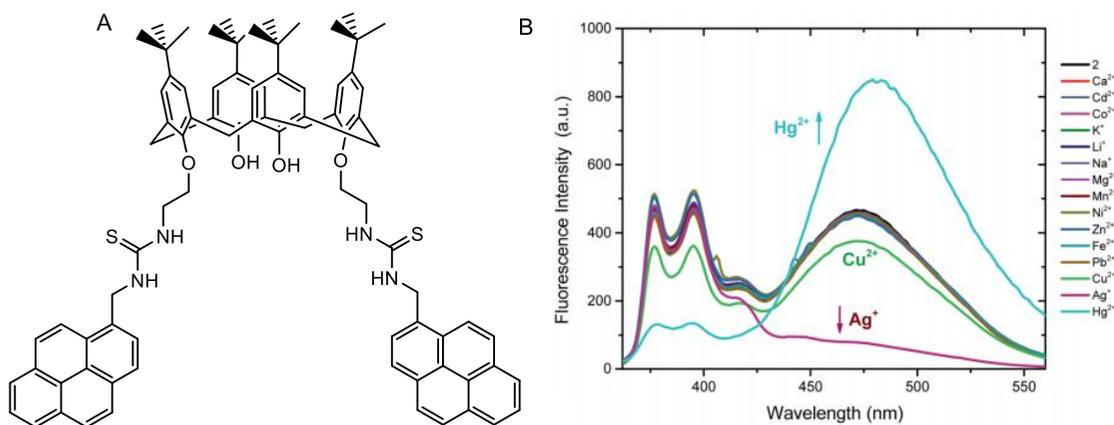


Figura 11: A) Sensor sensible a mercurio y plata B) Espectro de emisión. Rodríguez-Lavado, J. *et al.* RSC Adv. 2020, 10 (37), 21963–21973.

La respuesta espectroscópica de este sensor es considerablemente distinta para los iones de mercurio y plata. Para el primero se ve una disminución en la intensidad de fluorescencia para las señales correspondientes al monómero y un

aumento en la intensidad de la señal correspondiente al excímero. Mientras que para plata son las señales del monómero las que aumentan en intensidad y las correspondientes al excímero las que bajan (figura 11B).

1.4 Fluoróforos

Para la selección de un fluoróforo en el desarrollo de sensores moleculares es necesario tomar varias consideraciones tanto prácticas como teóricas que incluyen: la necesidad de que el fluoróforo absorba y emita en una región espectral de estudio, que sea soluble en los solventes de estudio, estable en los parámetros experimentales (pH, temperatura, solvente, etc.) y que sea fácilmente accesible ya sea por síntesis o de manera comercial. A continuación, se verán los fluoróforos utilizados en esta tesis.³⁵

1.4.1 Derivados de 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno

Los 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenos (abreviados como BODIPY) son compuestos relativamente pequeños, que presentan una fuerte absorción y una fluorescencia con alto rendimiento cuántico, que emiten generalmente en el verde del espectro visible. Estos tienden a ser insensibles a la polaridad y pH, además de ser tanto química como foto químicamente estables.

Los BODIPY se obtienen mediante la condensación en medio ácido entre dos pirroles (generalmente 2,4-dimetilpirrol) y un carbono carbonílico provenientes

de un aldehído, cloruro de acetilo o anhídridos, seguido de una oxidación y finalizando con la quelación de una unidad de trifluoruro de boro. Obteniéndose un fluoróforo de excelentes prestaciones con cuatro posiciones fácilmente modificables ya sea por modificación de sus precursores directos o por reacciones sobre el BODIPY base (figura 12).³⁶

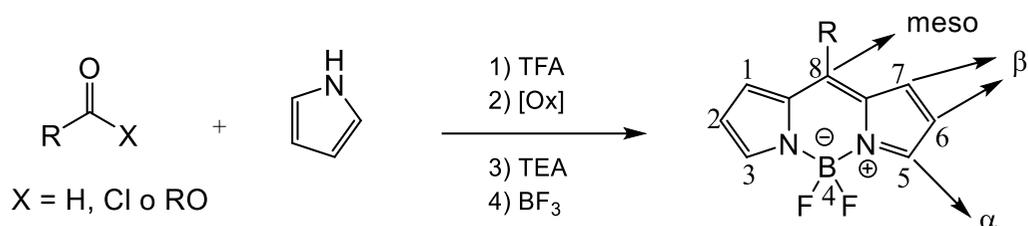


Figura 12: Síntesis, numeración y posiciones de reacción de los BODIPY.

La funcionalización de la posición *meso* provienen generalmente de la utilización de compuestos carbonílicos que presentan en su estructura las funciones de interés. Mientras que las posiciones α y β pueden venir ya funcionalizadas desde el pirrol precursor o mediante reacciones de sustitución electrofílica. Además los átomos de flúor presentes en el boro pueden ser remplazados utilizando diversos nucleófilos y si en las posiciones 3 y 5 se encuentran sustituidos con metilos, es posible realizar la condensación de Knoevenagel (figura 13).³⁷

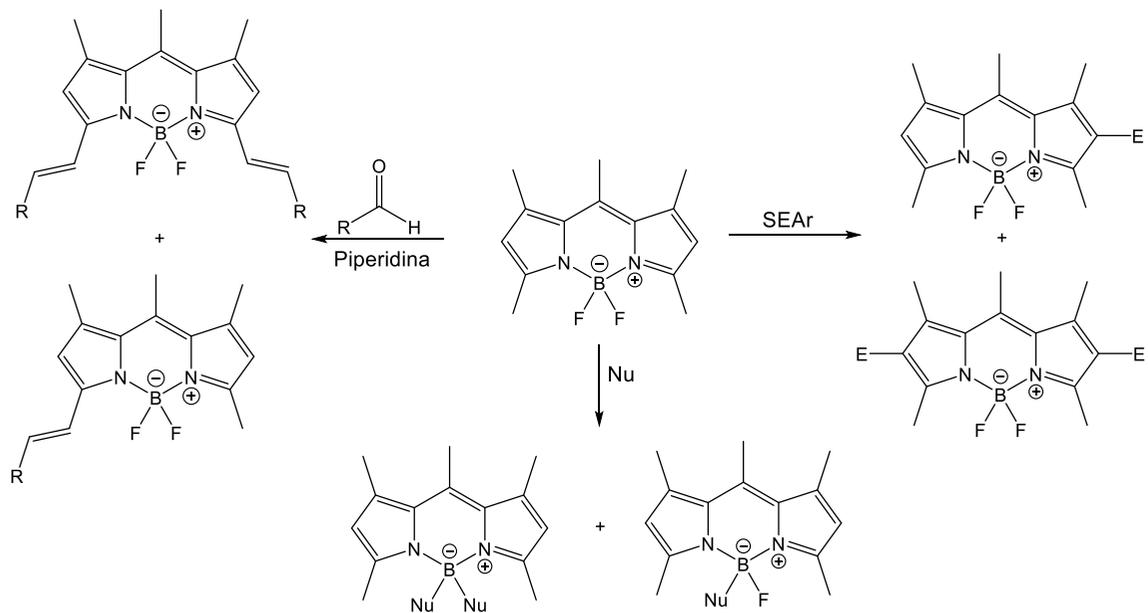


Figura 13: Reactividad básica de los BODIPY.

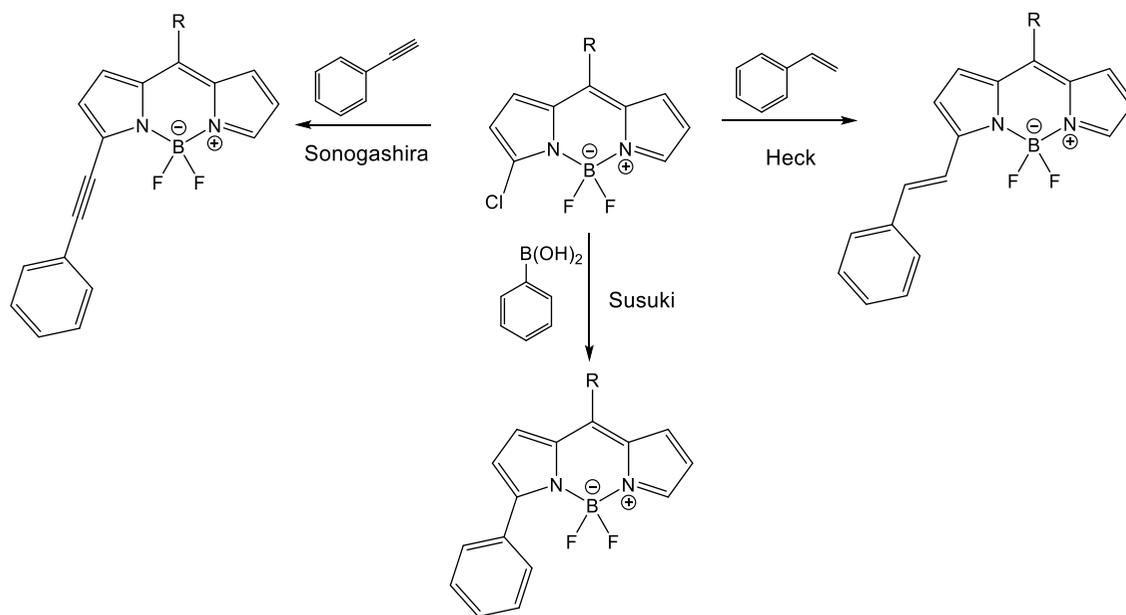


Figura 14: Reactividad de BODIPY vía catalizadores.

Finalmente, el desarrollo de nuevos catalizadores ha permitido el desarrollo de nuevas rutas de síntesis, destacándose en los BODIPY halogenados los acoplamientos vía Suzuki, Heck y Sonogashira (figura 14).³⁸

Las diversas características ya mencionadas han transformado a los BODIPY en excelentes plataformas para el desarrollo de sensores moleculares, tintes, marcadores fluorescentes, terapia fotodinámica, celdas fotovoltaicas, etc.³⁹

1.4.2 Heterociclos polinitrogenados

El desarrollo de compuesto polinitrogenados enlazados a aminas alifáticas o heterociclos con capacidad de coordinación, es un desafío interesante debido a su gran potencial como sensores químicos. Destacamos, entre ellos a las siguientes estructuras heterocíclicas: triazolo[1,5-a]piridinas y pirazolo[3,4-b]piridinas que juegan un rol importante al presentar fluorescencia.

triazolo[1,5-a]piridinas: Estos compuestos son obtenidos a partir de piridinas *alfa* sustituidas con cetonas o aldehídos que reaccionan con hidracina para formar una hidrazona para finalmente ser oxidadas y así se obtener el compuesto de interés como se muestra en la figura 15.⁴⁰

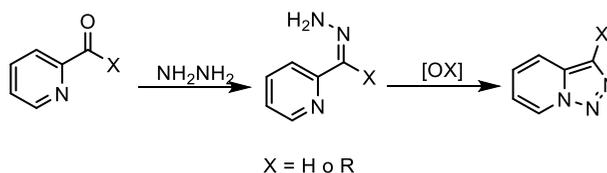


Figura 15 Síntesis de triazolo[1,5-a]piridinas

La reactividad de estos compuestos podemos dividirla en dos: reacciones sobre el anillo de triazol y reacciones sobre el anillo de piridina. En las primeras las reacciones suceden en el carbono 3 destacándose las reacciones de halogenación, alquilación y nitración. Además, la utilización de las cetonas en la síntesis permite la obtención de compuesto ya funcionalizados.

Mientras que en las reacciones sobre el anillo de piridina destacan la litiación sobre el carbono 7 y la hidrogenación del anillo siempre y cuando la posición 7 se encuentre metilada. A pesar de que el anillo de piridina no sufre sustituciones electrofílicas si es posible realizarlas cuando en éste se encuentra un halógeno⁴¹.

Pirazolo[3,4-b]piridinas: estos compuestos han sido ampliamente estudiados, ya que están presentan en un gran número de aplicaciones biológicas. La funcionalización de estos heterociclos se realiza principalmente utilizando reactivos ya funcionalizados. Para la obtención de estos compuestos tenemos principalmente dos métodos, utilizar como base de síntesis el anillo de piridina o el anillo de pirazol.⁴²

En el primer método la piridina base debe poseer un halógeno en posición 2 y un carbono carbonílico, proveniente de una cetona o aldehído, en posición 3. Esta piridina sustituida reacciona con hidracina, primero una reacción de sustitución nucleofílica al halógeno, finalmente, ocurre una condensación que provoca la ciclación del pirazol como se muestra en la figura 16.

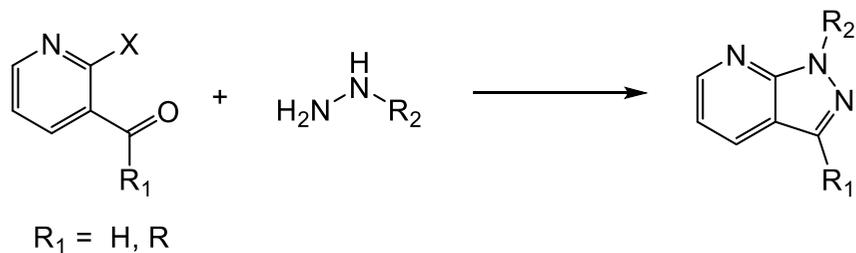


Figura 16: Síntesis de pirrolo[3,4-b]pirimidina con la piridina como base de síntesis.

El segundo método de síntesis se inicia con la condensación de Knoevenagel entre el malononitrilo y un aldehído. El intermediario resultante reacciona mediante catálisis ácida con 5-aminopirazol (este último debe estar sustituido en las posiciones 1 y 3), como se muestra en la figura 17.⁴³

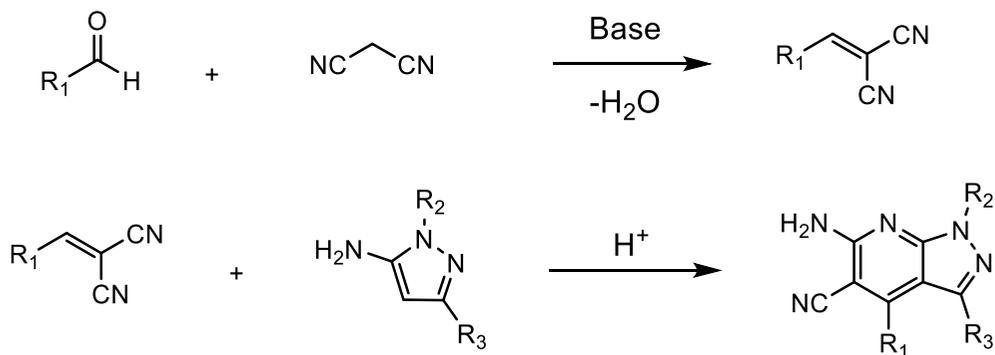


Figura 17: Síntesis de pirrolo[3,4-b]pirimidina con el pirazol como base de síntesis.

2. Hipótesis

La funcionalización de calix[4]arenos con grupos nitrogenados y azufrados (amidas, tioureas y piridinas) permitirá la obtención de receptores químicos capaces de reconocer cationes, gracias a la interacción con los pares electrónicos no compartidos de los átomos de nitrógeno y azufre. En particular, las tioureas y piridinas tendrán mayor afinidad con los cationes Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Pb^{2+} debido a que son ácidos de borde según la teoría ácido-base duros-blandos. Mientras que las amidas tendrán mayor afinidad por los cationes Fe^{3+} , Al^{3+} y Hg^{2+} . Se espera también que puedan interactuar con aniones a través de interacciones por puente de hidrógeno de los grupos -NH de las amidas y tioureas.

La incorporación de fluoróforos conjugados con el sitio de unión de los analitos a los receptores a base de calix[4]arenos permitirá la obtención de sensores ópticos, para la detección y cuantificación de los diferentes iones. La interacción de los analitos con los receptores deberá generar una respuesta macroscópica medible mediante cambios en los espectros de fluorescencia.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Síntesis y caracterización de nuevos receptores a base de calix[4]arenos en conformación *cono* y *1,3-alternada* funcionalizados con grupos tiourea, amida y piridina conjugados con fluoróforos derivados de los BODIPY, triazolo[1,5-a]piridinas y pirazolo[3,4-b]piridina.

Estudio de su potencial como sensores de iones mediante espectroscopia de fluorescencia.

3.2 Objetivos específicos

1. Síntesis y caracterización de nuevos receptores basados en calix[4]arenos en conformación *cono* funcionalizados con grupos tioureas, amidas y piridinas.
2. Síntesis y caracterización de nuevos receptores basados en calix[4]arenos en conformación *1,3-alternada* funcionalizados con grupos tioureas, amidas y piridinas.
3. Análisis exploratorio de iones por espectroscopia de fluorescencia.
4. Determinación de la estequiometría de los complejos receptor-ion por espectroscopia de fluorescencia.

5. Determinación de la constante de asociación (K_a) y/o constante de asociación aparente (K_{app}) de los complejos receptor-ion por espectroscopia de fluorescencia.

6. Estudio de la selectividad de los nuevos complejos receptor-ion frente a diferentes iones por espectroscopia de fluorescencia.

4. Desarrollo experimental

4.1 Consideraciones generales

Durante el trabajo experimental, en la síntesis y en los estudios espectroscópicos, se utilizaron reactivos y solventes comerciales además de algunos desarrollados por nuestro grupo de investigación, o bien provenientes desde otros grupos de investigación.

4.1.1 Reactivos y solventes comerciales.

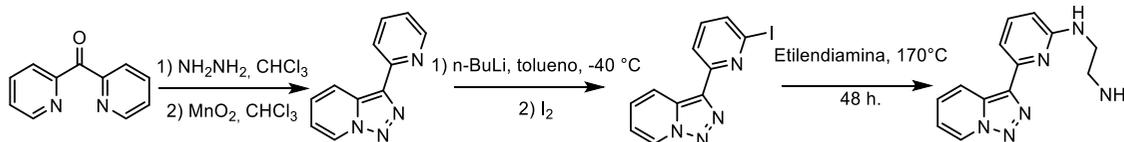
Los reactivos adquiridos desde Merck s.a. fueron: nitrito de sodio, acetoacetoato de etilo, ácido acético glacial, zinc en polvo, hidróxido de potasio, 4-nitrobenzaldeido, ácido trifluoroacético (TFA), 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), trietilamina (TEA), trifluoruro de boro eterato, carbonato de potasio, carbonato de sodio, tiofosgeno, cloruro de fosforilo, dimetilformamida (DMF), hidracina monohidrato al 80%, catalizador de paladio/carbono 10% (Pd/C), cloruro de acetilo, ácido nítrico al 70%, ácido clorhídrico al 35%, ácido bromoacético, N-(2-bromoetil)-ftalamida y N,N-diisopropiletilamina (DIPEA). Los solventes de grado HPLC: cloroformo, diclorometano (DCM), 1,2-dicloroetano (DCE), dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo (MeCN), etanol (EtOH), metanol (MeOH), hexano (Hex), acetato de etilo (AcOEt) y etilenglicol, fueron utilizados sin purificaciones adicionales, al igual que los solventes deuterados tales como cloroformo- d_1 ($CDCl_3$) y dimetilsulfóxido- d_6 ($DMSO-d_6$). Solventes de grado

técnico, tales como acetato de etilo (AcOEt), diclorometano (DCM) y hexano (Hex), fueron purificados a través de destilación simple. Las purificaciones de algunos precursores y productos finales fueron realizadas a través de columnas cromatográficas utilizando sílica gel 60, 0,2-0,5 mm, adquirida de Merck Chile S.A.

4.1.2 Reactivos desarrollados por nuestro grupo u otros grupos de investigación.

4.1.2.1 Síntesis de 3-(6-(N-dietilamina)-2-piridinil)-1,2,3-triazolo[1,5-a]piridina.

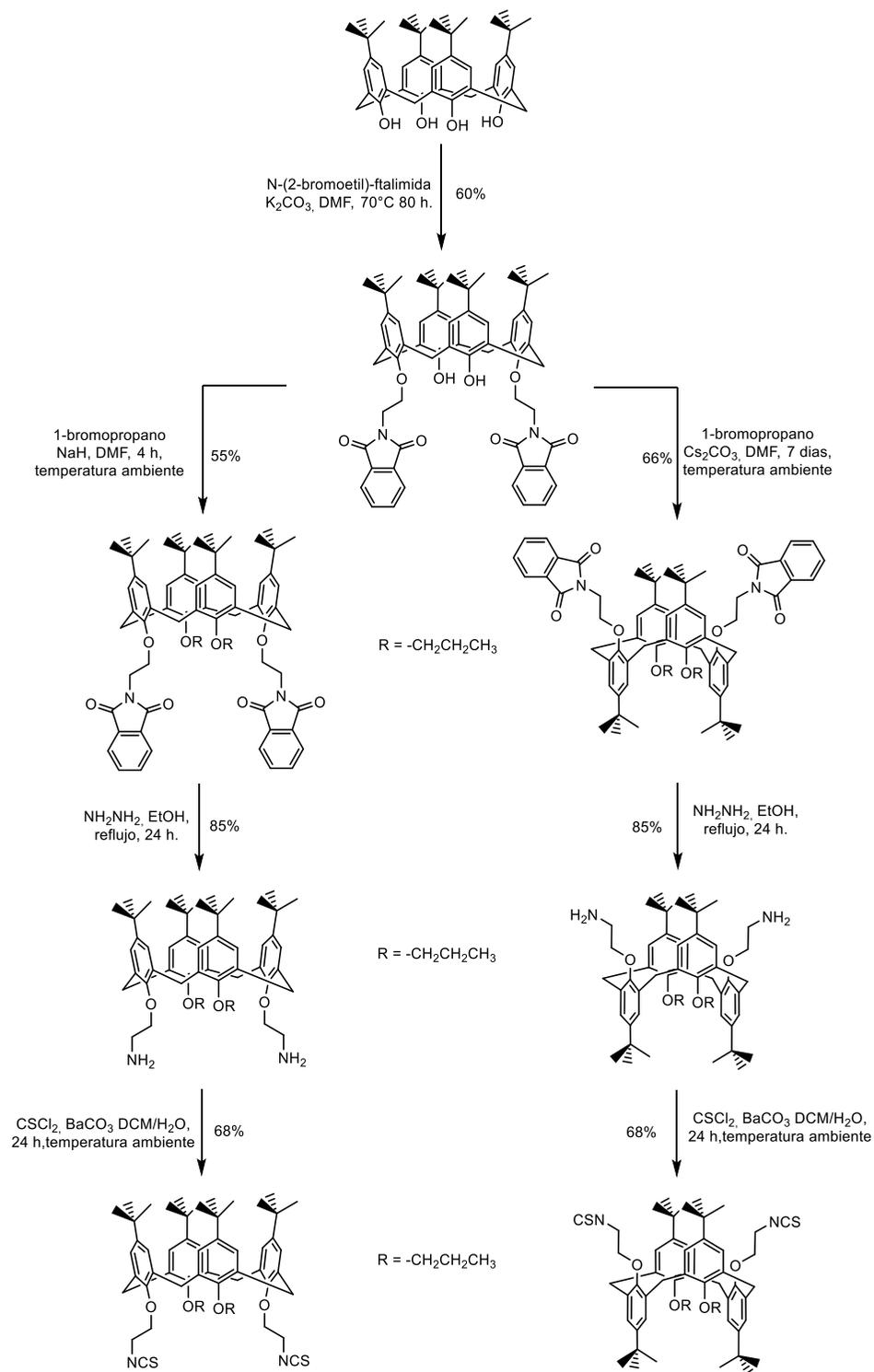
Este compuesto fue sintetizado por el grupo de investigación dirigido por la Dra. Belén Abarca del departamento de Química Orgánica de la Universitat de València, España. La síntesis se detalla en el esquema a continuación.^{40,44}



Esquema 2: Síntesis de 3-(6-(N-dietilamina)-2-piridinil)-1,2,3-triazolo[1,5-a]piridina.

4.1.2.2 Síntesis de 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicalix[4]areno en conformación cono y 1,3-alternada.

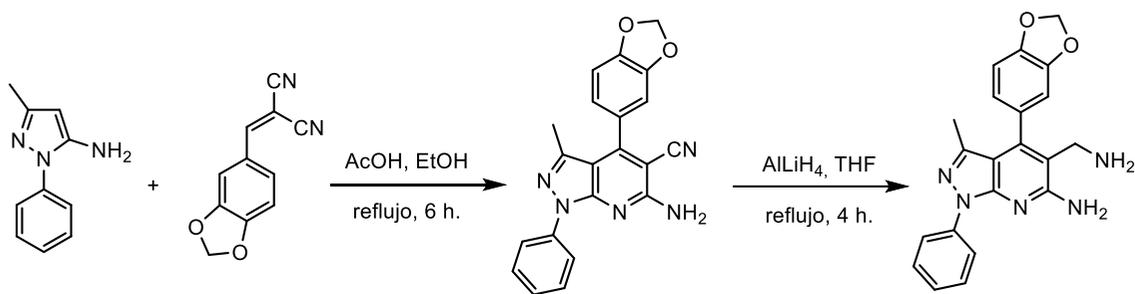
Estos compuestos fueron obtenidos por nuestro grupo de investigación dirigido por el Dr. Claudio Saitz, de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. La síntesis se detalla en el siguiente esquema.⁴⁵



Esquema 3: Síntesis de 5,11,17,23-tetra-*tert*-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicalix[4]areno en conformación cono y 1,3-alternada.

4.1.2.3 Síntesis de 5-(aminometil)-4-(benzo[1,3-d]dioxol-2-il)-3-metil-1-fenil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-amina

Este compuesto fue sintetizado por el grupo de investigación dirigido por el Dr. Jairo Quiroga del Departamento de Química de la Universidad del Valle, Colombia. La síntesis se detalla en el esquema a continuación.⁴⁶



Esquema 4: Síntesis de 5-(aminometil)-4-(benzo[1,3-d]dioxol-2-il)-3-metil-1-fenil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-amina

4.1.3 Equipos

Los espectros de ¹H-RMN fueron adquiridos a temperatura ambiente en espectrómetros de resonancia magnética nuclear Bruker AVANCE III HD (300 y 400 MHz) utilizando tetrametilsilano como estándar interno.

Los espectros de fluorescencia fueron adquiridos a temperatura ambiente en un espectrofotómetro de fluorescencia, Perkin Elmer LS-55, adosado a un baño termostático, LAUDA Alpha RA 8.

4.2 Procedimientos generales para el estudio espectroscópico.

Para realizar el estudio como sensores de iones de las moléculas sintetizadas, se prepararon soluciones de los calix[4]arenos desarrollados (**15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20** y **21**), con una concentración de 0,15 mM en DMSO. En el caso de los cationes se prepararon soluciones, con una concentración de 1,5 mM en MeCN, utilizando percloratos de Li⁺, Na⁺, K⁺, Ag⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ y Pb²⁺. Mientras con los aniones se prepararon soluciones de una concentración 1,5 mM en MeCN, utilizando sales de terbutilamonio de F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, N₃⁻, SCN⁻, HSO₄⁻, CH₃CO₂⁻ y CF₃SO₃⁻.

4.2.1 Análisis exploratorio de los sensores por espectroscopia de fluorescencia.

Para evaluar la afinidad de los sensores con los distintos iones, se obtuvieron espectros de emisión de los sensores libres de los analitos y de los receptores en presencia de 5 equivalentes de cada analito. En el caso del sensor libre se preparó una solución, en una cubeta de cuarzo, con una concentración 0,288 μM al agregar 5 μL de la solución de cada sensor y se diluyó con MeCN hasta completar 2600 μL. Finalmente para estudiar al sensor en presencia de los iones se preparó una solución de concentración 0,288 μM del sensor y 1,44 μM del

analito. Para esto en una cubeta de cuarzo se agregaron 5 μL y 2,5 μL del sensor y el analito respectivamente y se diluye hasta 2600 μL con MeCN.

4.2.2 Determinación de la estequiometría del complejo por método Job Plot.⁴⁷

El método de variación continua Job-Plot consiste en preparar una batería de soluciones que contiene al ligando y el ion en fracciones molares distintas, pero concentración molar total (ligando + ion) constante. Se determina la intensidad de fluorescencia del complejo de inclusión para cada una de las muestras y los datos son graficados en forma $(F-F_0)$ versus fracción molar de sensor en solución. La estequiometría del complejo se determina según la ecuación 1.

$$n = \frac{1-r}{r} \text{ (Ecuación 1)}$$

Dónde, n: representa la estequiometría del complejo y r: representa la fracción molar donde la curva alcanza su máximo.

4.2.3 Determinación de la constante de asociación K_a por método lineal (Benesi-Hildebrand).⁴⁸

A una solución del calix[4]areno receptor se le agregó gradualmente una solución que contenía el ion en estudio, hasta llegar a un exceso de este mismo sobre el

derivado de calix[4]areno. En cada punto se midió el máximo de fluorescencia y/o absorbancia. Los datos obtenidos fueron graficados en forma $1/(F-F_0)$ versus $1/[ion]$, obteniendo la constante de asociación según la ecuación de Benesi-Hildebrand:

$$\frac{1}{(F - F_0)} = \frac{1}{K_a(F_\infty - F_0)[I]_t} + \frac{1}{(F_\infty - F_0)} \text{ Ecuacion 2}$$

Donde, F: intensidad de fluorescencia, F_0 : intensidad de fluorescencia en ausencia del ion, F_∞ : intensidad de fluorescencia mínima en presencia del ion, K_a : constante de asociación y $[I]_t$: concentración del ion.

Debido a las limitaciones del método,⁴⁹ este sólo se utilizó para los complejos con estequiometría 1:1.

4.2.4 Determinación de la constante K_{app} por método lineal de Hill.⁵⁰

A una solución del calix[4]areno receptor se le agregó gradualmente una solución que contenía el ion en estudio, hasta llegar a un exceso de este mismo sobre el derivado de calix[4]areno. En cada punto se midió el máximo de fluorescencia. Los datos obtenidos fueron graficados en forma $\log((F_0-F)/F)$ versus $\log[I]_t$, obteniendo la constante de asociación aparente según la ecuación de Hill:

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = n \log [I]_t + \log [K_{app}] \text{ Ecuacion 3}$$

Donde, F : intensidad de fluorescencia, F_0 : intensidad de fluorescencia en ausencia del ion, n : coeficiente de Hill, K_{app} : constante de asociación aparente y $[I]$: concentración del ion.

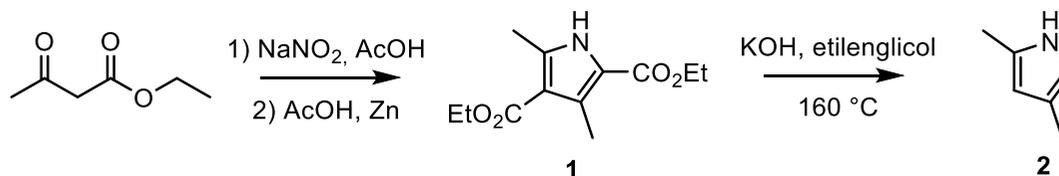
Este método se utilizó para determinar la constante de asociación aparente para compuesto con estequiometría 1:2.⁵¹

5. Resultados y discusión

5.1 síntesis de derivados de BODIPY

5.1.1 Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (1)

La síntesis de todos los BODIPYs estudiados en esta tesis, comienzan con la síntesis del 2,4-dimetilpirrol (**2**). Este compuesto se obtiene desde la saponificación y posterior descarboxilación del 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol (**1**). Esta reacción se realiza en un solo paso utilizando hidróxido de potasio, etilenglicol como solvente y 160 °C de temperatura.⁵² El pirrol **2** es obtenido mediante el método de Knorr como se muestra en el esquema 5.⁵³

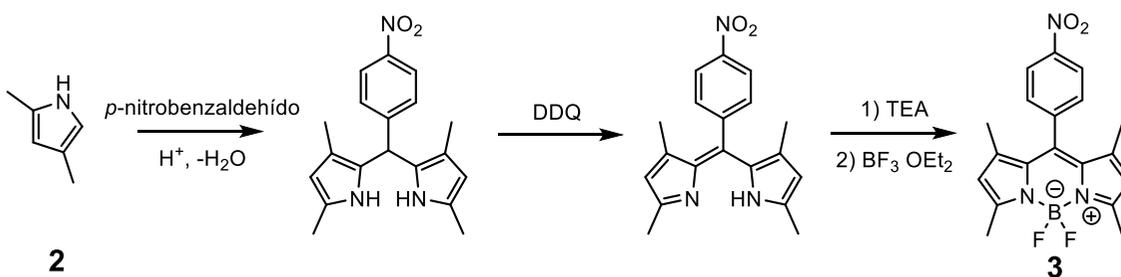


Esquema 5: Ruta de síntesis del 2,4-dimetilpirrol

Si bien este método requiere altas temperaturas y un continuo control de ésta durante toda la síntesis, una vez dominados estos parámetros se obtienen pirroles con buenos rendimientos.

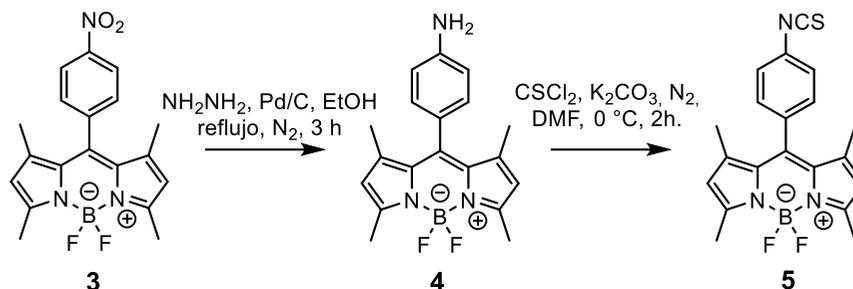
5.1.2 Síntesis de fenil-meso-BODIPYs (compuestos 3, 4 y 5)

Una vez obtenido el pirrol **2**, la secuencia sintética continúa con la obtención del compuesto **3**. Para ello se realiza la condensación del pirrol **2** con *p*-nitrobenzaldehído. Como catalizador ácido de la reacción se utilizan gotas de TFA y el pirrol se mantiene a una baja concentración, con el fin de evitar la formación de polímeros. Una vez realizada la condensación es necesario oxidar el intermediario de reacción formado (imagen 6), para lo cual se utiliza DDQ. Finalmente, la reacción termina al agregar TEA seguido de trifluoruro de boro eterato.⁵⁴



Esquema 6: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno con sus intermediarios de reacción.

La purificación de este compuesto se hace difícil debido a la gran cantidad de subproductos formados, para solucionar este inconveniente antes de realizar la purificación mediante columna cromatográfica, la mezcla de reacción es filtrada en una precolumna compuesta de una capa de celita que se encuentra sobre una capa de sílica obteniendo un rendimiento de 54,1%.



Esquema 7: Síntesis del compuesto 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno

Ya obtenido el compuesto **3**, el grupo nitro de éste es reducido a amina a través de la hidrogenación con hidracina catalizada con Pd/C en atmósfera de nitrógeno⁵⁵ con un rendimiento de 83,5%. Posteriormente se llevó a cabo la formación del grupo isotiocianato por reacción de una amina primaria aromática con tiofosgeno, obteniéndose la molécula **5** con un rendimiento del 92% (esquema 7).

5.1.3 Síntesis de BODIPY- β -sustituidos

En una primera instancia se intentó sintetizar el compuesto 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno **7b**, a través de la síntesis del 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído **6**. Esta ruta comienza con la reacción de Vilsmeier-Haack del pirrol **2** con cloruro de fosforilo y DMF,⁵⁶ reacción con un rendimiento de 71%. Posteriormente, el pirrol **6** es condensado mediante la adición de cloruro de fosforilo. Finalmente, se obtiene el BODIPY **7** por la adición de TEA y trifluoruro de boro eterato,⁵⁷ con un rendimiento del 79,5%.



Esquema 8: Síntesis del compuesto 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.

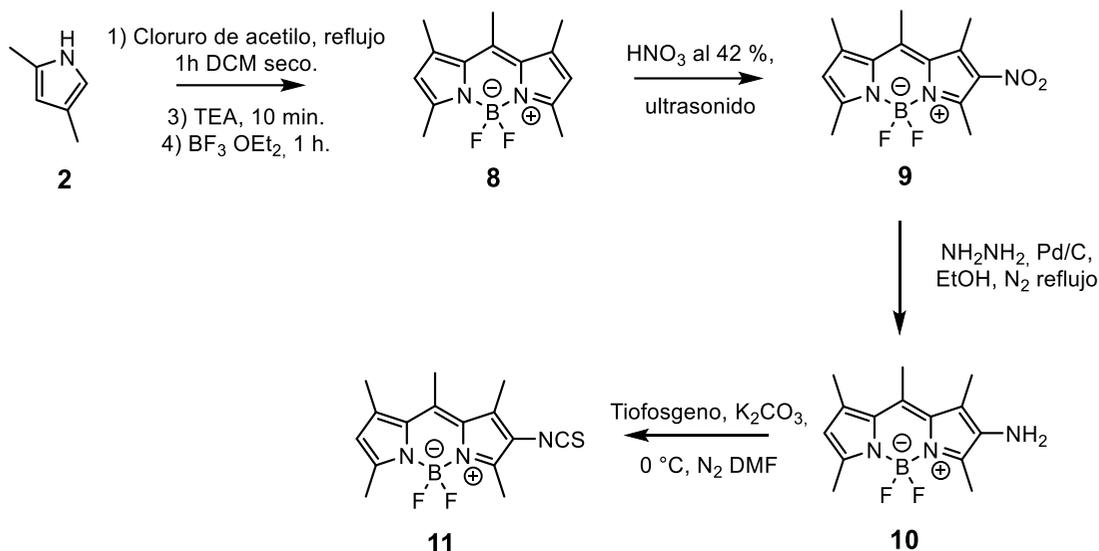
A pesar de diversos intentos de nitración de la posición β (con ácido nítrico⁵⁸ y nitrato de cobre II⁵⁹), no fue posible su obtención debido posiblemente a la descomposición del producto al tener la posición *meso* libre.

Debido a los resultados negativos en la síntesis anterior, se decide cambiar la molécula objetivo por los derivados del 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**8**) esquema 9.

La síntesis comienza con la condensación del pirrol **2** con cloruro de acetilo, seguido de la incorporación de TEA y trifluoruro de boro eterato,⁵⁸ obteniendo el BODIPY **8** con un rendimiento del 72,6%.

Posteriormente se procedió a la nitración del compuesto **8**. Si bien este compuesto es simétrico y presenta dos sitios reactivos a la nitración esta se puede controlar utilizando distintas concentraciones de ácido nítrico, ya que si utilizamos ácido al 70% se obtiene la dinitracion. En cambio, al utilizar ácido al 42% y temperatura por debajo de los 10 °C es posible obtener el compuesto

deseado **9**, debido al control cinético de la reacción,⁵⁸ con un rendimiento del 57,4%.



Esquema 9: Síntesis general del 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiocianato-3a,4a-diaza-s-indaceno.

La síntesis comienza con la condensación del pirrol **2** con cloruro de acetilo, seguido de la incorporación de TEA y trifluoruro de boro eterato,⁵⁸ obteniendo el BODIPY **8** con un rendimiento del 72,6%.

Posteriormente se procedió a la nitración del compuesto **8**. Si bien este compuesto es simétrico y presenta dos sitios reactivos a la nitración. Esta se puede controlar utilizando distintas concentraciones de ácido nítrico, ya que si utilizamos ácido al 70% se obtiene la dinitracion. En cambio, al utilizar ácido al 42% y temperatura por debajo de los 10 °C es posible obtener el compuesto

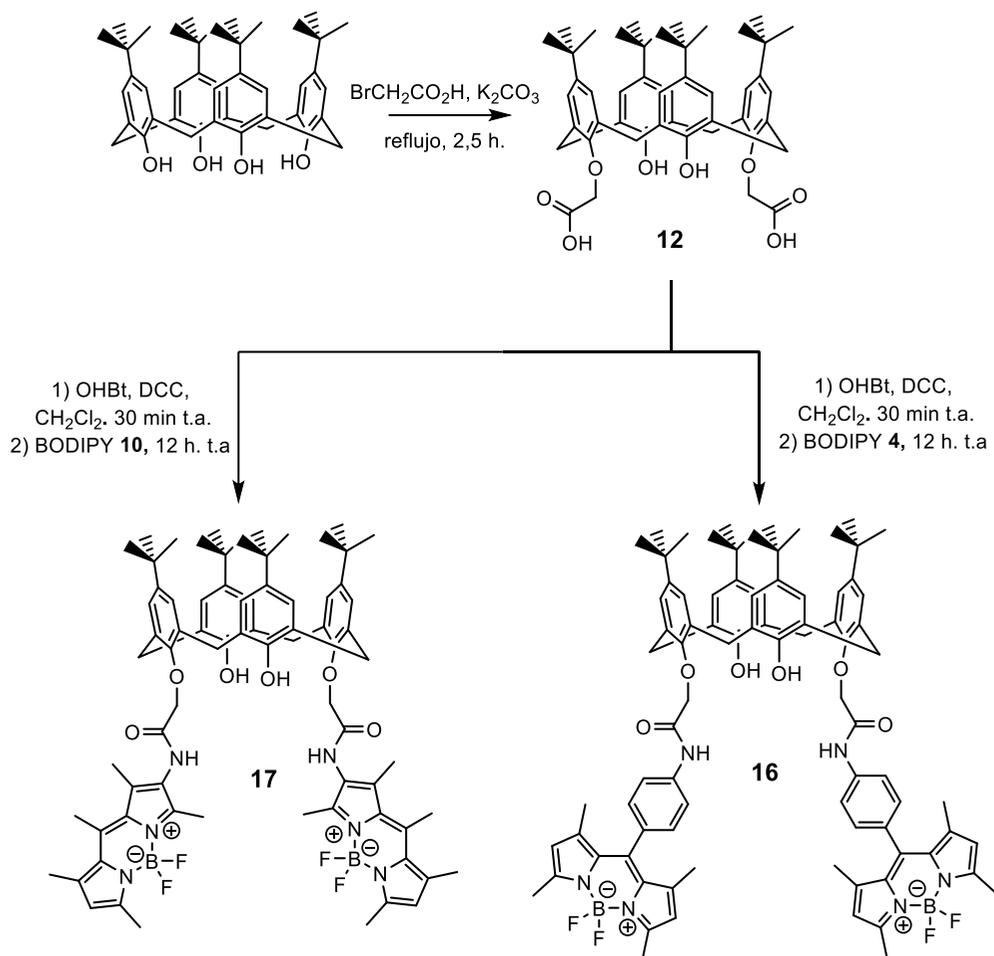
deseado **9**, debido al control cinético de la reacción,⁵⁸ con un rendimiento del 57,4%.

El grupo nitro del compuesto **9** se reduce a amina a través de la hidrogenación con hidracina catalizada con Pd/C en atmósfera de nitrógeno. No se encontró literatura que utilizara este método de reducción para este compuesto en específico, pero se obtuvieron excelentes resultados con un rendimiento para la obtención del BODIPY **10** del 99,3 %.

Finalmente, se llevó a cabo la formación del grupo isotiocianato por reacción de la amina primaria aromática con tiofosgeno, obteniendo la molécula **11** con un rendimiento del 67,9%.

5.2 Síntesis los compuestos 16 y 17

El esquema 10 muestra la ruta sintética propuesta para la obtención de los nuevos calix[4]arenos **16** y **17**, utilizando *p-tert*-butilcalix[4]areno como precursor de reacción.



Esquema 10: Síntesis de calix[4]arenos modificados en su borde inferior mediante la adición de grupos amida.

Para la obtención de los compuestos **16** y **17** se propuso una síntesis convergente, que consiste en la preparación del precursor calix[4]areno diácido **12** y de los derivados de BODIPY **4** y **10**. En ambos casos el acoplamiento de estos compuestos se llevó a cabo utilizando DCC y HOBt, con el fin de formar un éster activado el cual es susceptible al ataque nucleofílico de las aminas aromáticas.⁶⁰ El DCC actúa sobre los ácidos carboxílicos formando un intermediario O-acilisourea, que al reaccionar con el HOBt permite obtener un

éster activado (figura 18).⁶¹ Con este método fue posible obtener los compuestos **16** y **17** con un rendimiento del 87% y del 75% respectivamente.

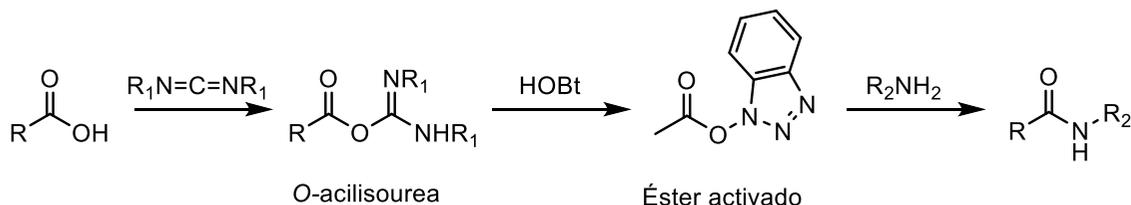
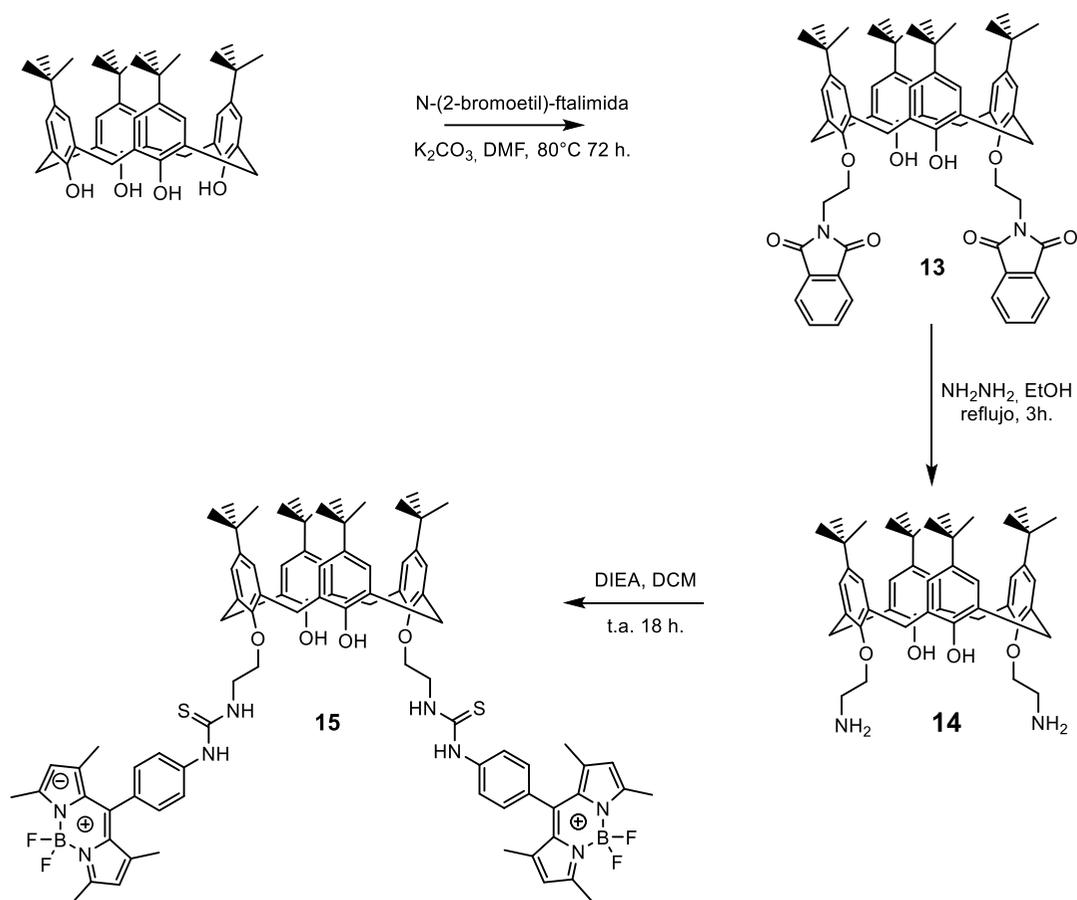


Figura 18: Síntesis de amidas utilizando DCC y HOBT.

El precursor **12** se obtuvo mediante la di-alquilación de los hidroxilos del borde inferior del *p-tert*-butilcalix[4]areno con ácido 2-bromoacético y un exceso de carbonato de potasio K_2CO_3 en acetonitrilo. En primera instancia el K_2CO_3 reacciona con el ácido 2-bromoacético formando bromoacetato de potasio el cual será realmente el agente alquilante. Posteriormente, la base desprotona selectivamente los hidroxilos *distales* del calix[4]areno, ya que al tratarse de una base débil forma un oxoanión el cual puede estabilizarse mediante la formación de interacciones por puente de hidrógeno con los grupos hidroxilos presentes en la estructura, haciendo más difícil su desprotonación.⁶² Finalmente, una vez di-alquilado el calix[4]areno con los grupos acetatos se utiliza ácido clorhídrico con el fin regenerar los ácidos carboxílicos.

5.3 Síntesis del compuesto 15

El esquema 11 muestra la ruta sintética propuesta para la obtención del nuevo calix[4]areno **15**, utilizando *p*-*tert*-butilcalix[4]areno como precursor de reacción.



Esquema 11: Síntesis de calix[4]areno modificado en su borde inferior mediante la adición de tiourea.

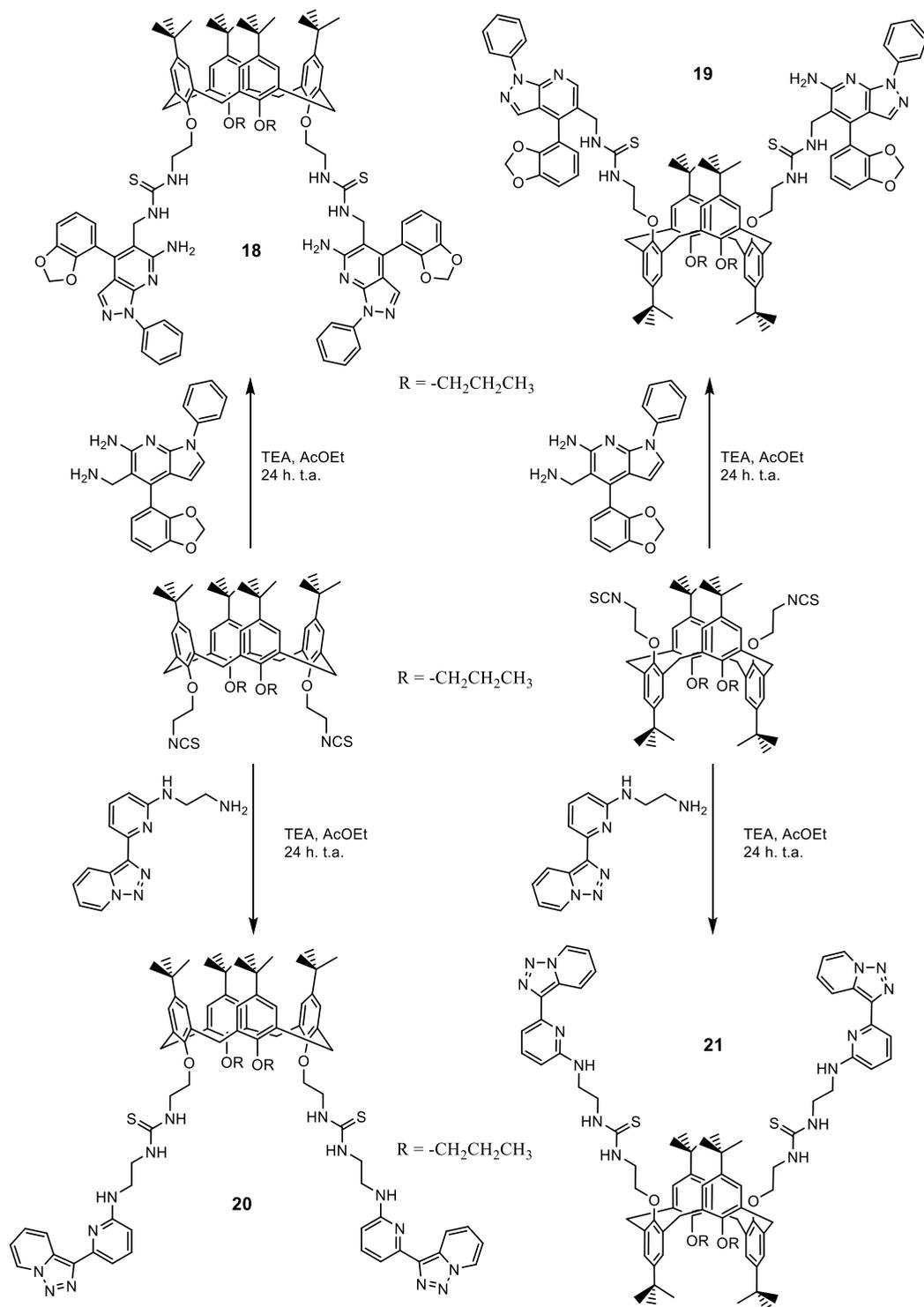
Para la obtención del compuesto **15** se propuso una síntesis convergente, que se inicia con la dialquilación de los hidroxilos distales del *p*-*tert*-butilcalix[4]areno,

utilizando K_2CO_3 como base y N-(2-bromoetil)-ftalimida como agente alquilante. Como se vio anteriormente estas condiciones de reacción permiten la alquilación selectiva de los hidroxilos distales,⁶³ obteniendo el compuesto **13** con un rendimiento del 63%. El calix[4]areno **14** se obtuvo mediante el tratamiento de del compuesto **13** con monohidrato de hidracina en metanol a reflujo con un rendimiento del 87%.

Los grupos isotiocianatos pueden ser transformados en grupos tiourea mediante la reacción de estos con aminas.⁶⁴ Por esto para la obtención de calix[4]areno **15** se realizó mediante la reacción entre el calix[4]areno **14** y el BODIPY **5** utilizando DIEA como catalizador,⁶⁵ obteniendo el compuesto **15** con un rendimiento del 87%.

5.4 Síntesis y caracterización conformacional de los compuestos 18, 19, 20, 21

Como ya se mencionó anteriormente (ver sección 4.1.2) los precursores directos de las moléculas **18**, **19**, **20** y **21** que se discutirán a continuación fueron desarrollados y sintetizados por otros grupos de investigación que trabajan en colaboración con el grupo de investigación dirigido por el Dr. Claudio Saitz de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.



Esquema 12: Síntesis de calix[4]arenos modificados en su borde inferior mediante la adición de tiourea en conformación *cis* y 1,3-alternada.

Por lo cual se procedió a realizar el último paso de síntesis que corresponde a la formación de grupos tioureas a través del acoplamiento de isotiocianatos y aminas. Para las cuatro moléculas en cuestión se utilizó el mismo método de síntesis el cual consiste en disolver los reactivos en la menor cantidad de AcOEt y utilizar gotas de TEA como catalizador de la reacción (esquema 12). Este método permitió obtener los compuestos **18**, **19**, **20** y **21** con un rendimiento del 48%, 39%, 55,8% y 47,4% respectivamente.

Analizando los espectros $^1\text{H-RMN}$ para estos compuestos, específicamente las señales correspondientes a los hidrógenos del puente de metileno, observamos que estas estas señales en los calix[4]arenos **18** y **20** corresponden a dos dobletes que integran para cuatro hidrógenos cada uno. Para el compuesto **18** estas señales se encuentran a 4,21 y 3,18 ppm con una constante de acoplamiento de 15 Hz. Mientras que para el compuesto **20**, se encuentran en 4,23 y en 3,09 ppm, con una constante de acoplamiento de 12,8 Hz. Estos valores son característicos de la conformación *cono* de los calixarenos con un acoplamiento geminal de los hidrógenos del puente de metileno.⁶⁶

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ del compuesto **19** la señal correspondiente a los puentes de metileno que unen los fenilos del calix[4]areno se encuentra 3,65 ppm como un singulete ancho que integra para 8 hidrógenos. Lo que confirma la conformación *1,3-alternada*.⁶⁷

Finalmente, para el compuesto **21** los protones del puente de metileno aparecen como dos dobletes donde cada uno integra para cuatro hidrógenos, pero, estas señales se encuentran separadas por tan solo 0,09 ppm (3,86 y 3,77 ppm) de modo que el compuesto **21** se encuentra en conformación *1,3-alternada*.⁶⁸

5.5 Estudio de calix[4]arenos con aniones y cationes por espectroscopia de fluorescencia.

5.5.1 Análisis exploratorio con iones

Para evaluar la afinidad de los calix[4]arenos sintetizados como posibles sensores, se estudiaron en presencia de distintos iones, para los cuales se utilizaron sales de tetrabutilamonio de los aniones: F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, N₃⁻, SCN⁻, HSO₄⁻, CH₃CO₂⁻ y CF₃SO₃⁻ y para los cationes se utilizaron sales de prerclorato de: Li⁺, Na⁺, K⁺, Ag⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Fe³⁺ y Al³⁺. La posible interacción receptor-ion fue investigada por espectroscopia de fluorescencia en acetonitrilo. Para lo cual se adquirieron los espectros de emisión de los calix[4]arenos **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20** y **21** en acetonitrilo en presencia de 5 equivalentes de cada anión y catión mencionados anteriormente.

5.5.1.1 Análisis exploratorio con iones para las moléculas 15 y 16

En la figura 19 podemos ver los cambios espectroscópicos que presenta el calix[4]areno **15** en presencia de los distintos iones. Para el caso de los cationes podemos ver cambios en la intensidad de la fluorescencia para todos los analitos estudiados, por lo cual, si existe interacción entre la molécula **15** y cationes, pero esta interacción no es específica por lo cual el sensor no puede discriminar entre los distintos analitos estudiados.

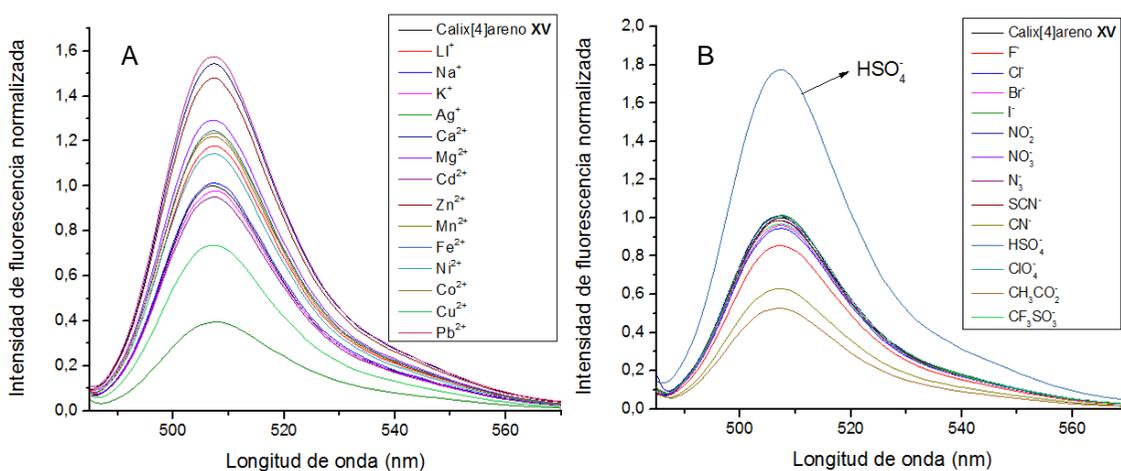


Figura 19: Análisis explotartorio con del calix[4]areno 15 a) para los cationes Li⁺, Na⁺, K⁺, Ag⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ y Pb²⁺. B) para los aniones F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, N₃⁻, SCN⁻, HSO₄⁻, CH₃CO₂⁻ y CF₃SO₃⁻. Concentración de calix[4]areno 0,288 μM, λ de excitación: 475 nm.

En el caso de los aniones, el comportamiento es diferente, se observa un gran aumento en la intensidad de la fluorescencia para el ion bisulfato, además de una leve disminución de la intensidad de fluorescencia para los iones cianuro y acetato.

Con este ensayo cualitativo, se procedió a estudiar el tipo de interacción y/o formación de complejos entre el calix[4]areno **15** con el ion bisulfato.

Estudio similar, pero con resultados completamente distintos se realizó para el calix[4]areno **16**. Los resultados del análisis exploratorio se muestran en la figura 20, donde se observa la nula interacción de del compuesto **16** con todos los analitos estudiados.

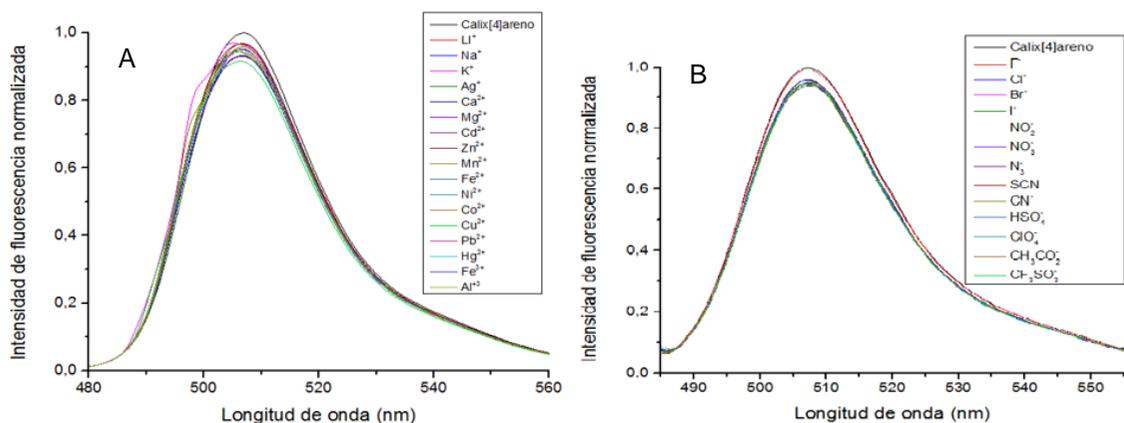


Figura 20: Análisis exploratorio con del calix[4]areno 16 a) para los cationes Li⁺, Na⁺, K⁺, Ag⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Fe³⁺ y Al³⁺. B) para los aniones F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, N₃⁻, SCN⁻, HSO₄⁻, CH₃CO₂⁻ y CF₃SO₃⁻. Concentración de calix[4]areno 0,288 μM, λ de excitación: 475 nm.

Este resultado llama notablemente la atención debido a la gran cantidad de reportes de sensores, que utilizan amidas como unidad receptora.

Una posible explicación a este fenómeno es la pérdida de conjugación del grupo fenil en posición meso con el resto del BODIPY. El enlace que une la estructura principal del BODIPY al grupo fenil en la en posición meso (posición 8). Este es

un enlace simple por lo cual presenta libre rotación, por lo que se perdería la coplanaridad entre el fenil y el BODIPY y por ende la conjugación entre estas partes de la molécula.

Mariana Leine *et al.*⁶⁹ estudiaron el compuesto metil 4-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-3a-4a-diaza-4-bora-s-indacen-8-il)boenzoato (figura 21a), a través de análisis computacionales, obteniendo que para este compuesto existen 3 rotámeros conformacionales en el estado excitado de este BODIPY (figura 21b).

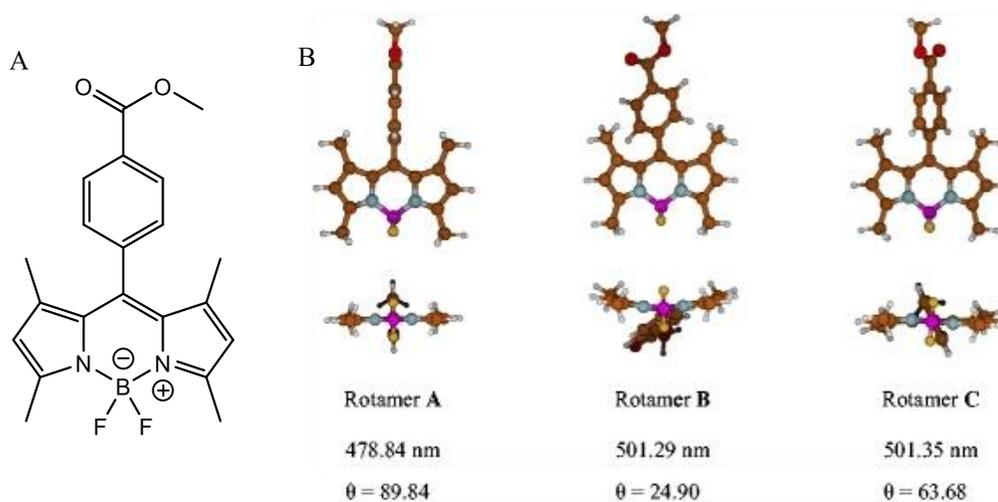


Figura 21: Rotameros de los meso-fenil-BODIPY.

La explicación para este fenómeno es que en la molécula existe una competencia de dos fuerzas que buscan estabilizar la estructura. Por un lado, tenemos el impedimento estérico de los dos metilos presentes en las posiciones 1 y 7 del BODIPY, este impedimento estérico hace que el grupo fenilo se encuentre perpendicular al núcleo central del fluoróforo, y por otro lado tenemos

el acoplamiento π -electrónico que conduce a la coplanaridad del BODIPY y el fenilo.

Para comprobar esta hipótesis se decidió sintetizar la molécula **17**, donde la unidad receptora (grupo amida) se encuentra enlazada directamente con la unidad señalizadora (BODIPY).

5.5.1.2 Análisis exploratorio con iones para las moléculas **18** y **19**

En la figura 22 tenemos los resultados para el estudio exploratorio tanto con cationes y aniones para el calix[4]areno en conformación como **18**.

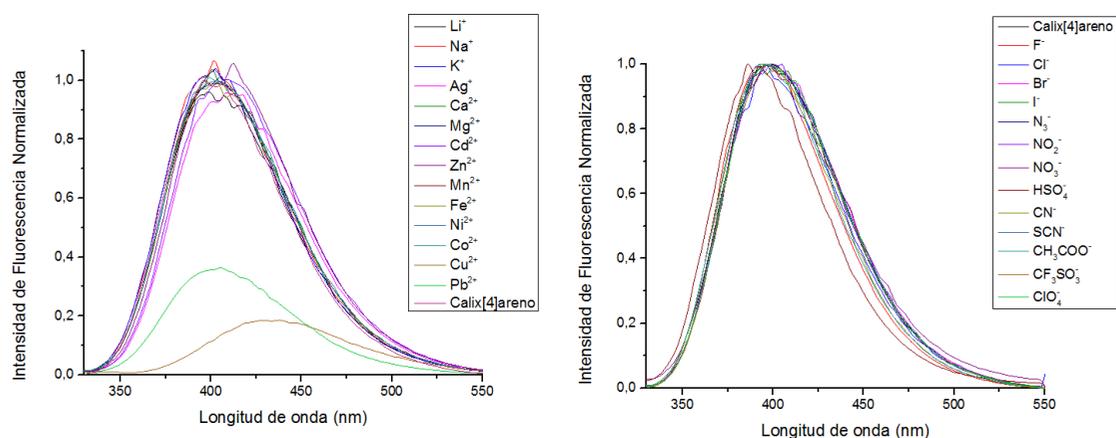


Figura 22: Análisis exploratorio con del calix[4]areno **18** a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno $0,288 \mu\text{M}$, λ de excitación: 320 nm .

Los resultados muestran que el compuesto en cuestión es incapaz de reconocer cualquiera de los aniones estudiados ya que no se observan cambios espectroscópicos sustanciales cuando el compuesto está en presencia de los analitos.

Distinto resultado se observa para el caso de los cationes. El compuesto **18** presenta una fuerte disminución de la intensidad de fluorescencia cuando está en presencia de Pb^{+2} y Cu^{2+} . Además, para el caso del Cu^{2+} se observa un desplazamiento batocrómico del máximo de fluorescencia pasando de 397 nm a 434 nm.

En la figura 34 tenemos los resultados para el estudio exploratorio tanto con cationes y aniones para el calix[4]areno en conformación 1,3-alternada **19**.

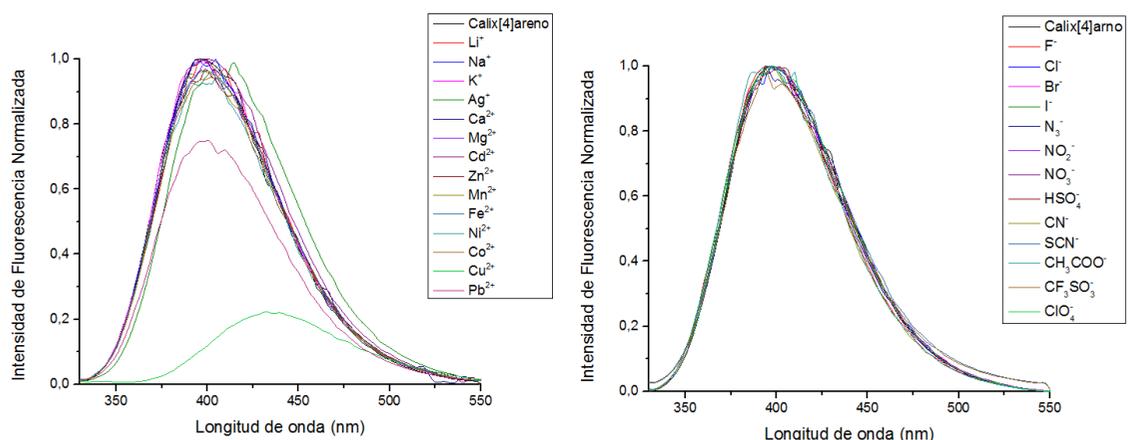


Figura 23 Análisis exploratorio con del calix[4]areno 19 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , HSO_4^- , CH_3COO^- y $CF_3SO_3^-$. Concentración de calix[4]areno 0,288 μM , λ de excitación: 310 nm.

En el caso de la molécula **19** es similar al comportamiento del calix[4]areno anteriormente estudiado **18**, no se aprecia interacción de la molécula con los aniones en estudio ya que no hay cambios en su espectro de fluorescencia, mientras que, para los cationes al igual que en el caso anterior tenemos una disminución de la intensidad de fluorescencia con Pb^{+2} y Cu^{2+} . Además de un desplazamiento batocrómico el máximo de emisión desde 397 nm a 434 nm para el Cu^{2+} .

Estos resultados para los calix[4]arenos **18** y **19** indican que estos compuestos son potenciales sensores para cobre y plomo por lo cual es necesario realizar los estudios para comprender el tipo de interacción que existe entre estos compuestos y los analitos en cuestión.

*5.5.1.3 Análisis exploratorio con iones para las moléculas **20** y **21***

En la figura 24 tenemos los resultados del estudio exploratorio con cationes y aniones para el calix[4]areno en conformación como **20**.

Este compuesto no presenta cambios significativos en su espectro de emisión cuando está en presencia de aniones por lo cual no existiría interacción de éste con estos analitos.

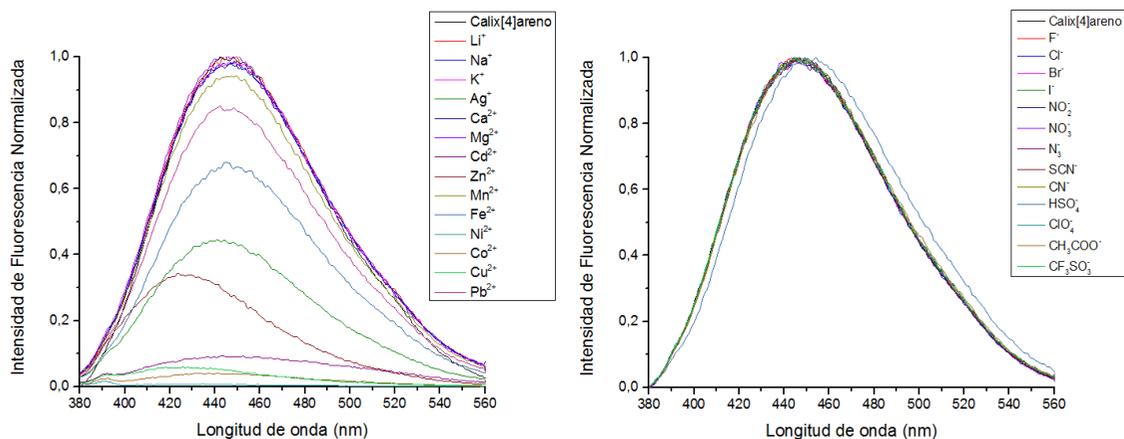


Figura 24: Análisis exploratorio con del calix[4]areno **20** a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , CN^- , HSO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno $0,288 \mu\text{M}$, λ de excitación: 350 nm .

Para los cationes se observa una disminución de la intensidad de fluorescencia cuando el calix[4]areno **20** está en presencia de Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} , siendo más fuerte este descenso para los cationes de níquel, cobalto y cobre. Además, se aprecia un desplazamiento hipsocrómico del máximo de emisión desde 450 nm a 425 nm . Con este estudio cualitativo, se procedió a estudiar el tipo de interacción y/o formación de complejos entre el calix[4]areno **20** con los cationes Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} .

En la figura 25 tenemos los resultados para el estudio exploratorio con cationes y aniones para el calix[4]areno en conformación *1,3-alternado* **21**.

Este compuesto no presenta cambios significativos en su espectro de emisión cuando está en presencia de aniones por lo cual no existiría interacción de este con estos analitos.

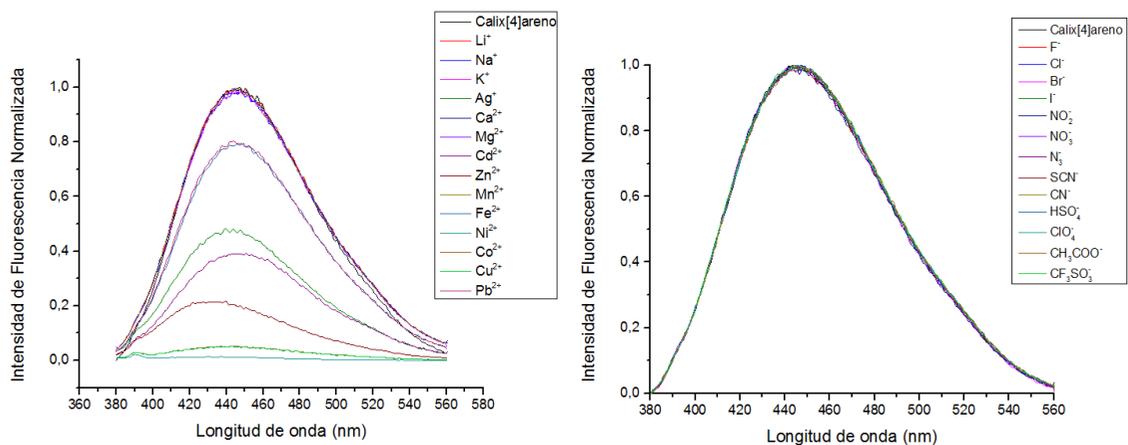


Figura 25: Análisis exploratorio con del calix[4]areno 21 a) para los cationes Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Pb^{2+} . B) para los aniones F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- , NO_3^- , N_3^- , SCN^- , CN^- , HSO_4^- , ClO_4^- , CH_3CO_2^- y CF_3SO_3^- . Concentración de calix[4]areno $0,288 \mu\text{M}$, λ de excitación: 365 nm .

Al igual que para la molécula **20** se observa una disminución en la intensidad de fluorescencia cuando el calix[4]areno **21** está en presencia de los cationes Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} , siendo más fuerte este descenso para los cationes de níquel, cobalto y cobre. Además, se aprecia un desplazamiento hipsocrómico el máximo de emisión desde 450 nm a 432 nm . Con este estudio cualitativo, se procedió a estudiar el tipo de interacción y/o formación de complejos entre el calix[4]areno **21** con los cationes Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} .

5.5.2 Determinación de las estequiometrias y constantes de asociación de los complejos receptor-ion

5.5.2.1 Complejos con el calix[4]areno **15**

En el estudio exploratorio, se observó un cambio en la intensidad de fluorescencia para todos los cationes estudiados, por lo cual se pierde el interés de su estudio como sensor de cationes debido a su falta de especificidad.

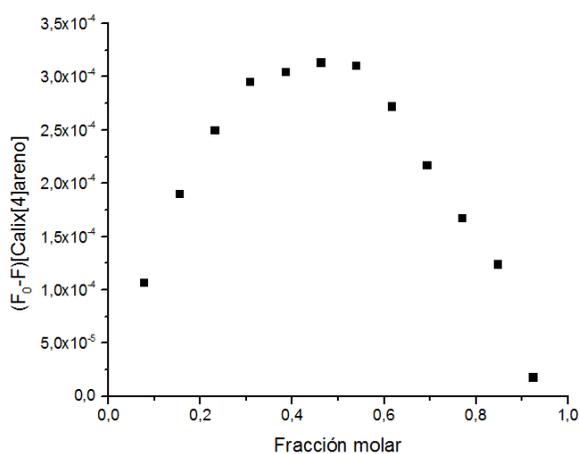


Figura 26: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de $5,03 \mu\text{M}$ del receptor **15** con el ion HSO_4^- en acetonitrilo.

Por el contrario, el compuesto **15** presenta una interesante respuesta a la presencia del anión bisulfato. Por lo cual se realizó el estudio de variación continua (Job-plot) para determinar la estequiometría del complejo y la titulación de este compuesto con el anión de interés, aumentando gradualmente la concentración del ion desde 0 a 1,8 equivalentes manteniendo la concentración del receptor constante en MeCN.

Por medio del método de variación continua (Job-plot), se determinó la estequiometría de los complejos (figura 27). Se observa que el máximo de la curva aparece a una fracción molar aproximada del 0,5 indicando una estequiometría 1:1 entre el calix[4]areno **15**.

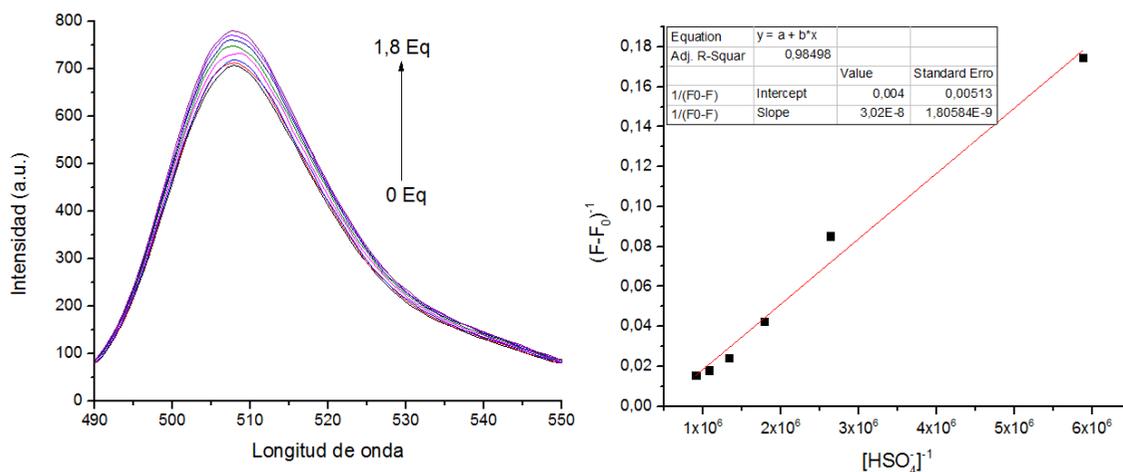


Figura 27: a) Titulación del receptor **15** (1,15 μM) con 0 -1,8 equivalentes de HSO_4^- en acetonitrilo. b) Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Benesi-Hildebrand a 507 nm para el complejo **15** con HSO_4^- .

Determinada la estequiometría del complejo, se procede a realizar la titulación del calix[4]areno **15** con el anión bisulfato. Al aumentar la concentración del ion se observa un aumento del máximo de fluorescencia en 507 nm, sin desplazamiento de esta hacia longitudes de onda diferentes.

Al realizar la titulación y ajustar los valores según el método lineal de Benesi-Hildebrand (figura 27) es posible determinar la constante de asociación para el

complejo formado, la cual tiene un valor de $1,32 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, observándose un ajuste lineal de los datos con valor de correlación (R) de 0,98.

Es necesario realizar más estudios que nos permitan caracterizar el sitio de unión como, por ejemplo, ^1H -RMN en presencia de los analitos y cálculos computacionales de los orbitales moleculares con el fin de determinar el proceso fotoinducido que está ocurriendo.

5.5.2.2 Complejos con el calix[4]areno 20

En el estudio exploratorio, se observó una disminución de la intensidad de fluorescencia para el calix[4]areno **20**, cuando estos están en presencia de Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} . Por lo cual se realizó el estudio de variación continua (Job-plot) para determinar la estequiometría del complejo formado y la titulación de estos compuestos con los cationes de interés, aumentando gradualmente la concentración del ion desde 0 a 3 equivalentes, mantenido la concentración del receptor **20** constante en MeCN.

Al realizar la titulación con los cationes de Ag^+ , Cd^{2+} y Zi^{2+} , no se observa un cambio significativo en los espectros de emisión, al aumentar la concentración de los analitos, por lo cual se descartaron estos cationes para los estudios posteriores de caracterización de los complejos receptor-ion por espectroscopia

de fluorescencia. Mientras que para los cationes Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} , se observa una respuesta similar del calix[4]areno **20** para estos tres cationes. (Anexo 2)

Por medio del método de variación continua (Job-plot), se determinó la estequiometría de los complejos (figura 28). Se observa que para los tres analitos el máximo de la curva aparece a una fracción molar aproximada del 0,6 indicando una estequiometría 1:2 entre el calix[4]areno **20** y los cationes en estudio. Por lo tanto, el receptor **20** debería poseer dos sitios de unión donde podría interactuar con los analitos.

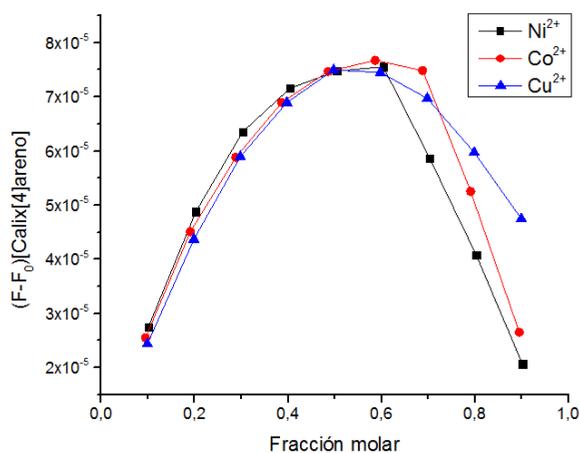


Figura 28: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de $0,03\mu\text{M}$ del receptor **20** con los iones Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} en acetonitrilo.

Determinada la estequiometría de los complejos, se procedió a realizar la titulación del calix[4]areno **20** con los tres iones en estudio. La respuesta espectroscópica del receptor a los tres analitos es similar. Al aumentar la

concentración del ion se observa una disminución del máximo de fluorescencia a 450 nm, sin desplazamiento de ésta hacia longitudes de onda diferentes. A modo de ejemplo en la figura 29 se muestra la titulación del receptor con el catión cobre (II), así como la determinación de la constante de asociación aparente (K_{app}) a través del ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm.

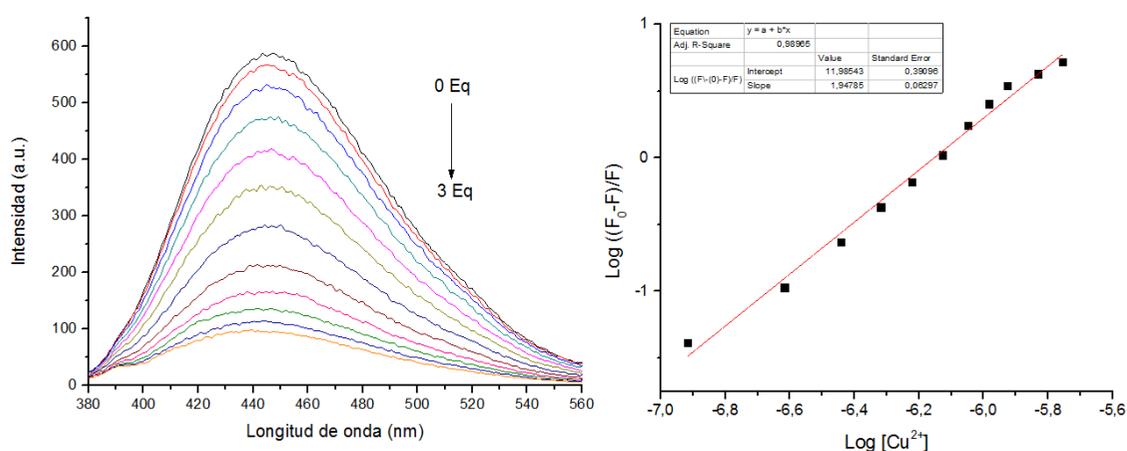


Figura 29: a) Titulación del receptor 20 (0,07 μ M) con 0 - 3 equivalentes de Cu^{2+} en acetonitrilo. b) Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 con Cu^{2+} .

La tabla 2 muestra los resultados de los cálculos de la constante de asociación de los complejos de la molécula **20** con los tres cationes estudiados, observándose un ajuste lineal de los datos con valores de correlación (R) en un rango de 0,98 a 0,94. La constante de asociación aparente más alta corresponde al catión de níquel (II), pero presenta la peor correlación lineal de los tres. El coeficiente de Hill (n) para los tres cationes es mayor que uno indicando una unión positivamente cooperativa, de los analitos con el receptor. Esto significa

que los cationes al unirse al primer sitio de unión del receptor, aumenta la afinidad de éste por el analito en cuestión. Además, si bien el coeficiente de Hill no es una medida directa de la estequiometría del complejo, al tratarse de una unión positivamente cooperativa,^{50,51} con K_{app} altas, este coeficiente se acerca bastante al valor real de la estequiometría del complejos, demostrando concordancia con los obtenidos mediante el método de variación continua Job-plot.

Tabla 2: Log(K_{app}), coeficiente de Hill y valores de correlación para el receptor 20.

Receptor 20				
cación	Estequiometría	Log (K_{app})	n	R
Cu ²⁺	1:2	11,98 ± 0,39	1,95 ± 0,063	0,9896
Co ²⁺	1:2	12,81 ± 0,77	2,02 ± 0,12	0,9787
Ni ²⁺	1:2	17,41 ± 1,26	2,75 ± 0,20	0,9478

Si bien los datos espectroscópicos para esta unión receptor-cation, nos permiten suponer que este sensor es del tipo “ON-OFF” a través de un proceso PET de la desactivación de la fluorescencia, faltan estudios que nos permitan caracterizar el sitio de unión como por ejemplo ¹H-RMN en presencia de los analitos y cálculos computacionales de los orbitales moleculares con el fin de confirmar el proceso fotoinducido que está ocurriendo.

5.5.2.3 complejos con el calix[4]areno **21**

En el estudio exploratorio, se observó una disminución de la intensidad de fluorescencia para el calix[4]areno **21**, cuando está en presencia de Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} . Por lo cual se realizó el estudio de variación continua (Job-plot) para determinar la estequiometría del complejo formado, además, se realizó una titulación de estos compuestos con los cationes de interés, aumentando gradualmente la concentración del ion desde 0 a 3 equivalentes, manteniendo la concentración del receptor **20** constante en MeCN.

Al realizar la titulación con los cationes de Ag^+ , Cd^{2+} y Zi^{2+} , no se observa un cambio significativo en los espectros de emisión, al aumentar la concentración de los analitos, por lo cual se descartaron estos cationes para los estudios posteriores de caracterización de los complejos receptor-ion por espectroscopia de fluorescencia. Por otro lado, para los cationes Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} , se observa una respuesta similar del calix[4]areno **20** para estos tres cationes (Anexo 2).

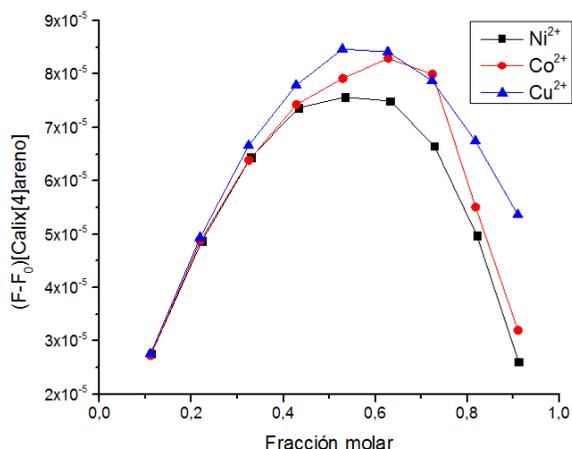


Figura 30: Método de variación continua (Job Plot) con concentraciones equimolares de $0,03\mu\text{M}$ del receptor **21** con los iones Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} en acetonitrilo.

Por medio del método de variación continua (Job-plot), se determinó la estequiometría de los complejos (figura 30). Se observa que para los tres analitos el máximo de la curva aparece a una fracción molar aproximada del 0,6 indicando una estequiometría 1:2 entre el calix[4]areno **21** y los cationes en estudio. Por lo tanto, el receptor **21** debería poseer dos sitios de unión donde podría interactuar con los analitos.

Determinada la estequiometría de los complejos, se procedió a realizar la titulación del calix[4]areno **21** con los tres iones en estudio. La respuesta espectroscópica del receptor a los tres analitos es similar. Al aumentar la concentración del ion se observa una disminución del máximo de fluorescencia a 450 nm, sin desplazamiento de ésta hacia longitudes de onda diferentes. A modo de ejemplo en la figura 42 se muestra la titulación del receptor con el catión

cobalto (II), así como la determinación de la constante de asociación aparente (K_{app}) a través del ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm.

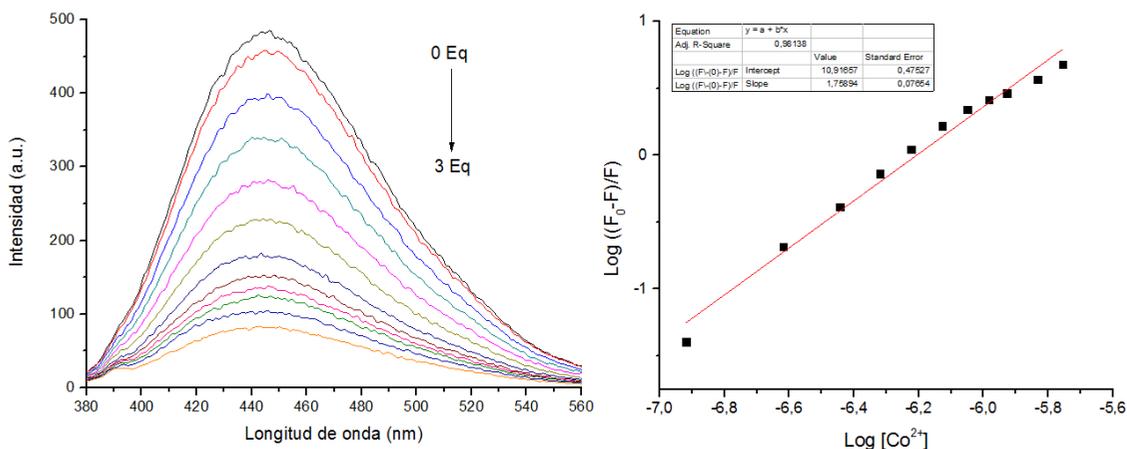


Figura 31: a) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Co²⁺ en acetonitrilo. b) Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 con Co²⁺.

Tabla 3: Log(K_{app}), coeficiente de Hill y valores de correlación para el receptor 21.

Receptor 21				
cación	Estequiometria	Log (K_{app})	n	R
Cu ²⁺	1:2	13,46 ± 0,47	1,76 ± 0,076	0,9885
Co ²⁺	1:2	10,19 ± 0,47	2,23 ± 0,076	0,9814
Ni ²⁺	1:2	17,25 ± 2,75	2,75 ± 0,29	0,8964

La tabla 3 muestra los resultados de los cálculos de la constante de asociación de los complejos de la molécula **21** con los tres cationes estudiados, observándose un ajuste lineal de los datos con valores de correlación (R) en un

rango de 0,98 a 0,94. La constante de asociación aparente más alta corresponde al cation de níquel (II), pero presenta la peor correlación lineal de los tres. El coeficiente de Hill (n) para los tres cationes es mayor que uno indicando una unión positivamente cooperativa, de los analitos con el receptor. Esto significa que los cationes al unirse al primer sitio de unión del receptor, aumenta la afinidad de éste por el analito en cuestión. Además, si bien el coeficiente de Hill no es una medida directa de la estequiometría del complejo, al tratarse de una unión positivamente cooperativa, con K_{app} altas, este coeficiente se acerca bastante a al valor real de la estequiometría del complejo^{50,51}, lo que concuerda con los obtenidos mediante el método de variación continua Job-plot.

Si bien los datos espectroscópicos para esta unión receptor-cation, nos permiten suponer que este sensor es del tipo “ON-OFF” a través de un proceso PET de la desactivación de la fluorescencia, faltan estudios que nos permitan caracterizar el sitio de unión como por ejemplo ^1H -RMN en presencia de los analitos y cálculos computacionales de los orbitales moleculares con el fin de confirmar el proceso fotoinducido que está ocurriendo.

6. Conclusiones

1.- Se logro sintetizar y caracterizar mediante $^1\text{H-RMN}$ siete nuevos calix[4]arenos. Los calix[4]arenos **15**, **16**, **17**, **18** y **20** en conformación *cono*. Y las moléculas **19**, **20** en conformación *1,3-alternada*. La conformación fue confirmada por $^1\text{H-RMN}$

2.- Los calix[4]arenos **15**, **18**, **19**, **20** y **21** se obtuvieron con éxito a través de la incorporación de grupos tioureas. Mientras que las moléculas **16** y **17** se sintetizaron mediante la incorporación de grupos amida.

3.- Los compuestos **15**, **16** y **17** poseen su grupo funcional conjugado con derivados de BODIPY. Los calix[4]arenos **18** y **19** están conjugados con derivados de pirazolo[3,4-b]piridina. Mientras que las moléculas **20** y **21** se encuentran conjugados a derivados de triazolo[1,5-a]piridinas. Esto permitió el desarrollo de siete nuevas moléculas fluorescentes.

4.- El análisis exploratorio reveló que el receptor **15** presenta cambios con todos los cationes en estudio, por lo cual pierde relevancia como receptor para estos por su falta de especificidad, pero muestra un aumento de la fluorescencia en presencia del anión bisulfato.

Las moléculas **18** y **19** presentan una disminución de la intensidad de fluorescencia en presencia de los cationes Pb^{2+} y Cu^{2+} . Mientras que no presentan cambios en su espectro de emisión cuando están en presencia de los aniones en estudio.

Las moléculas **20** y **21**, al igual que las anteriores, no presentan cambios en su espectro de fluorescencia en presencia de aniones. Pero se ve una disminución de esta cuando las moléculas interactúan con los cationes Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} .

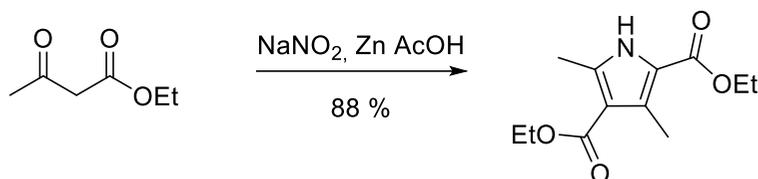
5.- El estudio para determinar la estequiometría de los complejos formados por los receptores **20** y **21** muestran una relación 1:2 receptor-ion para los cationes Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} . Al realizar el análisis con Ag^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} no se aprecian cambios significativos en su espectro de emisión a las concentraciones de trabajo. Mientras que el receptor **15** presenta una relación 1:1 para la interacción receptor-ion

6.- El compuesto **15** presenta una K_a de $1,32 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ para el ion bisulfato. Mientras que los calix[4]arenos **20** y **21** tienen constantes de asociación aparentes que rondan entre los órdenes de magnitud de 10^{10} a 10^{17} para los cationes estudiados.

7.- No fue posible realizar el estudio como receptor para el calix[4]areno **17**, mientras que para las moléculas **18** y **19** solo se realizó el análisis exploratorio. Además, no se realizó el estudio de selectividad de los siete nuevos receptores.

7. Síntesis

7.1 Síntesis de 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol (1).



Esquema 13; Síntesis de 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol.

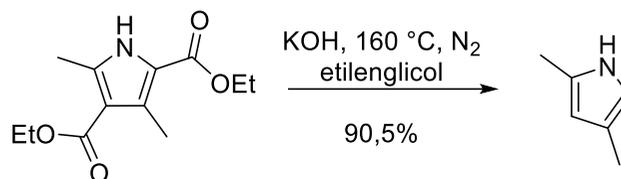
En un balón de dos litros con dos bocas, fondo plano y equipado con agitación magnética se prepara una solución de 41 g de nitrito de sodio (0,6 mol) en 60 ml de agua destilada y se coloca en un baño de hielo. A esta solución se agrega por goteo una mezcla conformada por 150 ml de acetoacetato de etilo (153,6 g, 1,18 mol) y 300 ml de ácido acético glacial, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de los 10 °C. Este último punto es de extrema importancia ya que si la reacción supera esta temperatura se desprenderán vapores de dióxido de nitrógeno. Terminada la adición la mezcla de reacción se agita a 10 °C por 2,5 horas.

Cumplido el tiempo se agregan 77 g de Zn en polvo (1,18 mol) en fracciones de 7 g cada una, manteniendo la temperatura por debajo de los 25 °C. Después la reacción se calienta entre 45 – 50 °C con el fin de que el Zn restante se consuma. Nuevamente es de suma importancia el control de la temperatura de reacción, además es necesario verificar el consumo completo de zinc ya que de lo

contrario existe gran riesgo de proyecciones violentas. Luego la mezcla de reacción se calienta a 95 °C por una hora, terminado es te tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente apareciendo un sólido amarillo el cual se filtra y lava con abundante agua, para posteriormente ser recristalizado en etanol, obteniendo 124,3 g de producto. R: 88%.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz CDCl_3) δ 8.90 (s, 1H, N-H), 4.32 (m, 4H, O- CH_2CH_3), 2.56 (s, 3H, - CH_3), 2.51 (s, 3H, - CH_3), 1.36 (m, 6H, O- CH_2CH_3)

7.2 Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (2).



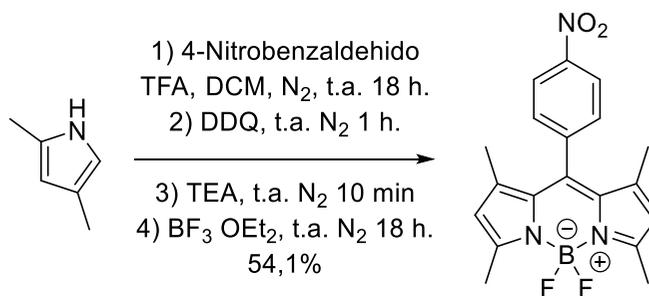
Esquema 14: Síntesis de 2,4-dimetilpirrol (II).

En una olla con arena se coloca un balón de un litro, equipado con agitación magnética y purgado con nitrógeno, se agrega 20 g (83,57 mmol) de 2,4-dimetil-3,5-bis(etoxicarbonil)pirrol 1, 23,4 g (417,04 mmol) de hidróxido de potasio y 150 ml de etilenglicol, la mezcla de reacción se calienta a 160 °C por cuatro horas en atmosfera de nitrógeno. Trascurrido el tiempo la reacción de dejar enfriar a temperatura ambiente y se realizan tres extracciones con 100 ml de DCM. Se juntan las fases orgánicas, se secan con sulfato de magnesio (MgSO_4) y se

concentra en el evaporador rotatorio, obteniendo un aceite café oscuro que se utiliza sin más purificación, obteniendo 7,2 g de producto. R: 90,5 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ (ppm): 7,62 (br s, 1H, N-H), 6,41 (s, 1H, Ar-H), 5,75 (s, 1H, Ar-H), 2,24 (s, 3H, -CH₃), 2,08 (s, 3H, -CH₃).

7.3 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (3)



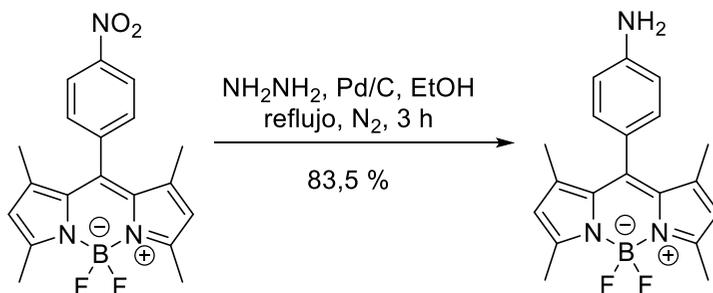
Esquema 15: síntesis 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de un litro, equipado con agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agregan 2 g (21,03 mmol) de 2,4-dimetilpirrol, 1,41 g (9,33 mmol) de 4-nitrobenzaidehído, 2 gotas de TFA y 620 ml de DCM seco. La mezcla de reacción se deja con agitación a temperatura ambiente, protegido de la luz y en atmosfera de nitrógeno por 12 h. Trascurrido ese tiempo se agregan 2,12 g (9,33 mmol) de DDQ y se continua en agitación en la oscuridad, atmosfera de nitrógeno y temperatura ambiente por 1 h. Luego se agrega 20 ml de TEA (14,52 g, 143,49 mmol) y 10 min. después se agregan 18 ml de trifluoruro de boro

eterato. Nuevamente se deja agitando durante toda la noche en atmosfera de nitrógeno y temperatura ambiente. Finalmente, la mezcla de reacción se filtra sobre celita y sílica, la solución se concentra en evaporador rotatorio y el crudo de reacción se purifica en columna cromatográfica usando como fase móvil una mezcla de DCM:Hex 2:3 obteniéndose 2,1 g de producto. R = 54,1%.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 8,39 (d, $j = 7,4$ Hz, 2H, Ph-H), 7,54 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, Ph-H), 6.02 (s, 2H, Ar-H), 2.57 (s, 6H, -CH₃), 1.37 (s, 6H, -CH₃).

7.4 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (4)



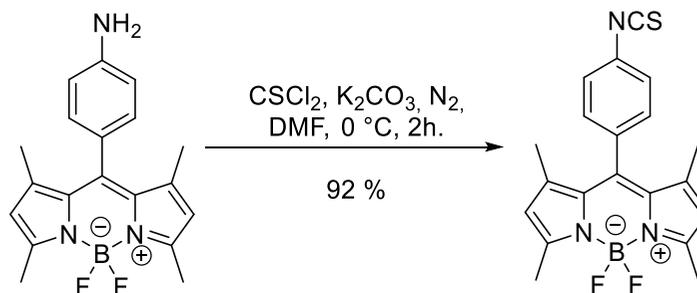
Esquema 16: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 90 mg (0,24 mmol) de BODIPY **3**, 0,2 ml de hidracina monohidrato al 80% (0,2 g 3,2 mmol) y 10 ml de etanol. El sistema se purga con nitrógeno, se agrega 90 mg de catalizador (paladio/carbono) y se calienta a reflujo con agitación y atmosfera de nitrógeno. La reacción se monitorea por TLC y una vez consumido todo el

reactivo de partida, se deja enfriar la solución a temperatura ambiente. Finalmente, la solución es filtrada al vacío, concentrada en evaporador rotatorio y purificada en columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt:Hex 1:1 obteniendo 68 mg del compuesto. R = 83,5%

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 7,01 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, Ph-H), 6,78 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, Ph-H), 5,97 (s, 2H, Ar-H), 3,82 (s, 2H, -NH₂), 2,54 (s, 6H, -CH₃), 1.49 (s, 6H, -CH₃).

7.5 Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (5)



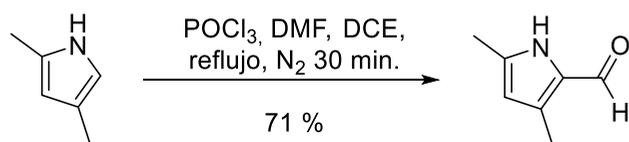
Esquema 17: Síntesis 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agregan 68 mg (0,2 mmol) de BODIPY **4**, 135 mg de carbonato de potasio y 20 ml de DMF. La mezcla de reacción se coloca en baño de agua-hielo y agitación magnética, dejando enfriar la solución por 10 minutos, transcurrido ese

tiempo se agregan 60 μL (90 mg, 0,78 mmol) de tiofosgeno lentamente. La reacción se deja a temperatura ambiente y con agitación continua por 1 h. Finalmente la mezcla de reacción se concentra en evaporador rotatorio y se purifica en columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de DCM:Hex 1:1, obteniendo 70,2 mg del compuesto. R = 92%.

^1H -RMN (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 7,29 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, Ph-H), 7,22 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, Ph-H), 5,92 (s, 2H, Ar-H), 2,48 (s, 6H, -CH₃), 1.33 (s, 6H, -CH₃).

7.6 Síntesis de 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído (6)



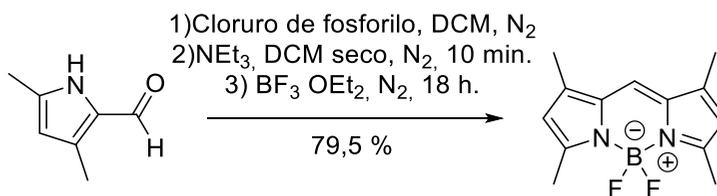
Esquema 18: Síntesis de 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído.

En un balón de 250 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agrega 4,9 ml (4,6 g 62,95 mmol) de DMF y se enfría en baño de agua hielo. Una vez frío se agrega por goteo 5,9 ml (9,7 g, 63,26 mmol) de cloruro de fosforilo y se agita por 15 min a temperatura ambiente. Trascorrido ese tiempo la mezcla se vuelve a enfriar con un baño de agua hielo y se agrega 30 ml de 1,2-dicloroetano manteniendo la atmosfera de nitrógeno, a la mezcla de reacción ya fría se le añade por goteo 50 ml de una solución compuesta por 50 ml de 1,2-dicloroetano y 5 g (52,58 mmol) de 2,4-dimetilpirrol **2**. Una vez terminada la

adición de la solución, la mezcla de reacción se calienta a reflujo por 30 min y se enfría a temperatura ambiente manteniendo la atmosfera de nitrógeno. Luego se agrega 100 ml de una solución de acetato de sodio al 24 % y la mezcla de reacción nuevamente es calentada a reflujo por 30 min. Trascurrido el tiempo se deja enfriar la solución a temperatura ambiente, la fase orgánica se separa, se lava dos veces con 50 ml de una solución saturada de Na₂CO₃ y una vez con 100 ml de agua destilada. Finalmente, la fase orgánica es llevada a sequedad en el evaporador rotatorio y se purifica en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 1:1, obteniendo 4,6 g del producto. R = 71%

¹H-RMN (400 MHz; CDCl₃, TMS, 25°C) δ 9,97 (s, 1H, NH), 9,45 (s, 1H, CHO), 5,84 (s, 1H, Ar-H), 2,31 (s, 3H, -CH₃), 2,29 (s, 3H, -CH₃).

7.7 Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (7)



Esquema 19: Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de 250 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agregan 3 g (24,35 mmol) de 3,5-dimetilpirrol-2-carbaldehído **6** y 120 ml de DCM seco. El balón de reacción se enfría con un baño de agua hielo por 10 min. luego se agrega por goteo 2,7 ml (4,4 g, 28,70 mmol) de cloruro de fosforilo y se deja agitando primero por 20 min en el baño de agua hilo y posteriormente 18 h a temperatura ambiente. Trascurrido ese tiempo la mezcla de reacción es nuevamente enfriada utilizando un baño de agua hielo, se agrega 17 ml (12,34 g 0,122 mol) de TEA y se deja agitando por 10 min. Luego se agregan 24 ml de trifluoruro de boro eterato y se deja agitando a temperatura ambiente, en la oscuridad, por 48 h. La mezcla de reacción es filtrada en celita y sílica, lavando con abundante DCM. La solución resultante se concentra en el evaporador rotatorio hasta que alcance un volumen aproximado de 100 ml, la fase orgánica se lava dos veces con 50 ml de una solución de ácido clorhídrico al 10%. Finalmente, la fase orgánica se seca con MgSO₄, se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo es purificado en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 9:1, obteniéndose 2,4 g de producto. R = 79,5%.

¹H-RMN (400 MHz; CDCl₃, TMS, 25°C) δ 7,48 (s, 1H, Ar-H), 6,27 (s, 2H, Ar-H), 2,75 (s, 6H, -CH₃), 2,47 (s, 6H, -CH₃).

7.8 Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (8)



Esquema 20: Síntesis de 4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno.

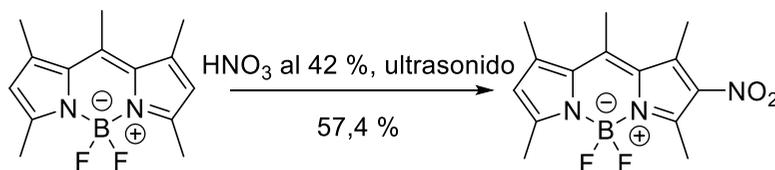
En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agregan 5 g (52,55 mmol) de 2,4-dimetilpirrol **2** y 20 ml de DCM seco. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente y se agrega por goteo 8,6 ml (9,5 g, 0,12 mol) de cloruro de acetilo, terminada la adición la mezcla de reacción se calienta a reflujo por 1 hora. Trascurrido el tiempo la reacción es vertida sobre 100 ml de hexano formando un precipitado, este se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio.

El sólido es disuelto en 240 ml de DCM seco en un balón de 500 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno. A esta solución se agrega lentamente 21 ml (15,25 g, 0,15 mol) de NEt₃, terminada la adición se agita por diez minutos para posteriormente se agrega lentamente 30 ml de trifluoruro de boro eterato y se agita a temperatura ambiente por 1 hora. Trascurrido el tiempo la mezcla de reacción se lava 3 veces con 100 ml de una solución saturada de Na₂CO₃, concentrada a sequedad en el evaporador rotatorio y se purifica en una

columna cromatografía utilizando como fase móvil Hex:DCM 1:1, el sólido obtenido es recristalizado con una mezcla de DCM:EtOH 1:1, obteniendo 5 gramos de producto. R: 72,6 %.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 6,04 (s, 2H, Ar-H), 2,56 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 2,52 (s, 6H, $-\text{CH}_3$), 2,40 (s, 6H, $-\text{CH}_3$).

7.9 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (9)



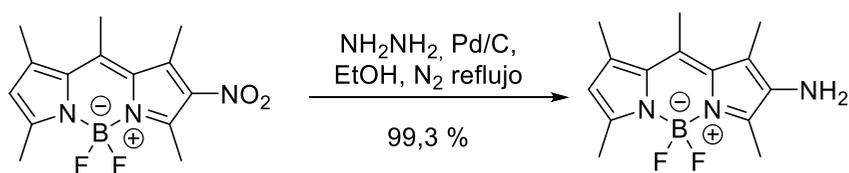
Esquema 21: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno

500 mg (1,9 mmol) de BODIPY **8** se separa en 2 porciones de 250 mg y se agregan a 2 balones de 100 ml, estos se colocan en un sonicador con baño de agua hielo y a cada balón de reacción se agregan 21 ml de ácido nítrico al 42 % frío. El sonicador se coloca a 40 KHz, 99 % de potencia y el baño a una temperatura entre 8 y 10°C por 45 minutos. Terminado el tiempo a cada balón se agregan 50 ml de agua hielo y las mezclas de reacción se combinan. Se realizan 3 extracciones con 100 ml de DCM, la fase orgánica se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo de reacción se purifica por columna

cromatográfica utilizando como fase móvil Hex:AcOEt 2:1 obteniéndose 335 mg de compuesto. R: 335 mg 57,4%.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 6,29 (s, 1H, Ar-H), 2,88 (s, 3H, - CH_3), 2,71 (s, 3H, - CH_3), 2,70 (s, 3H, - CH_3), 2,59 (s, 3H, - CH_3), 2,49 (s, 3H, - CH_3).

7.10 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diaza-s-indaceno (10)



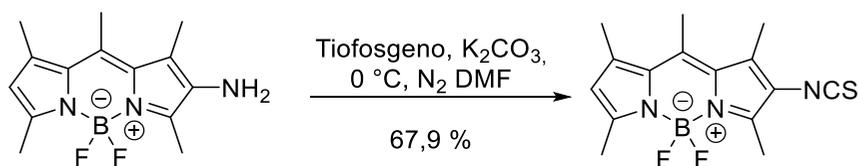
Esquema 22: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética se agregan y atmosfera de nitrógeno, se agregan 335 mg (1,09 mmol) de BODIPY **9**, 50 ml de etanol y 5 ml (5,1 g 81,6 mmol) de hidrato de hidracina al 80 %. Mientras la mezcla de reacción se agita se purga con N_2 , para luego agregar 50 mg de catalizador (Pd/C) al 10%, la reacción se calienta a 60°C por 15 minutos. Trascorrido el tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente y la mezcla se filtra con el fin de eliminar el Pd/C el cual se lava con abundante etanol y luego con DCM. La solución se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo es disuelto en 100 ml de DCM, esta solución se lava tres veces con 50 ml de agua a pH 11 (el

pH se ajusta con amoniac), posteriormente la fase orgánica se seca con MgSO₄, se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y se purifica en columna cromatográfica utilizando como fase móvil AcOEt:Hex 2:1, obteniendo 300 mg de producto. R: 99,3%.

¹H-RMN (400 MHz; CDCl₃, TMS, 25°C) δ 5,59 (s, 1H, Ar-H), 3,02 (s, 2H, -NH₂), 2,54 (s, 3H, -CH₃), 2,48 (s, 6H, -CH₃), 2,37 (s, 3H, -CH₃), 2,23 (s, 3H, -CH₃).

7.11 Síntesis de 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiociano-3a,4a-diaza-s-indaceno (11)



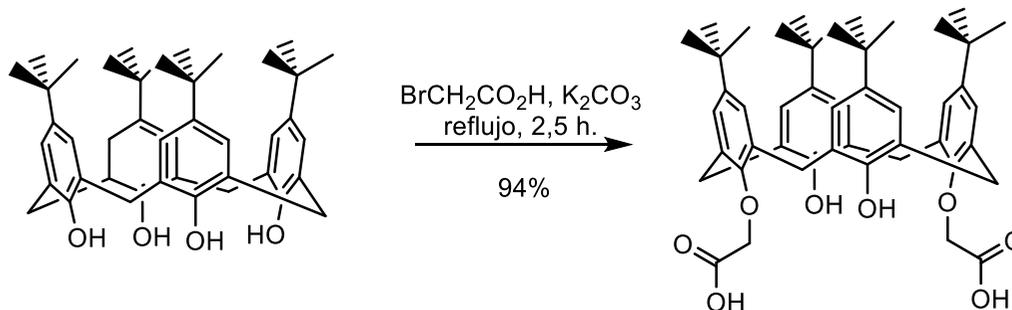
Esquema 23: Síntesis 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiociano-3a,4a-diaza-s-indaceno.

En un balón de 50 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agregan 110 mg (0,40 mmol) de BODIPY **10**, 112,6 mg de K₂CO₃ y 10 ml de DMF. La mezcla de reacción se enfría en un baño de agua hielo y se agita por 5 minutos. Trascorrido ese tiempo se agrega por goteo 40 µL (60 mg, 0,52 mmol) de tiofosgeno y se deja por 15 minutos, después se agregan 30 ml de DCM y se transfiere a un embudo de decantación y se lava tres veces con 25 ml de agua. La fase orgánica se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo de

reacción se purifica en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil Hex:AcOEt 2:1, obteniéndose 86,7 mg. R: 67,9%.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 6,14 (s, 1H, Ar-H), 2,58 (s, 3H, - CH_3), 2,53 (s, 6H, - CH_3), 2,43 (s, 3H, - CH_3), 2,40 (s, 3H, - CH_3).

7.12 síntesis de Calix[4]areno di-ácido (12)

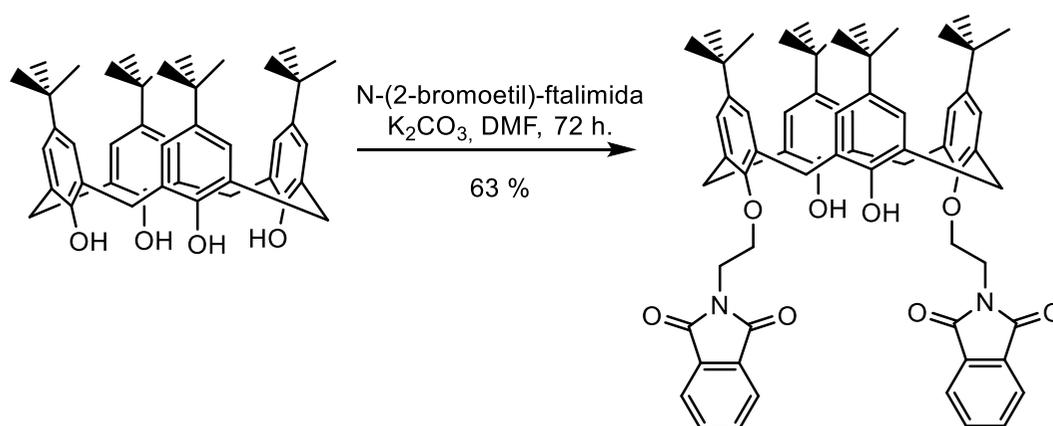


Esquema 24: Síntesis de calix[4]areno diácido.

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética, se agrega 1 g (1,54 mmol) de p-*tert*-butilcalix[4]areno, 0,5 g (3,6 mmol) de ácido bromoacético, 1,1 g (8 mmol) de carbonato de potasio, 50 ml de MeCN y esta mezcla de reacción se calienta a reflujo por 2,5 h. Trascurrido ese tiempo la mezcla de reacción se vierte en 100 ml de ácido clorhídrico al 10% produciéndose un precipitado blanco el cual es filtrado y lavado primero con 100 ml de MeCN y con 100 ml de agua destilada fría, obteniéndose 1,11 g. R = 94%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 7,06 (s, 4H, Ar-H), 6,94 (s, 4H, Ar-H), 4,67 (s, 3H, O-CH₂-CO₂H), 4,17 (d, $j = 13,3$ Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar), 3,40 (d, $j = 13,4$ Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar), 1,26 (s, 19H, -(CH₃)₃), 1,06 (s, 19H, -(CH₃)₃).

7.13 Síntesis de 5,11,17,13-tetra-*tert*-butil-25,27-bis(2-ftalamidoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (13)



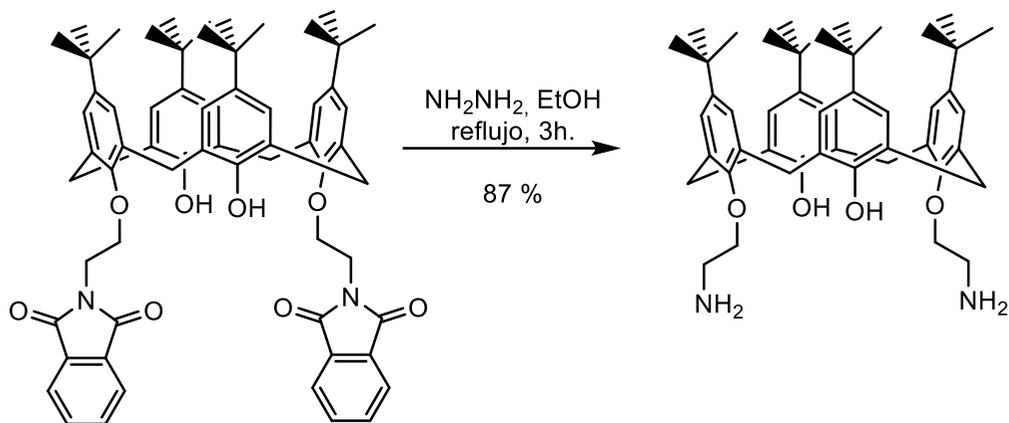
Esquema 25: Síntesis de 5,11,17,13-tetra-*tert*-butil-25,27-bis(2-ftalamidoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno.

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 5 g (7,71 mmol) de *p-tert*-butilcalix[4]areno, 4,3 g (16,92 mmol) de N-(2-bromoetil)-ftalimida, 6,38 g (46,16 mmol) de carbonato de potasio, 50 ml de DMF y la mezcla de reacción se calienta a 80°C por 72 h. Trascurrido ese tiempo la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se vierte a 100 ml de ácido clorhídrico al 10% formándose un precipitado el cual es filtrado al vacío. Este precipitado se disuelve en 150 ml de cloroformo, esta solución se lava una vez con 100 ml de ácido clorhídrico y dos veces con 100 ml de agua destilada. La

fase orgánica se seca con MgSO_4 y se concentra a sequedad en el evaporador rotatorio. El sólido obtenido se tritura con 75 ml de isopropanol hirviendo y el compuesto es recuperado por filtración al vacío, obteniéndose 4,84 g de producto. R = 63%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz; CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 7,92 (m, 4H, Ar-H), 7,69 (m, 4H, Ar-H), 6,99 (s, 4H, Ar-H), 6,70 (s, 4H, Ar-H), 4,44 (t, 4H, $J = 6,7$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4,26 (t, 4H, $J = 6,6$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4,2 (d, 4H, $J = 13,2$ Hz, Ar- CH_2 -Ar), 3,27 (d, 4H, $J = 13,2$ Hz, Ar- CH_2 -Ar), 1,27 (s, 18H, $(-\text{CH}_3)_3$), 0,88 (s, 18H, $(-\text{CH}_3)_3$).

7.14 síntesis de 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno(14)



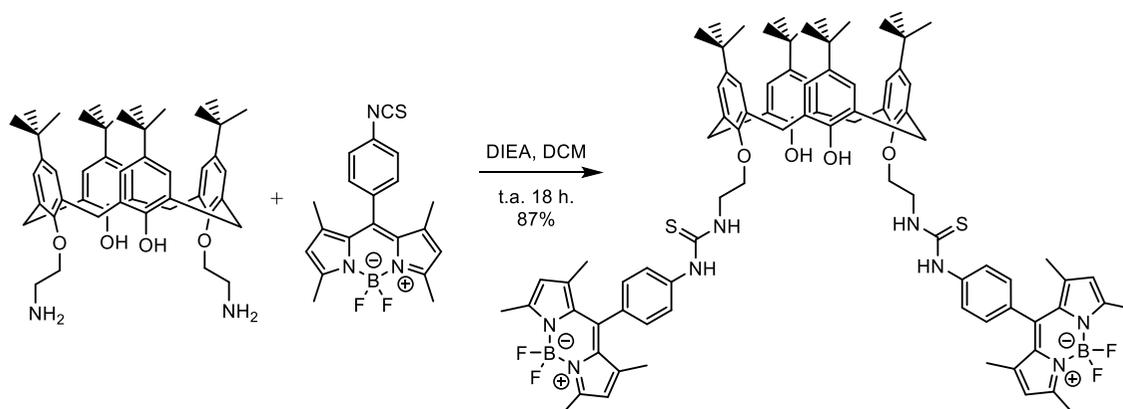
Esquema 26: síntesis de 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno.

En un balón de 250 ml, provisto de agitación magnética, se agrega 2,5 g (2,51 mmol) del calix[4]areno II, 160 ml de etanol y se calienta a reflujo. Una vez en

que la solución entra en ebullición se agrega 0,5 ml (0,51 g, 10,2 mmol) de monohidrato de hidracina al 80 % y se calienta a reflujo por 12 h. Trascorrido ese tiempo la mezcla de reacción se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo de reacción se disuelve en 200 ml de DCM. Esta solución se lava tres veces con una solución de agua y amónico a pH 9, la fase orgánica se seca con MgSO₃ anhidro y se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio, obteniéndose 1,61 g de producto. R = 87%

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃, TMS, 25°C) δ 7,04 (s, 4H, Ar-H), 6,98 (s, 4H, Ar-H), 4,32 (d, 4H, J= 12.9 Hz, Ar-CH₂-Ar), 4,07 (t, 4H, J= 4.7 Hz, OCH₂CH₂N), 3,37 (d, 4H, J= 12,9 Hz, Ar-CH₂-Ar), 3,30 (t, 4H, J= 4,7 Hz, OCH₂CH₂N) 1,24 (s, 18H, (-CH₃)₃), 1,10 (s, 18H, (-CH₃)₃).

7.15 síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Ph-BODIPY (15)



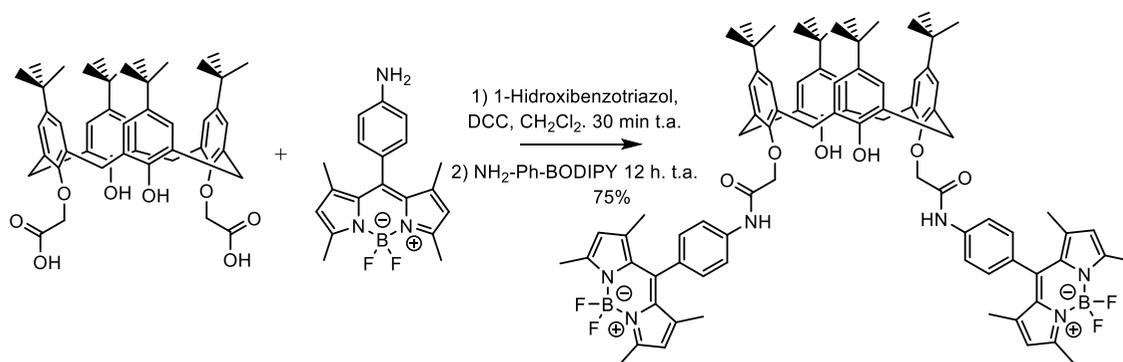
Esquema 27: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Ph-bodipi (15).

En un balón de 50 ml, provisto de agitación magnética, se agrega 0,1 g (0,26 mmol) de BODIPY **5**, 45 µL (33,6 mg, 0,26 mmol) de DIEA, 0,15 g (0,1 mmol) de

calix[4]areno-III y 10 ml de DCM. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 18 h. Trascurrido ese tiempo se agregan 40 ml de DCM y la solución se lava dos veces con 25 ml de una solución de ácido clorhídrico al 10% y una vez con 25 ml de agua destilada. La fase orgánica se seca con MgSO_4 anhidro, se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio. Finalmente, el crudo de reacción es purificado en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 3:2, obteniendo 0,130 g de producto. R = 87%.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 8.55 (s, 2H, Ph-OH), 8.55 (s, 2H, NH), 8.08 (s, 2H, NH), 7.62 (d, $j = 8.3$ Hz, 4H, Ar-H), 7.20 (d, $j = 8.3$, 4H, Ar-H), 7.10 (s, 4H, Ar-H), 7.00 (s, 4H, Ar-H), 5.97 (s, 4H, Ar-H), 4.25 (m, 12H, OCH₂CH₂NH/Ar-CH₂-Ar), 3.48 (d, $j = 13.1$ Hz, 4H, Ar-H 2Ar), 2.55 (s, 12H, Ar-CH₃), 1.44 (s, 12H, Ar-CH₃), 1.25 (s, 18H, (-CH₃)₃), 1.10 (s, 18 H, (-CH₃)₃).

7.16 Síntesis de Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16)

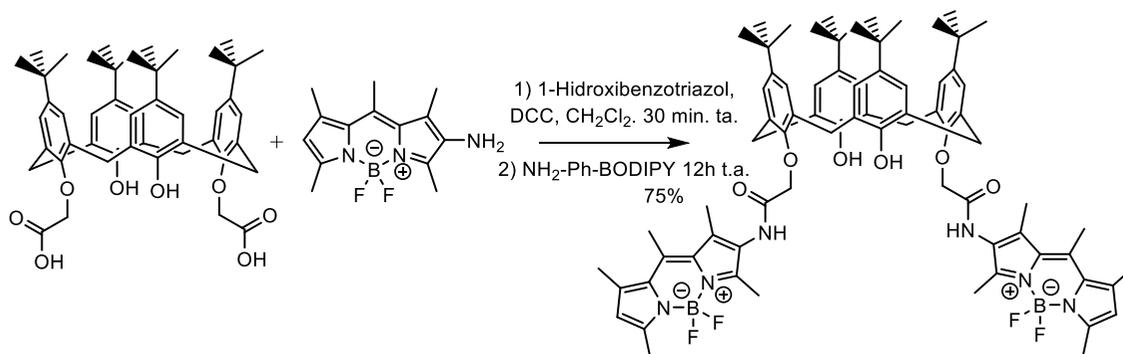


Esquema 28: Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16).

En un balón de 100 ml, provisto de agitación magnética y atmosfera de nitrógeno, se agrega 76,5 mg (0,1 mmol) de calix[4]areno-I, 51,6 mg (0,25 mmol) de N,N'-diclohexilcarbodiimida, 25 ml de DCM seco y se agita a temperatura ambiente hasta la aparición de un precipitado blanco. Luego se agrega 33,8 mg (0,25 mmol) de 1-hidroxibenzotriazol, 84,8 mg (0,25 mmol) de BODIPY 4 y se agita a temperatura ambiente por 12 h. Trascorrido la mezcla de reacción se filtra, lavando el sólido con 50 ml de DCM. Se descarta el sólido y la solución se lava dos veces con 25 ml de una solución de ácido clorhídrico al 10% y una vez con agua destilada. La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro, se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo de reacción es purificado en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 2:1, obteniendo 0,105 g de producto. R = 75%

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, TMS, 25°C) δ 10,64 (s, 2H, NH), 8,34 (s, 2H, Ar-OH), 7,80 (d, j = 8,5, 4H, Ar-H), 7,19 (d, j = 8,5, 4H, Ar-H), 7,17, (s, 4H, Ar-H), 7,06 (s, 4H, Ar-H), 5,98 (s, 4H, Ar-H), 4,70 (s, 4H, O-CH₂-CO), 4,24 (d, j = 13,3 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar), 3,58 (d, j = 13,4, 4H, Ar-CH₂Ar), 2,54 (s, 12H, Ar-CH₃), 1,44 (s, 12H, Ar-CH₃), 1,29 (s, 18H, (-CH₃)₃), 1,12 (s, 18H, (-CH₃)₃).

7.17 Síntesis de Calix[4]areno-amida-BODIPY (17)

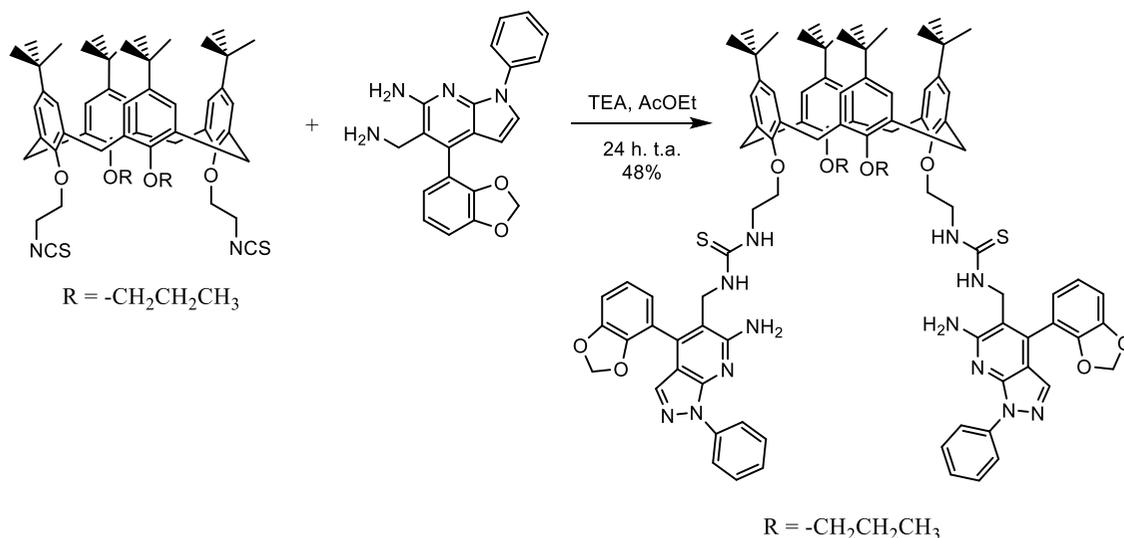


Esquema 29: Síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-amida-BODIPY (17).

En un balón de 50 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 160,6 mg (0,21 mmol) de calix[4]areno-I, 66,2 mg (0,32 mmol) de 1H-hidroxibenzotriazol y 6 ml de cloroformo. La mezcla de reacción se enfría en baño de agua hielo y una vez frío se agrega 100 mg (0,74 mmol) de N,N'-diciclohexilcarbodiimida. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 30 min. Trascurrido ese tiempo se incorpora a la reacción una solución compuesta por 135,6 mg (0,49 mmol) de BODIPY **10** en 10 ml de cloroformo, terminada la adición la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 12 h. Pasado este tiempo, la mezcla de reacción se filtra al vacío, el sólido se lava con 50 ml de cloroformo y se descarta, mientras que la solución se lava dos veces con 50 ml de ácido clorhídrico al 10% y una vez con 50 ml de agua destilada. La fase orgánica seca con MgSO₄ anhidro y se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio. Finalmente, el crudo de reacción se purifica en columna cromatográfica utilizando como fase móvil AcOEt:Hex 1:1, obteniéndose 150,9 mg. R = 56%.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 9,48 (s, 2H, NH), 9,02 (s, 2H, OH), 7,14 (s, 4H, Ar-H), 6,80 (s, 4H, Ar-H), 6,05 (s, 2H, Ar-H), 4,67 (s, 4H, O-CH₂-CO), 4,27 (d j = 13,5, 4H, Ar-CH₂-Ar), 3,46 (d j = 13,6, Ar-CH₂-Ar), 2,51 (s, 12H, ()), 2,41 (s, 6H, Ar-CH₃), 2,40 (s, 6H, Ar-CH₃), 2,31 (s, 6H, Ar-CH₃), 1,32 (s, 18H, (-CH₃)₃), 0,94 (s, 18H, (-CH₃)₃).

7.18 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Pirazolo[3,4-b]piridina *cono* (18)



Esquema 30: Síntesis de síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy cono (18).

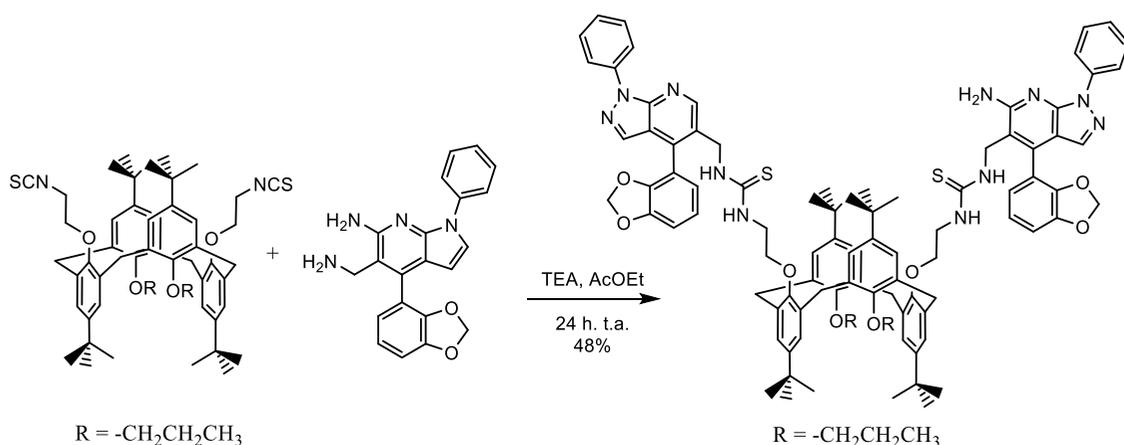
En un balón de 25 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 55 mg (0,06 mmol) de 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicaliz[4]areno, 50 mg (0,14 mmol) de 5-(aminometil)-4-(benzo[1,3-d]dioxol-2-il)-3-metil-1-fenil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-amina, tres gotas de TEA

y 10 ml de AcOEt. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 24 h, transcurrido ese tiempo la mezcla de reacción se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio. El crudo de reacción se purifica en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt:Hex 1:2, obteniéndose 46,7 mg de producto. R = 48%.

$^1\text{H-NMR}$ (300 Mhz, CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 8,08 (d, 4H, $j = 9$ Hz, Ar-H), 7,63 (s, 2H, CSNHC), 7,73 (t, 4H, $j_1 = 9$ $j_2 = 6$ Hz, Ar-H), 7,18 (d, 4H, $j = 6$ Hz, Ar-H), 7,14 (s, 4H, Ar-H), 6,89 (dd, 2H, $j_1 = 3$, $j_2 = 6$ Hz, Ar-H), 6,71 (s, 2H, Ar-H), 6,66 (d, 2H, $j = 6$ Hz Ar-H), 6,40 (s, 4H, Ar-H), 6,00 (s, 4H, OCH2O), 5,56 (s, 4H, ArNH₂), 4,75 (m, 4H, ArCH₂NH), 4,21 (d, 4H, $j = 15$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 4,08 (m, 4H, ArOCH₂CH₂), 4,00 (m, 4H, ArO CH₂CH₂), 3,62 (m, 4H, NHCH₂CH₂), 3,18 (d, 4H, $j = 15$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 1,19 (s, 6H, ArCH₃), 1,49 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃), 1,34 (s, 18H, (-CH₃)₃), 0,78 (s, 18H, C (-CH₃)₃), 0,52 (m, 6H, CH₂CH₃).

7.19 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Pirazolo[3,4-b]piridina

1,3-alternado (19)



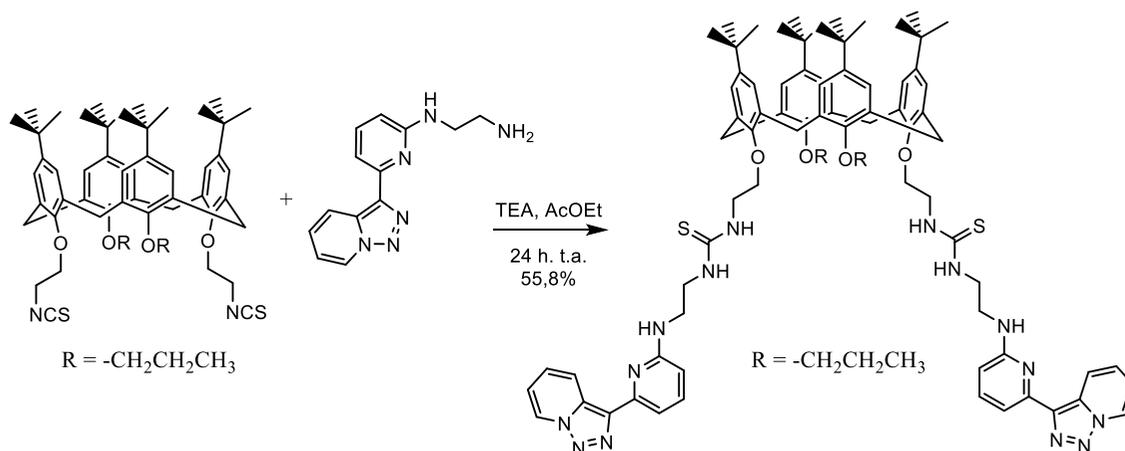
Esquema 31: Síntesis de síntesis de Síntesis de Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy 1,3-alternado (19).

En un balón de 25 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 55 mg (0,06 mmol) de 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicaliz[4]areno, 50 mg (0,14 mmol) de 5-(aminometil)-4-(benzo[1,3-d]dioxol-2-il)-3-metil-1-fenil-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-amina, tres gotas de TEA y 10 ml de AcOEt. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 24 h, trascurrido ese tiempo la mezcla de reacción se lleva a sequedad en el evaporador rotatorio. El crudo de reacción se purifica en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de AcOEt:Hex 1:2, obteniéndose 38,9 mg de producto. R = 39%.

¹H-NMR (300 Mhz, CDCl₃, TMS, 25°C) δ 8,16 (d, 4H, j = 6 Hz, Ar-H), 7,44 (t, 4H, j1 = 9 j2 = 6 Hz, Ar-H), 7,20 (t, 4H, j1 = 9 j2 = 6 Hz, Ar-H), 6,98 (s, 4H, Ar-H), 6,92

(s, 4H, Ar-H), 6,77 (d, 2H, $j = 6$ Hz, Ar-H), 6,33 (ancho, 4H, Ar-H), 6,03 (s, 4H, OCH₂O), 5,79 (s, 4H, ArNH₂), 4,65 (ancho, 4H, ArCH₂NH), 3,65 (m ancho, 8H, Ar-CH₂-Ar), 3,23 (t, 4H, $j = 9$ Hz, ArOCH₂CH₂),), 3,23 (m ancho, 4H, OCH₂CH₂NH), 2,91 (ancho, 4H, OCH₂CH₂NH), 1,78 (s, 6H, ArCH₃), 1,25 (ancho, 4H, CH₂CH₂CH₃), 1,20 (s, 16H, (-CH₃)₃), 1,16 (s, 16H, (-CH₃)₃), 0,63 (t, 6H, $j = 9$ Hz, OCH₂CH₂CH₃).

7.20 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Triazolo[1,5-a]piridinas *cono* (20)



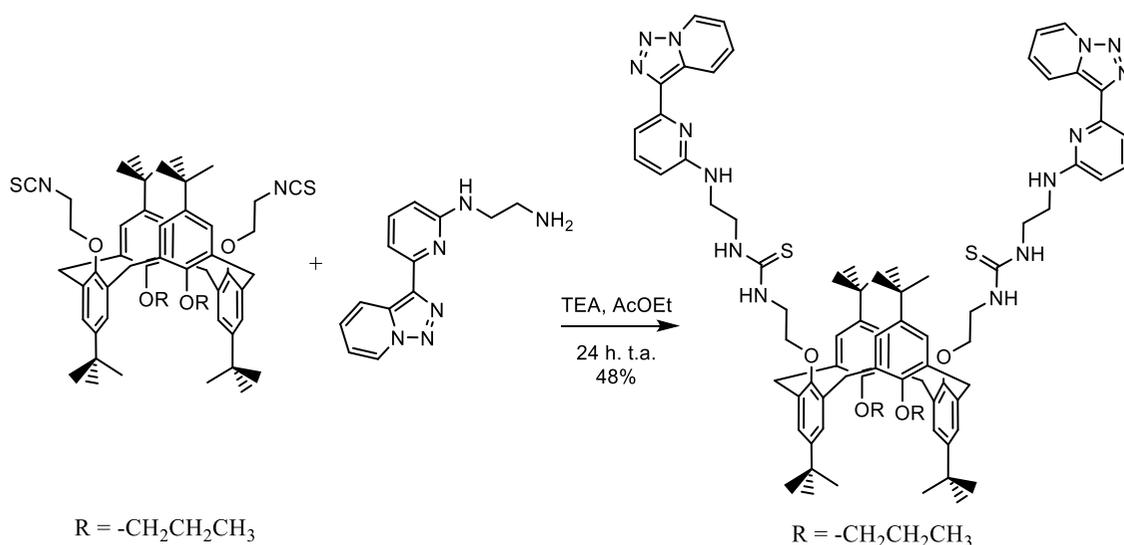
Esquema 32: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo *cono* (20).

En un balón de 25 ml, provisto de agitación magnética, se agrega, 101,1 mg (0,40 mmol) de 3-(6-(N-dietilamina)-2-piridinil)-1,2,3-triazolo[1,5-a]piridina y 163,7 mg (0,18 mmol) 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicaliz[4]areno 10 ml de acetato de etilo, a esta mezcla de reacción se adicionan tres gotas de TEA. La mezcla de reacción se agita por 24 h. a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo la mezcla de reacción se lleva a

sequedad en el evaporador rotatorio y el crudo de reacción es purificado en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 2:1, obteniéndose 141,8 mg de producto. R = 55,8%.

$^1\text{H-RMN}$ (300 Mhz, CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 8,65 (d, 2H, $j = 7$ Hz, Ar-H), 8,47 (d, 2H, $j = 8,9$ Hz, Ar-H), 7,47 (m, 2H, Ar-H), 7,47 (m, 2H, Ar-H (b)), 7,33 (ddd, 2H, $j_1 = 8,9$ $j_2 = 6,6$ $j_3 = 0,9$ Hz, Ar-H), 7,08 (s, 4H, Ar-H), 6,98 (td, 2H, $j_1 = 6,7$ $j_2 = 1,2$ Hz, Ar-H) 6,41 (c, 2H, $j_1 = 3,7$ Hz $j_2 = 1,7$ Hz, Ar-H), 6,38 (s, 4H, Ar-H), 5,31 (s ancho, 2H, Ar-NH-CH), 4,23 (d, 4H, $j = 12,6$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 4,16 (d, 4H, $j = 7,1$ Hz, OCH₂CH₂NH), 4,10 (t, 4H, $j = 7,1$ Hz, OCH₂CH₂NH), 3,98 (s ancho, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 3,70 (t, 4H, $j = 7$ Hz, CSNHCH₂CH₂NH), 3,63 (s ancho, 4H, CSNHCH₂CH₂NH), 3,09 (d, 4H, $j = 12,8$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 1,64 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 1,33 (s, 18H, (-CH₃)₃), 0,78 (s, 18H, (-CH₃)₃), 0,68 (t, 6H, $j = 7,4$ Hz, OCH₂CH₂CH₃).

7.21 Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Triazolo[1,5-a]piridinas 1,3-alternado (21)



Esquema 33: Síntesis de Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo 1,3-alternado (21).

En un balón de 25 ml, provisto de agitación magnética, se agregan 51,2 mg (0,20 mmol) de 3-(6-(n-dietilamina)-2-piridinil)-1,2,3-triazolo[1,5-a]piridina, 82,1 mg (0,091 mmol) 5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dipropoxicaliz[4]areno 1,3 alternado y 8 ml de AcOEt, a esta mezcla de reacción se adicionan tres gotas de trietilamina y la mezcla de reacción se agita por 24. trascurrido ese tiempo la mezcla de reacción es llevada a sequedad en el evaporador rotatorio, el crudo de reacción es purificado en una columna cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hex:AcOEt 1:2, obteniéndose 60,9 mg de producto. R = 47,4%.

$^1\text{H-NMR}$ (300 Mhz, CDCl_3 , TMS, 25°C) δ 8,67 (d, 2H, $j = 6,9$ Hz, Ar-H), 8,38 (d, 2H, $j = 7,9$ Hz, Ar-H), 7,73 (t, $j_1 = 7,7$ $j_2 = 7,9$, Hz, Ar-H), 7,36 (m, 2H, Ar-H (b)), 7,31 (m, 2H, Ar-H), 7,00 (s, 4H, Ar-H), 6,93 (m, 2H, Ar-H (c)), 6,33 (d, 2H, $j = 8,2$ Hz, Ar-H), 5,27 (s ancho, 2H, ArNHCH₂), 3,86 (d, 4H, $j = 16,2$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 3,77 (d, 4H, $j = 16,2$ Hz, Ar-CH₂-Ar), 3,74 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 3,62 (s ancho, 4H, OCH₂CH₂NH), 3,30 (t, 4H, $j_1 = 8$ $j_2 = 8,1$ Hz, OCH₂CH₂NH), 3,20 (s ancho, 8H, NHCH₂CH₂NH), 1,25 (s, 18H, (-CH₃)₃), 1,14 (s, 18H, (-CH₃)₃), 1,03 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₃), 0,67 (t, 6H, $j_1 = 7,3$ $j_2 = 7,6$ Hz, OCH₂CH₂CH₃).

7. Bibliografía

- (1) Lehn, J.-M. Toward Complex Matter: Supramolecular Chemistry and Self-Organization. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99* (8), 4763–4768.
- (2) Lehn, J. M. Supramolecular Chemistry. *Science* **1993**, *260* (5115), 1762–1763. <https://doi.org/10.1126/science.8511582>.
- (3) Martínez-Mañez, R.; Sancenón, F. Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (11), 4419–4476. <https://doi.org/10.1021/cr010421e>.
- (4) Du, J.; Hu, M.; Fan, J.; Peng, X. Fluorescent Chemodosimeters Using “Mild” Chemical Events for the Detection of Small Anions and Cations in Biological and Environmental Media. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (12), 4511–4535. <https://doi.org/10.1039/C2CS00004K>.
- (5) Valeur, B.; Leray, I. Design Principles of Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205* (1), 3–40. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00246-0).
- (6) Catalytic Metal Ions and Enzymatic Processing of DNA and RNA | Accounts of Chemical Research <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar500314j> (accessed 2021 -06 -29).
- (7) Copper & biological health - PubMed <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19106440/> (accessed 2021 -06 -29).
- (8) Dudka, S.; Adriano, D. C. Environmental Impacts of Metal Ore Mining and Processing: A Review. *J. Environ. Qual.* **1997**, *26* (3), 590–602. <https://doi.org/10.2134/jeq1997.00472425002600030003x>.
- (11) Xu, L.; Zhang, W.; Liu, X.; Zhang, C.; Wang, P.; Zhao, X. Circulatory Levels of Toxic Metals (Aluminum, Cadmium, Mercury, Lead) in Patients with Alzheimer’s Disease: A Quantitative Meta-Analysis and Systematic Review. *J. Alzheimers Dis.* **2018**, *62* (1), 361–372. <https://doi.org/10.3233/JAD-170811>.
- (12) Heavy Metal Toxicity and the Environment | SpringerLink https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-7643-8340-4_6 (accessed 2021 -06 -29).

- (13) Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Van Rossom, W.; Gale, P. A. Applications of Supramolecular Anion Recognition. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (15), 8038–8155. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00099>.
- (14) Beer, P. D.; Smith, D. K. Anion Binding and Recognition by Inorganic Based Receptors. In *Progress in Inorganic Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 1997; pp 1–96. <https://doi.org/10.1002/9780470166475.ch1>.
- (15) Mechanisms and assessment of water eutrophication | SpringerLink <https://link.springer.com/article/10.1631%2Fjzus.B0710626> (accessed 2021 -06 -29).
- (16) One hundred years of chromium and cancer: A review of epidemiological evidence and selected case reports - Langrrd - 1990 - American Journal of Industrial Medicine - Wiley Online Library <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajim.4700170205> (accessed 2021 -06 -29).
- (17) Mandolini, L.; Ungaro, R. *Calixarenes in Action*; PUBLISHED BY IMPERIAL COLLEGE PRESS AND DISTRIBUTED BY WORLD SCIENTIFIC PUBLISHING CO., 2000. <https://doi.org/10.1142/p168>.
- (18) Kappe, T. The Early History of Calixarene Chemistry. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1994**, *19* (1), 3–15. <https://doi.org/10.1007/BF00708971>.
- (19) Calixarenes and Beyond | Placido Neri | Springer <https://www.springer.com/la/book/9783319318653> (accessed 2021 -07 -12).
- (20) Gutsche, C. D.; Dhawan, B.; Levine, J. A.; Hyun No, K.; Bauer, L. J. Calixarenes 9: Conformational Isomers of the Ethers and Esters of Calix[4]Arenes. *Tetrahedron* **1983**, *39* (3), 409–426. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)88541-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)88541-0).
- (21) The Use of Calixarenes in Metal-Based Catalysis | Chemical Reviews <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr8002196> (accessed 2021 -07 -12).
- (22) Zielenkiewicz, W.; Marcinowicz, A.; Cherenok, S.; Kalchenko, V. I.; Poznański, J. Phosphorylated Calixarenes as Receptors of L-Amino Acids and Dipeptides: Calorimetric Determination of Gibbs Energy, Enthalpy and Entropy of Complexation. *Supramol. Chem.* **2006**, *18* (3), 167–176. <https://doi.org/10.1080/10610270500484738>.

- (23) Calix[4]arene α -Aminophosphonic Acids: Asymmetric Synthesis and Enantioselective Inhibition of an Alkaline Phosphatase | Organic Letters <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ol052469a> (accessed 2021 -07 -12).
- (24) Atamas, L.; Klimchuk, O.; Rudzevich, V.; Pirozhenko, V.; Kalchenko, V.; Smirnov, I.; Babain, V.; Efremova, T.; Varnek, A.; Wipff, G.; Arnaud-Neu, F.; Roch, M.; Saadioui, M.; Böhmer, V. New Organophosphorus Calix[4]Arene Ionophores for Trivalent Lanthanide and Actinide Cations. *J. Supramol. Chem.* **2002**, 2 (4), 421–427. [https://doi.org/10.1016/S1472-7862\(03\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1472-7862(03)00052-2).
- (25) Kalchenko, V. I. Calixarene receptors of environmentally hazardous and biorelevant molecules and ions. *Pure Appl. Chem.* **2008**, 80 (7), 1449–1458. <https://doi.org/10.1351/pac200880071449>.
- (26) Kim, H. J.; Kim, J. S. BODIPY Appended Cone-Calix[4]Arene: Selective Fluorescence Changes upon Ca²⁺ Binding. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47 (39), 7051–7055. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.07.088>.
- (27) Huang, J.; Fang, Y.; Dehaen, W. Macrocyclic Arenes Functionalized with BODIPY: Rising Stars among Chemosensors and Smart Materials. *Chemosensors* **2020**, 8 (3), 51. <https://doi.org/10.3390/chemosensors8030051>.
- (28) Kong, L.; Wong, H.-L.; Tam, A. Y.-Y.; Lam, W. H.; Wu, L.; Yam, V. W.-W. Synthesis, Characterization, and Photophysical Properties of Bodipy-Spirooxazine and -Spiropyran Conjugates: Modulation of Fluorescence Resonance Energy Transfer Behavior via Acidochromic and Photochromic Switching. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6 (3), 1550–1562. <https://doi.org/10.1021/am404242a>.
- (29) Gómez-Machuca, H.; Quiroga-Campano, C.; Jullian, C.; De la Fuente, J.; Pessoa-Mahana, H.; Escobar, C. A.; Dobado, J. A.; Saitz, C. Study by Fluorescence of Calix[4]Arenes Bearing Heterocycles with Anions: Highly Selective Detection of Iodide. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2014**, 80 (3), 369–375. <https://doi.org/10.1007/s10847-014-0418-2>.
- (30) Chung, Y. M.; Raman, B.; Kim, D.-S.; Ahn, K. H. Fluorescence Modulation in Anion Sensing by Introducing Intramolecular H-Bonding Interactions in Host–Guest Adducts. *Chem. Commun.* **2006**, No. 2, 186–188. <https://doi.org/10.1039/B510795D>.
- (31) Ghale, G.; Lanctôt, A. G.; Kreissl, H. T.; Jacob, M. H.; Weingart, H.; Winterhalter, M.; Nau, W. M. Chemosensing Ensembles for Monitoring Biomembrane Transport in Real Time. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (10), 2762–2765. <https://doi.org/10.1002/anie.201309583>.

- (32) McCarroll, M. E.; Shi, Y.; Harris, S.; Puli, S.; Kimaru, I.; Xu, R.; Wang, L.; Dyer, D. J. Computational Prediction and Experimental Evaluation of a Photoinduced Electron-Transfer Sensor. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (46), 22991–22994. <https://doi.org/10.1021/jp065876s>.
- (33) Afaneh, A. T.; Schreckenbach, G. Fluorescence Enhancement/Quenching Based on Metal Orbital Control: Computational Studies of a 6-Thienyllumazine-Based Mercury Sensor. *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119* (29), 8106–8116. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5b04691>.
- (34) Rodríguez-Lavado, J.; Lorente, A.; Flores, E.; Ochoa, A.; Godoy, F.; Jaque, P.; Saitz, C. Elucidating Sensing Mechanisms of a Pyrene Excimer-Based Calix[4]Arene for Ratiometric Detection of Hg(II) and Ag(I) and Chemosensor Behaviour as INHIBITION or IMPLICATION Logic Gates. *RSC Adv.* **2020**, *10* (37), 21963–21973. <https://doi.org/10.1039/D0RA04092D>.
- (35) Mako, T. L.; Racicot, J. M.; Levine, M. Supramolecular Luminescent Sensors. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (1), 322–477. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00260>.
- (36) Kolemen, S.; Akkaya, E. U. Reaction-Based BODIPY Probes for Selective Bio-Imaging. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *354*, 121–134. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.06.021>.
- (37) Loudet, A.; Burgess, K. BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **2007**, *107* (11), 4891–4932. <https://doi.org/10.1021/cr078381n>.
- (38) Leen, V.; Leemans, T.; Boens, N.; Dehaen, W. 2- and 3-Monohalogenated BODIPY Dyes and Their Functionalized Analogues: Synthesis and Spectroscopy. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (23), 4386–4396. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201100324>.
- (39) Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W. Fluorescent Indicators Based on BODIPY. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (3), 1130–1172. <https://doi.org/10.1039/C1CS15132K>.
- (40) Abarca, B.; Ballesteros-Garrido, R. 1,2,3-Triazoles Fused to Aromatic Rings. In *Chemistry of 1,2,3-triazoles*; Dehaen, W., Bakulev, V. A., Eds.; Topics in Heterocyclic Chemistry; Springer International Publishing: Cham, 2015; pp 325–378. https://doi.org/10.1007/7081_2014_121.
- (41) Abarca, B.; Alkorta, I.; Ballesteros, R.; Blanco, F.; Chadlaoui, M.; Elguero, J.; Mojarrad, F. 3-(2-Pyridyl)-[1,2,3]Triazolo[1,5-a]Pyridines. An Experimental and

Theoretical (DFT) Study of the Ring–Chain Isomerization. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3* (21), 3905–3910. <https://doi.org/10.1039/B510535H>.

- (42) Lynch, B. M.; Khan, M. A.; Teo, H. C.; Pedrotti, F. Pyrazolo[3,4-b]Pyridines: Syntheses, Reactions, and Nuclear Magnetic Resonance Spectra. *Can. J. Chem.* **1988**, *66* (3), 420–428. <https://doi.org/10.1139/v88-074>.
- (43) Quiroga, J.; Alvarado, M.; Insuasty, B.; Moreno, R.; Raviña, E.; Estevez, I.; S, R. H. D. A. Synthesis of 5-Cyanopyrazolo[3,4-b]Pyridines in the Reaction of 5-Amino-3-Methyl-1-Phenylpyrazole with Arylidene Derivatives of Malonodinitrile and Ethyl Cyanoacetate. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, *36* (5), 1311–1316. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570360533>.
- (44) Chiassai, L.; Ballesteros-Garrido, R.; Clares, M. P.; García-España, E.; Ballesteros, R.; Abarca, B. Combining Amines and 3-(2-Pyridyl)-[1,2,3]Triazolo[1,5-a]Pyridine: An Easy Access to New Functional Polynitrogenated Ligands. *Synthesis* **2019**, *51* (21), 4034–4042. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1611901>.
- (45) Quiroga-Campano, C.; Gómez-Machuca, H.; Moris, S.; Pessoa-Mahana, H.; Jullian, C.; Saitz, C. Synthesis of Calix[4]Arenes Bearing Thiosemicarbazone Moieties with Naphthalene Groups: Highly Selective Turn off/on Fluorescent Sensor for Cu(II) Recognition. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1225*, 129125. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129125>.
- (46) Acosta, P.; Insuasty, B.; Abonia, R.; Quiroga, J. Annulation of Pyrrolo[1,2-a]Pyrimidine and Pyrido[1,2-a]Pyrimidine Systems to a Pyrazolopyridine Framework by a Cascade of Two Cyclization Reactions. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56* (22), 2917–2921. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.04.068>.
- (47) Huang, C. Y. [27] Determination of Binding Stoichiometry by the Continuous Variation Method: The Job Plot. In *Methods in Enzymology*; Purich, D. L., Ed.; Enzyme Kinetics and Mechanism - Part C: Intermediates, Stereochemistry, and Rate Studies; Academic Press, 1982; Vol. 87, pp 509–525. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(82\)87029-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(82)87029-8).
- (48) A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons | Journal of the American Chemical Society <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja01176a030> (accessed 2021 -07 -08).
- (49) Wang, R.; Yu, Z. Validity and Reliability of Benesi-Hildebrand Method. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2007**, *23* (9), 1353–1359. [https://doi.org/10.1016/S1872-1508\(07\)60071-0](https://doi.org/10.1016/S1872-1508(07)60071-0).

- (50) Gesztelyi, R.; Zsuga, J.; Kemeny-Beke, A.; Varga, B.; Juhasz, B.; Tosaki, A. The Hill Equation and the Origin of Quantitative Pharmacology. *Arch. Hist. Exact Sci.* **2012**, *66* (4), 427–438. <https://doi.org/10.1007/s00407-012-0098-5>.
- (51) Weiss, J. N. The Hill Equation Revisited: Uses and Misuses. *FASEB J.* **1997**, *11* (11), 835–841. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.11.9285481>.
- (52) Maity, A.; Sarkar, A.; Sil, A.; N, S. B. B.; Patra, S. K. Synthesis, Photophysical and Concentration-Dependent Tunable Lasing Behavior of 2,6-Diacetylenyl-Functionalized BODIPY Dyes. *New J. Chem.* **2017**, *41* (6), 2296–2308. <https://doi.org/10.1039/C6NJ03033E>.
- (53) Meng, G.; Zheng, M.-L.; Wang, M. An Improved Two-Step Preparation of 2,4-Dimethylpyrrole. *Org. Prep. Proced. Int.* **2011**, *43* (3), 308–311. <https://doi.org/10.1080/00304948.2011.582005>.
- (54) Cui, A.; Peng, X.; Fan, J.; Chen, X.; Wu, Y.; Guo, B. Synthesis, Spectral Properties and Photostability of Novel Boron–Dipyrrromethene Dyes. *J. Photochem. Photobiol. Chem.* **2007**, *186* (1), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2006.07.015>.
- (55) Vázquez-Romero, A.; Kielland, N.; Arévalo, M. J.; Preciado, S.; Mellanby, R. J.; Feng, Y.; Lavilla, R.; Vendrell, M. Multicomponent Reactions for de Novo Synthesis of BODIPY Probes: In Vivo Imaging of Phagocytic Macrophages. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (43), 16018–16021. <https://doi.org/10.1021/ja408093p>.
- (56) Stark, D. G.; Williamson, P.; Gayner, E. R.; Musolino, S. F.; Kerr, R. W. F.; Taylor, J. E.; Slawin, A. M. Z.; O’Riordan, T. J. C.; Macgregor, S. A.; Smith, A. D. Isothiourea-Catalysed Enantioselective Pyrrolizine Synthesis: Synthetic and Computational Studies. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (38), 8957–8965. <https://doi.org/10.1039/C6OB01557C>.
- (57) Greene, L. E.; Godin, R.; Cosa, G. Fluorogenic Ubiquinone Analogue for Monitoring Chemical and Biological Redox Processes. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (35), 11327–11334. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b06899>.
- (58) Gupta, M.; Mula, S.; Tyagi, M.; Ghanty, T. K.; Murudkar, S.; Ray, A. K.; Chattopadhyay, S. Rational Design of Boradiazaindacene (BODIPY)-Based Functional Molecules. *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19* (52), 17766–17772. <https://doi.org/10.1002/chem.201302359>.
- (59) Joshi, D. J.; Jun, M.; Yang, L.; Lough, A. J.; Yan, H. Further Investigation on the Nitration of BODIPY with Cupric Nitrate: Crystal Structures of 4,4-Di-fluoro-

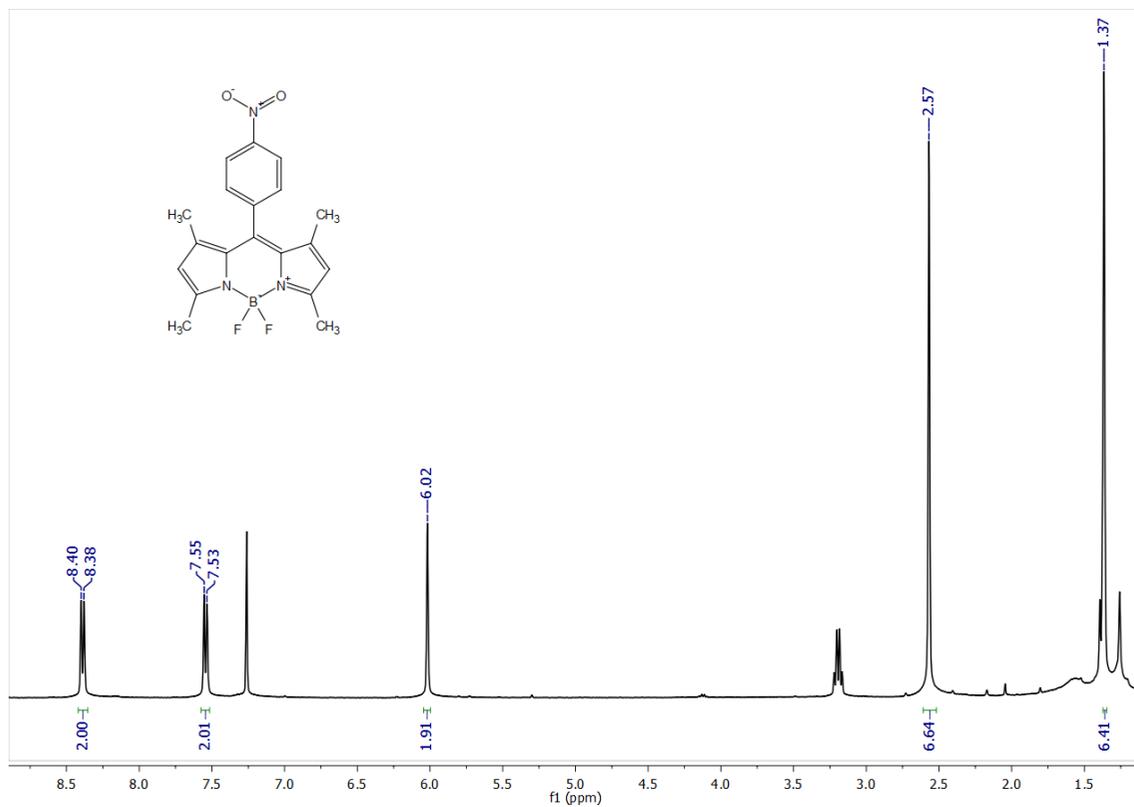
- 1,3,5,7,8-Penta-methyl-2-Nitro-4-Bora-3a,4a-Di-aza-s-Indacene, 4,4-Di-fluoro-3-Nitro-8-Phenyl-4-Bora-3a,4a-Di-aza-s-Indacene, and 3-Chloro-6-Ethyl-5,7,8-Trimethyl-2-Nitro-4,4-Diphenyl-4-Bora-3a,4a-Di-aza-s-Indacene. *Acta Crystallogr. Sect. E Crystallogr. Commun.* **2018**, *74* (2), 103–108. <https://doi.org/10.1107/S2056989017018564>.
- (60) Alekseeva, E. A.; Basok, S. S.; Rakipov, I. M.; Mazepa, A. V.; Gren', A. I. Specific Features of the Reduction of Disubstituted Amide Derivatives of P-Tert-Butylcalix[4]Arene. *Russ. J. Org. Chem.* **2013**, *49* (7), 1035–1041. <https://doi.org/10.1134/S1070428013070130>.
- (61) Large-Scale Applications of Amide Coupling Reagents for the Synthesis of Pharmaceuticals | Organic Process Research & Development <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/op500305s> (accessed 2021 -07 -09).
- (62) Iwamoto, K.; Araki, K.; Shinkai, S. Syntheses of All Possible Conformational Isomers of O-Alkyl-p-t-Butylcalix[4]Arenes. *Tetrahedron* **1991**, *47* (25), 4325–4342. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87102-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87102-7).
- (63) Synthesis and crystal structure of p -acylated calix[4]arene ethers | SpringerLink <https://link.springer.com/article/10.1007/s10847-012-0273-y> (accessed 2021 -07 -09).
- (64) Click Mechanochemistry: Quantitative Synthesis of “Ready to Use” Chiral Organocatalysts by Efficient Two-Fold Thiourea Coupling to Vicinal Diamines - Štrukil - 2012 - Chemistry – A European Journal - Wiley Online Library <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/chem.201200632> (accessed 2021 -07 -09).
- (65) Sureshbabu, V. V.; Naik, S. A.; Hemantha, H. P.; Narendra, N.; Das, U.; Guru Row, T. N. N-Urethane-Protected Amino Alkyl Isothiocyanates: Synthesis, Isolation, Characterization, and Application to the Synthesis of Thioureidopeptides. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (15), 5260–5266. <https://doi.org/10.1021/jo900675s>.
- (66) Scheerder, J.; Vreekamp, R. H.; Engbersen, J. F. J.; Verboom, W.; van Duynhoven, J. P. M.; Reinhoudt, D. N. The Pinched Cone Conformation of Calix[4]Arenes: Noncovalent Rigidification of the Calix[4]Arene Skeleton. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (10), 3476–3481. <https://doi.org/10.1021/jo9600262>.
- (67) Chen, Y.-J.; Chen, M.-Y.; Lee, K.-T.; Shen, L.-C.; Hung, H.-C.; Niu, H.-C.; Chung, W.-S. 1,3-Alternate Calix[4]Arene Functionalized With Pyrazole and

Triazole Ligands as a Highly Selective Fluorescent Sensor for Hg²⁺ and Ag⁺ Ions. *Front. Chem.* **2020**, *8*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.593261>.

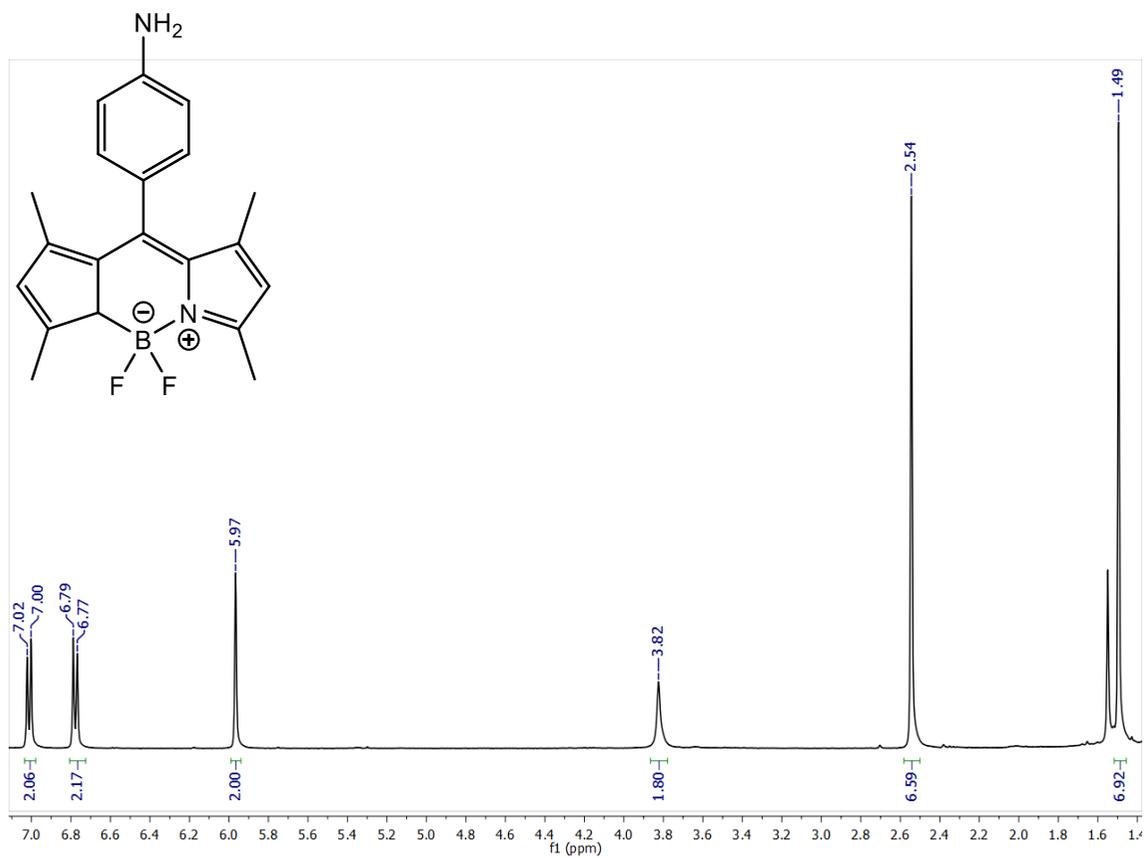
- (68) Matthews, S. E.; Cecioni, S.; O'Brien, J. E.; MacDonald, C. J.; Hughes, D. L.; Jones, G. A.; Ashworth, S. H.; Vidal, S. Fixing the Conformation of Calix[4]Arenes: When Are Three Carbons Not Enough? *Chem. – Eur. J.* **2018**, *24* (17), 4436–4444. <https://doi.org/10.1002/chem.201705955>.
- (69) Laine, M.; Barbosa, N. A.; Wiczorek, R.; Melnikov, M. Ya.; Filarowski, A. Calculations of BODIPY Dyes in the Ground and Excited States Using the M06-2X and PBE0 Functionals. *J. Mol. Model.* **2016**, *22* (11), 260. <https://doi.org/10.1007/s00894-016-3108-8>.

Anexo 1 Espectros ^1H -RMN

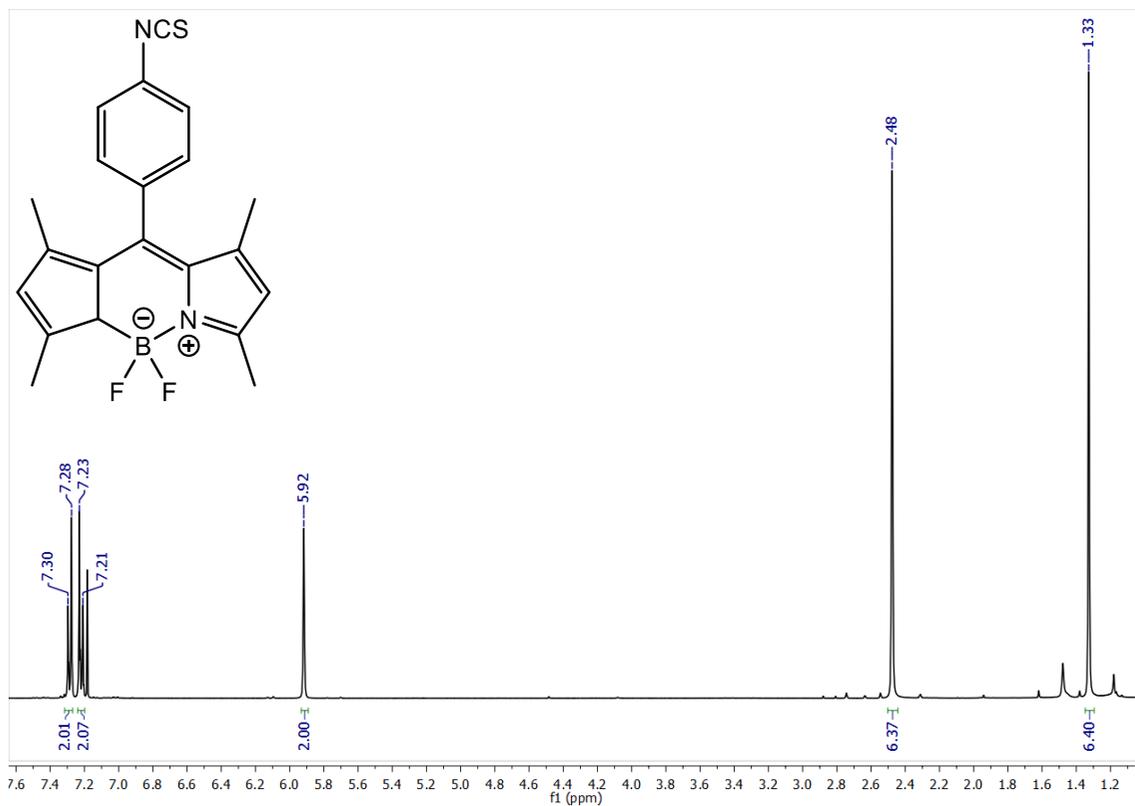
A.1.1 ^1H -RMN 4,4-difluoro-8-[4-nitrofenil]-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (3)



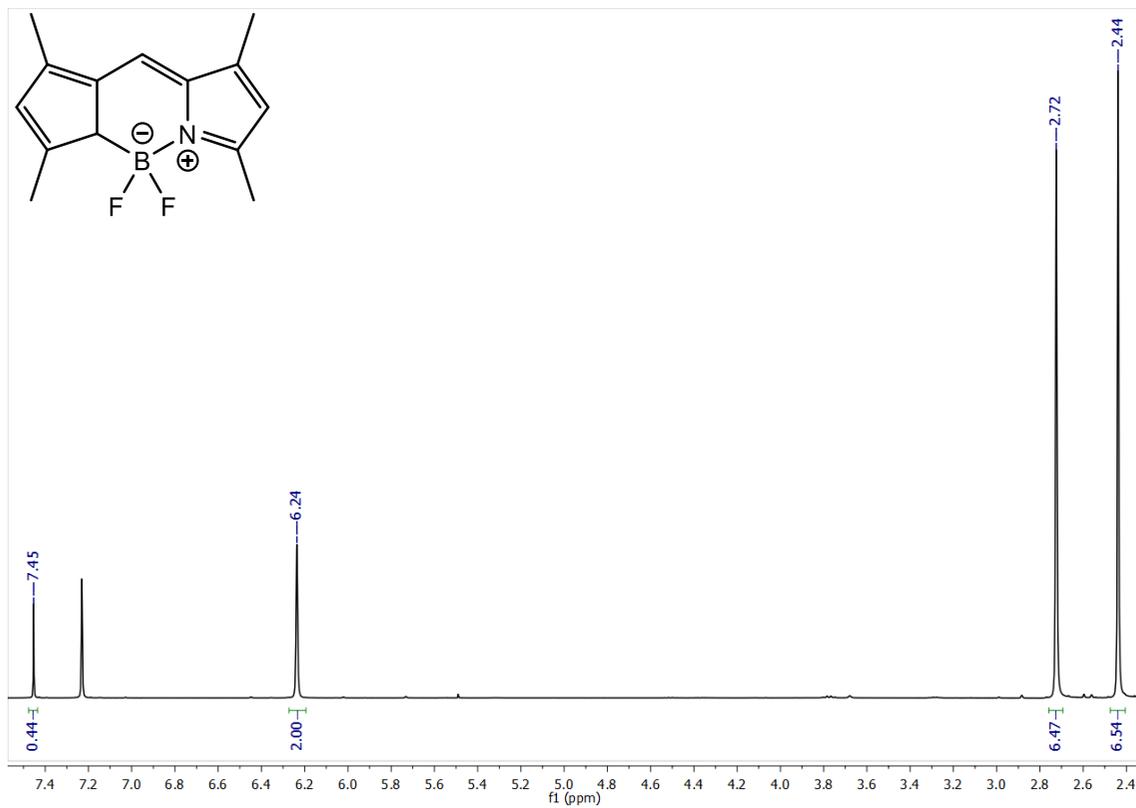
A.1.2 ¹H-RMN 4,4-difluoro-8-[4-aminofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (4)



A.1.3 ¹H-RMN 4,4-difluoro-8-[4-isotiocianatofenil]-1,3,5,7- tetrametil-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (5)

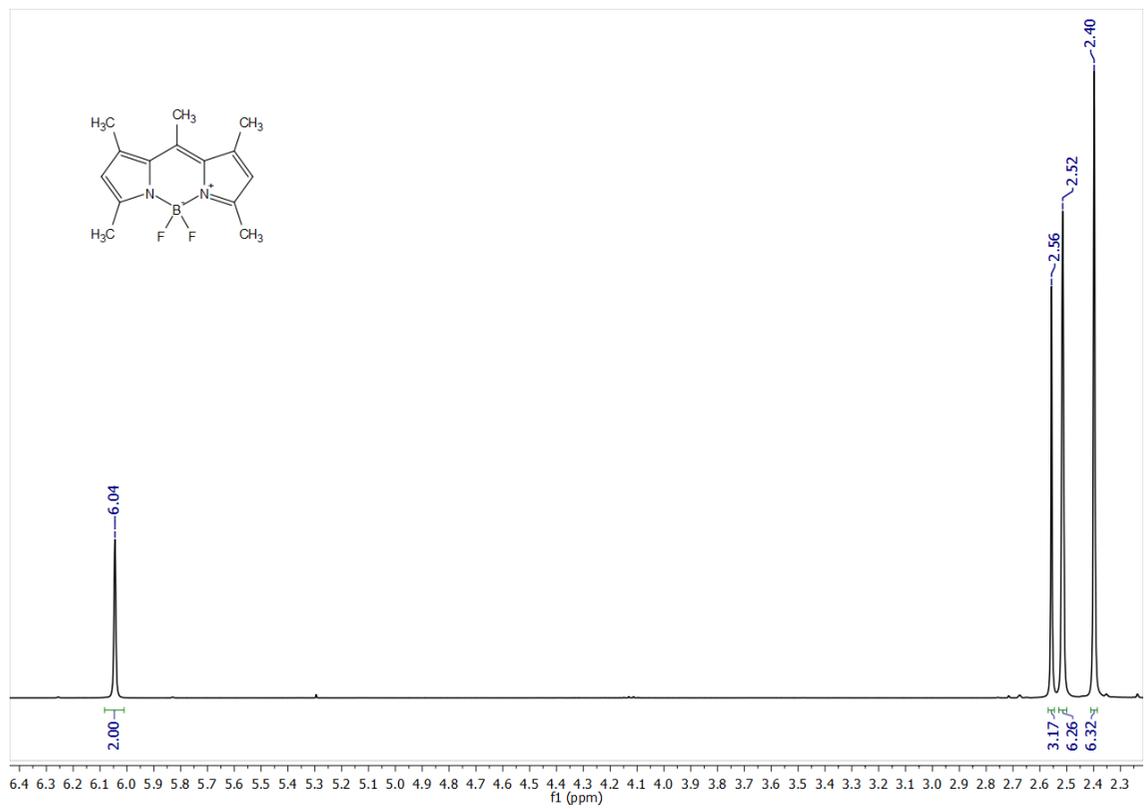


A.1.4 ¹H-RMN 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (7)

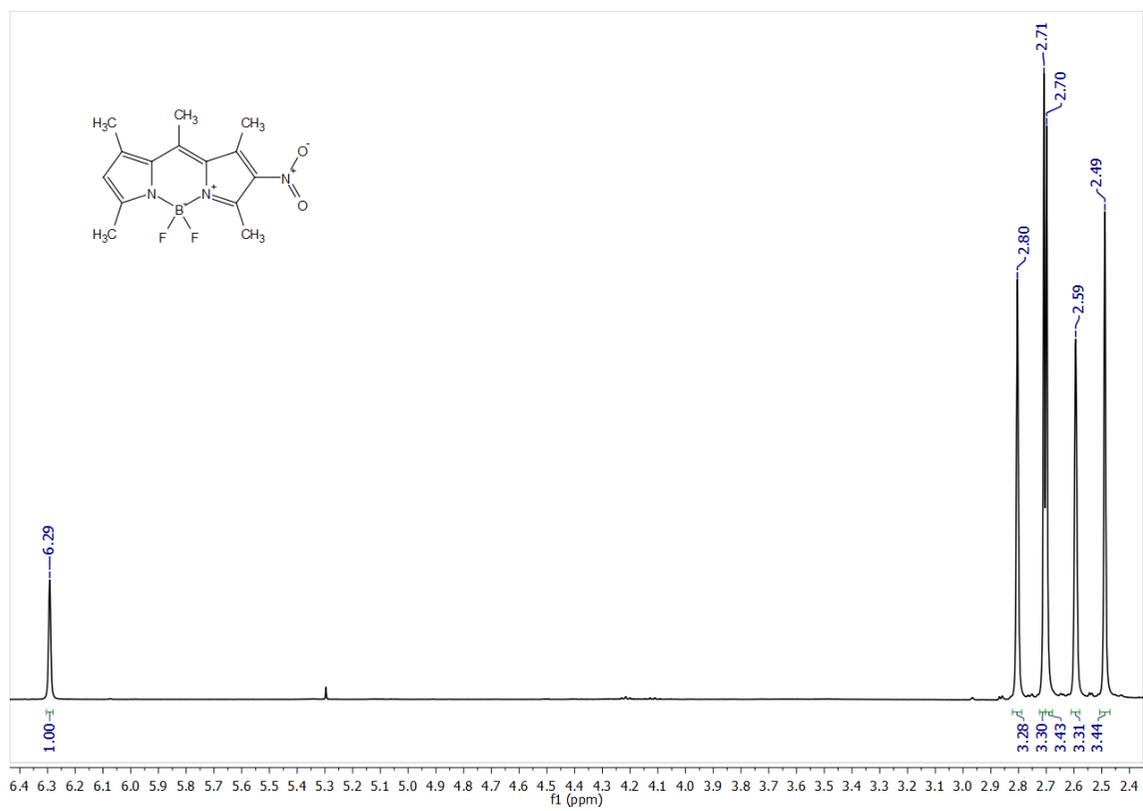


A.1.5 ¹H-RMN

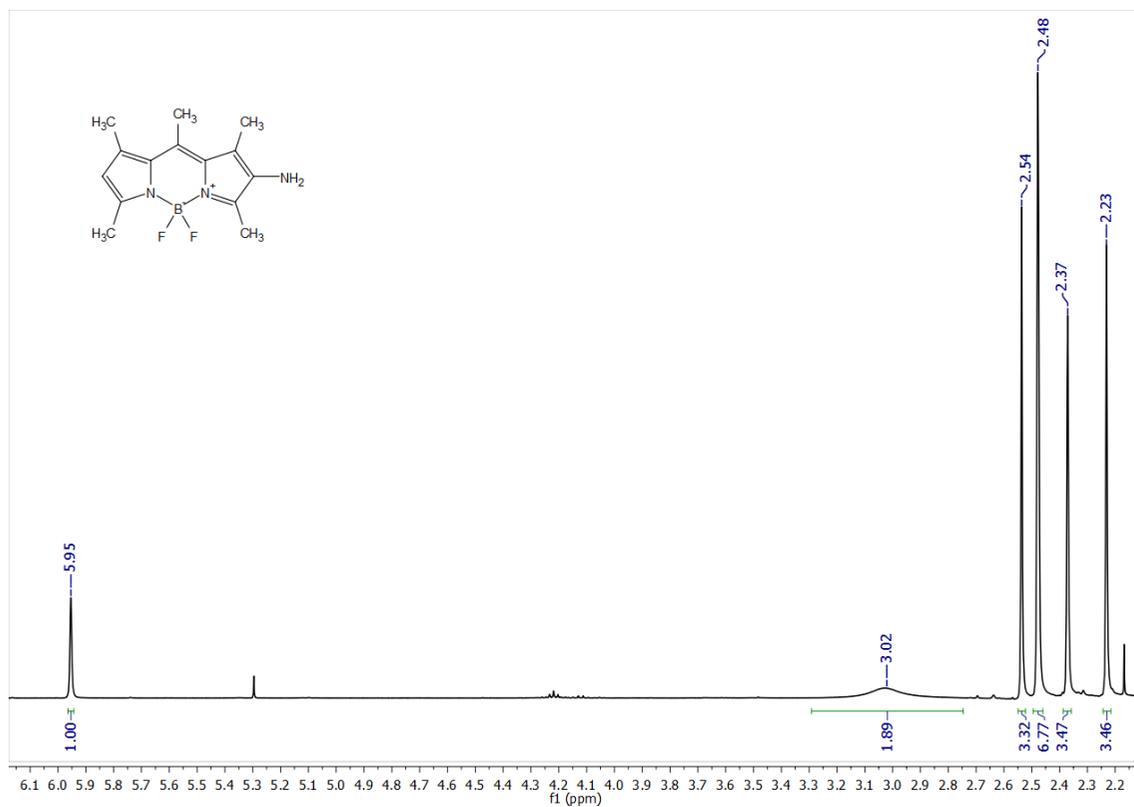
4,4-difluoro-1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (8)



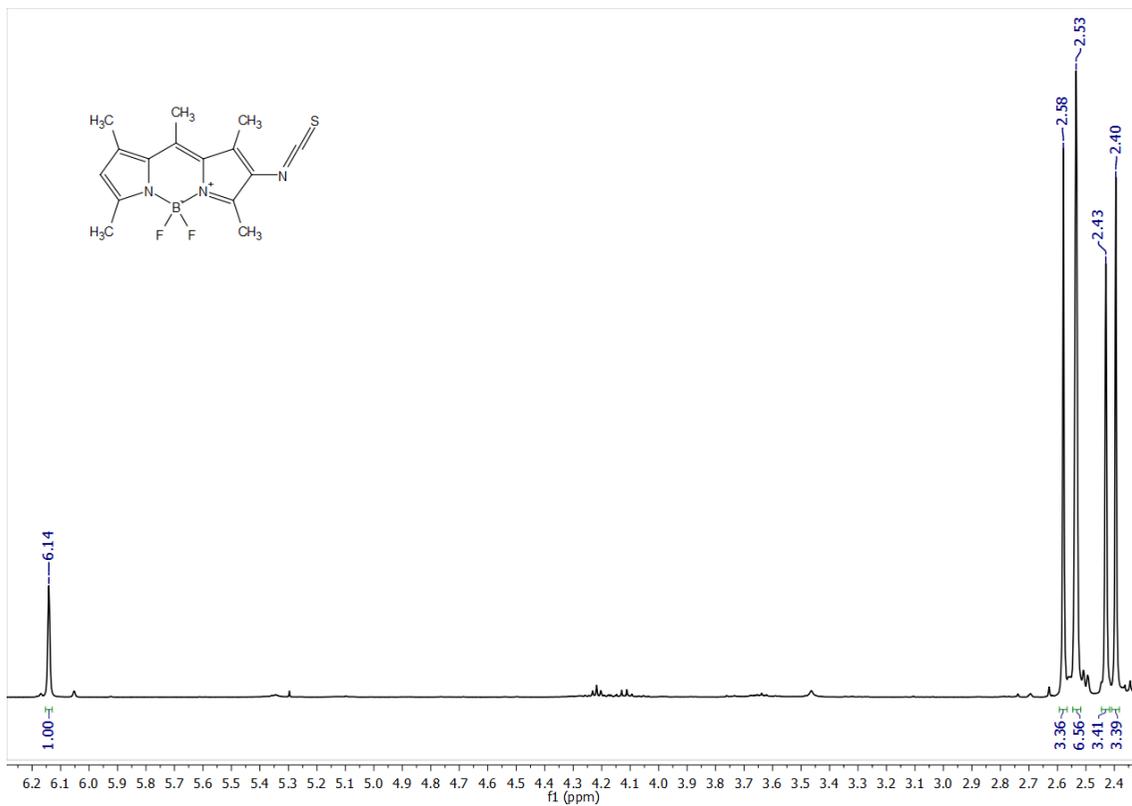
A.1.6 ¹H-RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7-pentametil-2-nitro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (9)



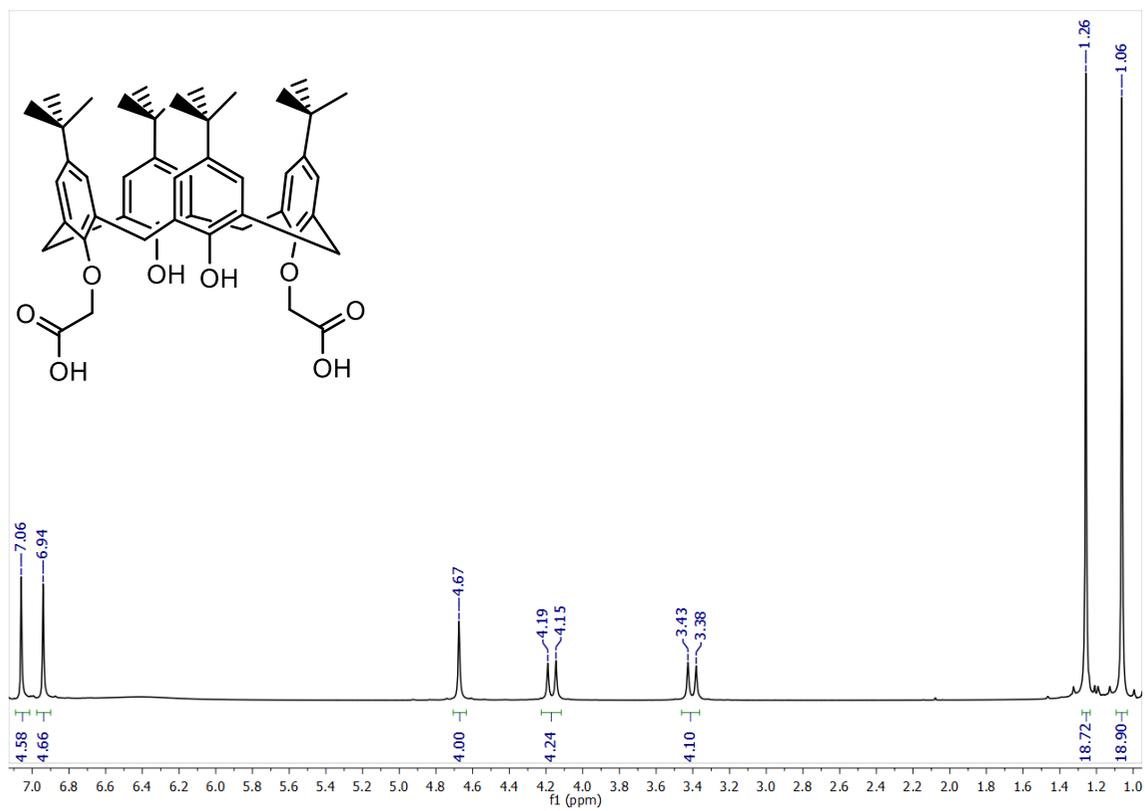
A.1.7 ^1H -RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-amino-3a,4a-diazas-indaceno (10)



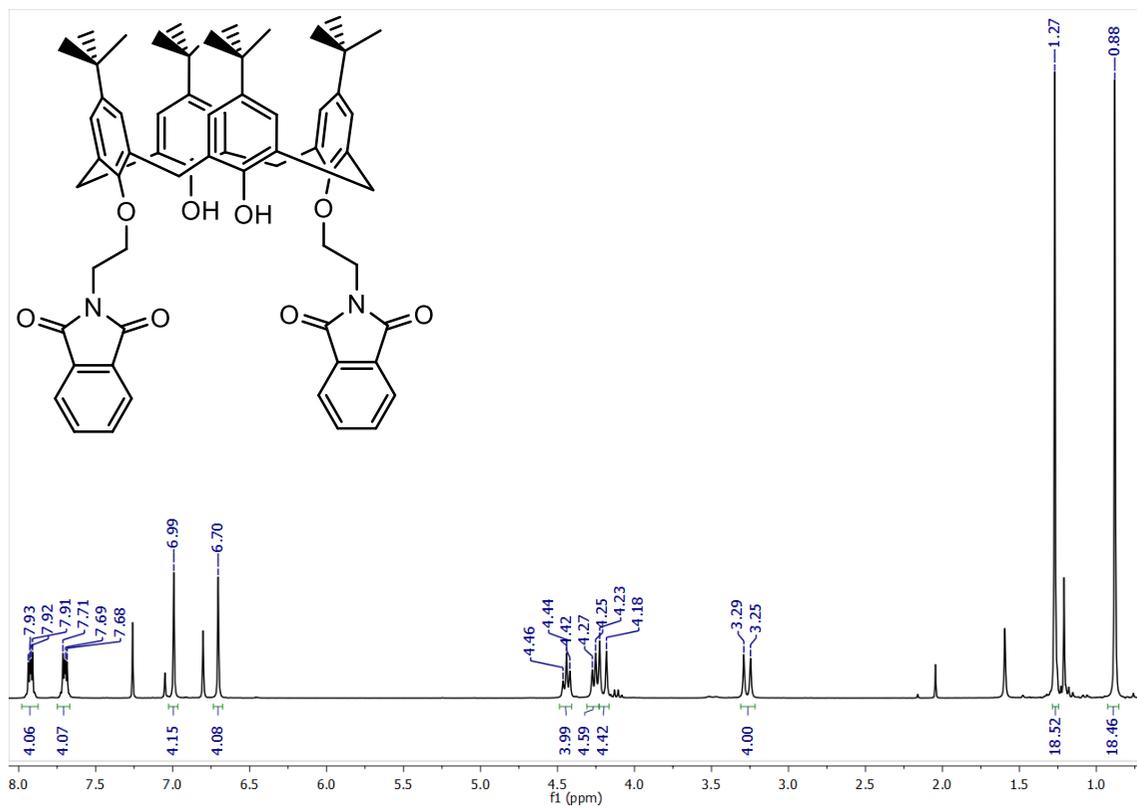
A.1.8 ^1H -RMN 4,4-difluoro,1,3,5,7,8-pentametil-4-bora-2-isotiocianto-3a,4a-diaza-s-indaceno (11)



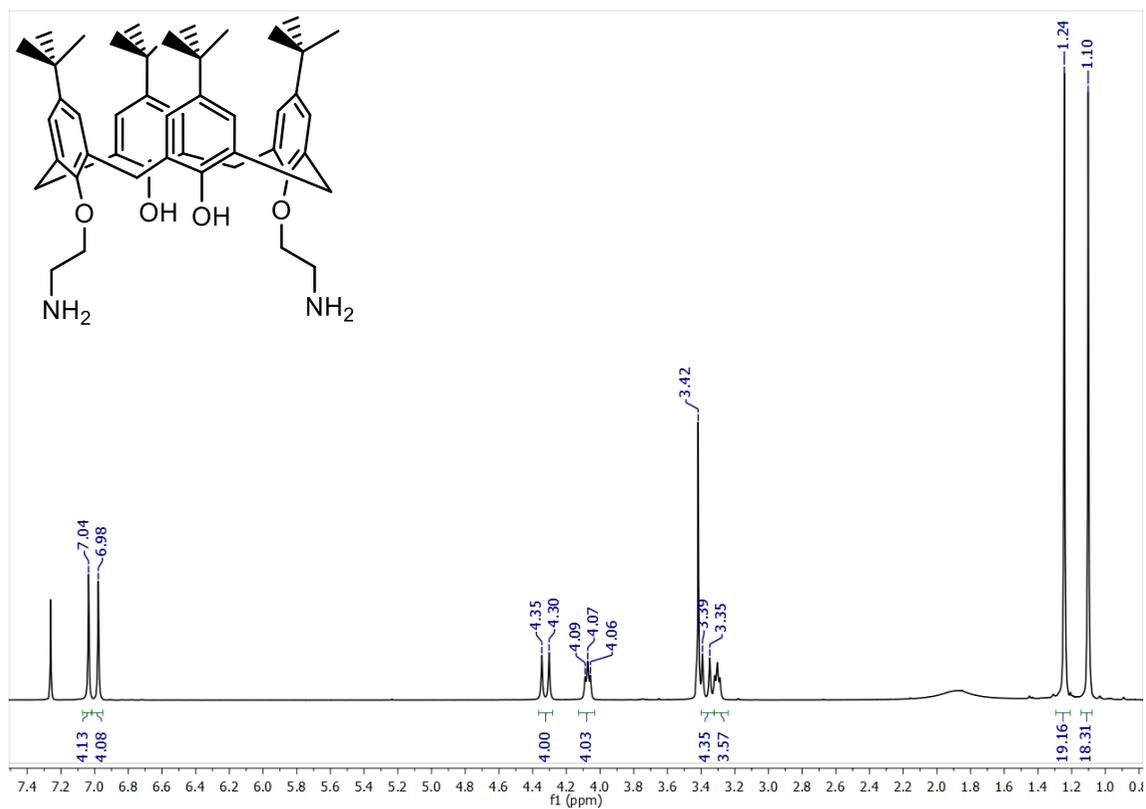
A.1.9 ¹H-RMN de Calix[4]areno di-ácido (12)



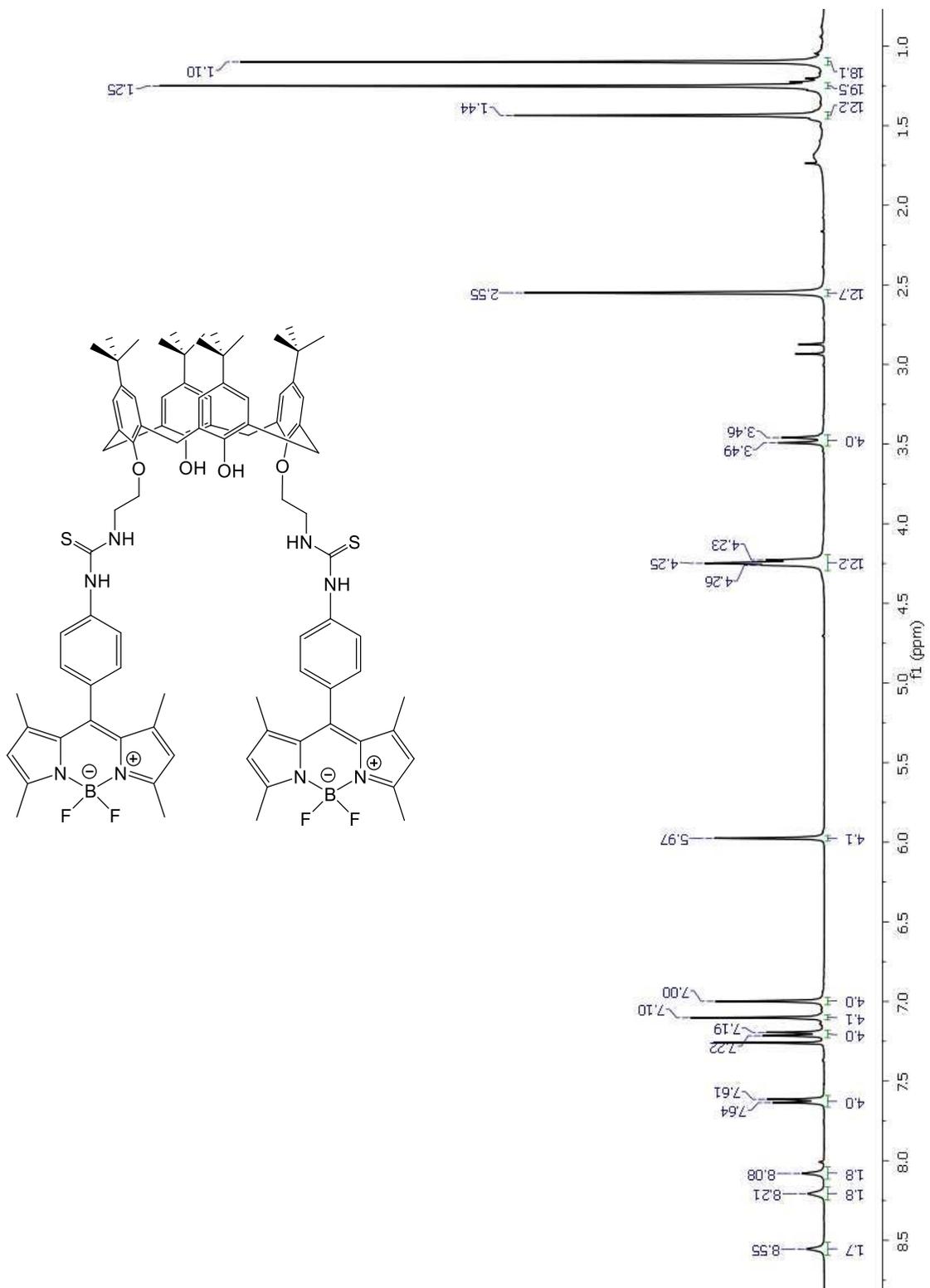
A.1.10 ¹H-RMN 5,11,17,13-tetra-*tert*-butil-25,27-bis(2-ftalamidoetroxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (13)



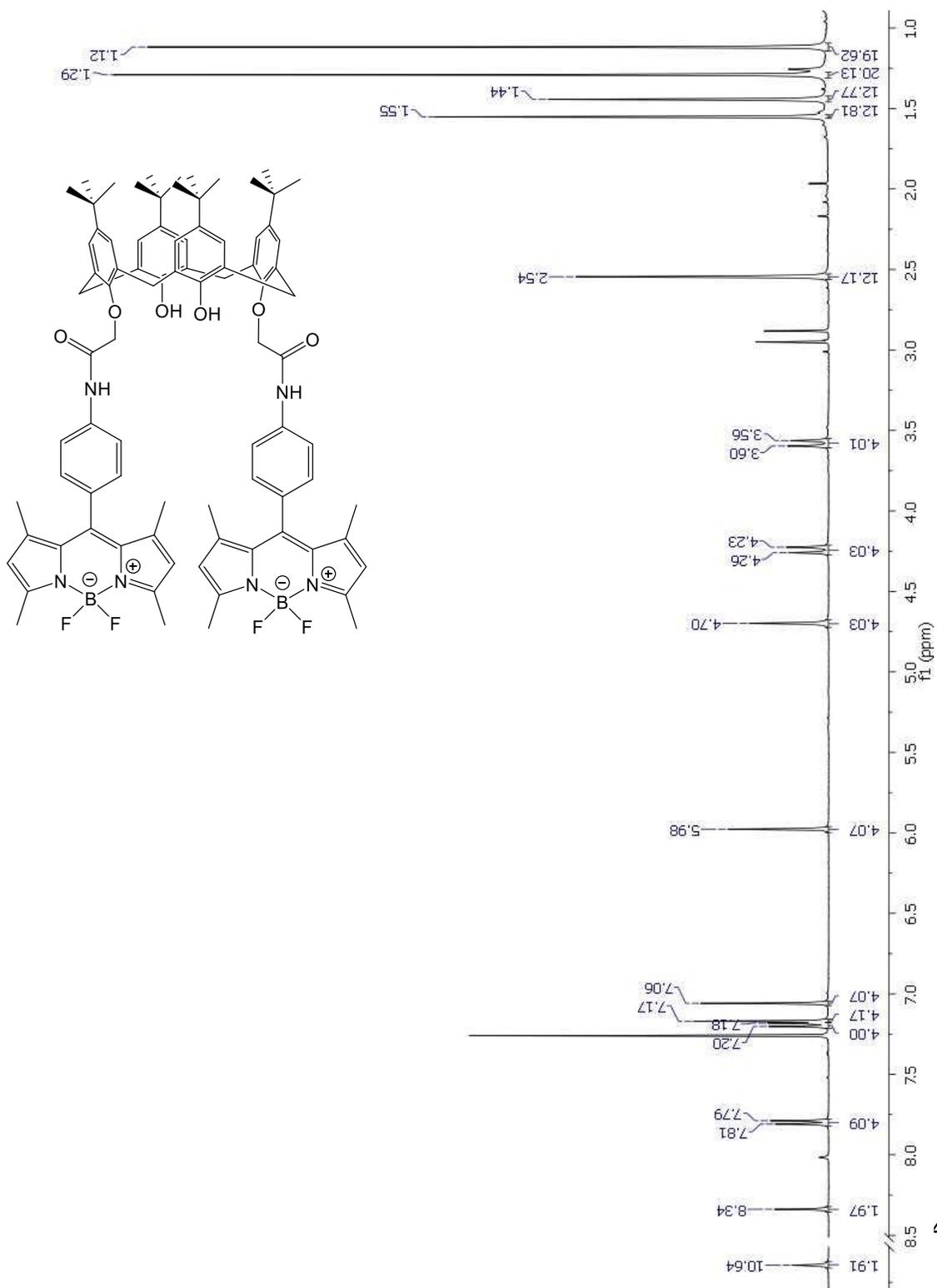
A.1.11 ¹H-RMN 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno(14)



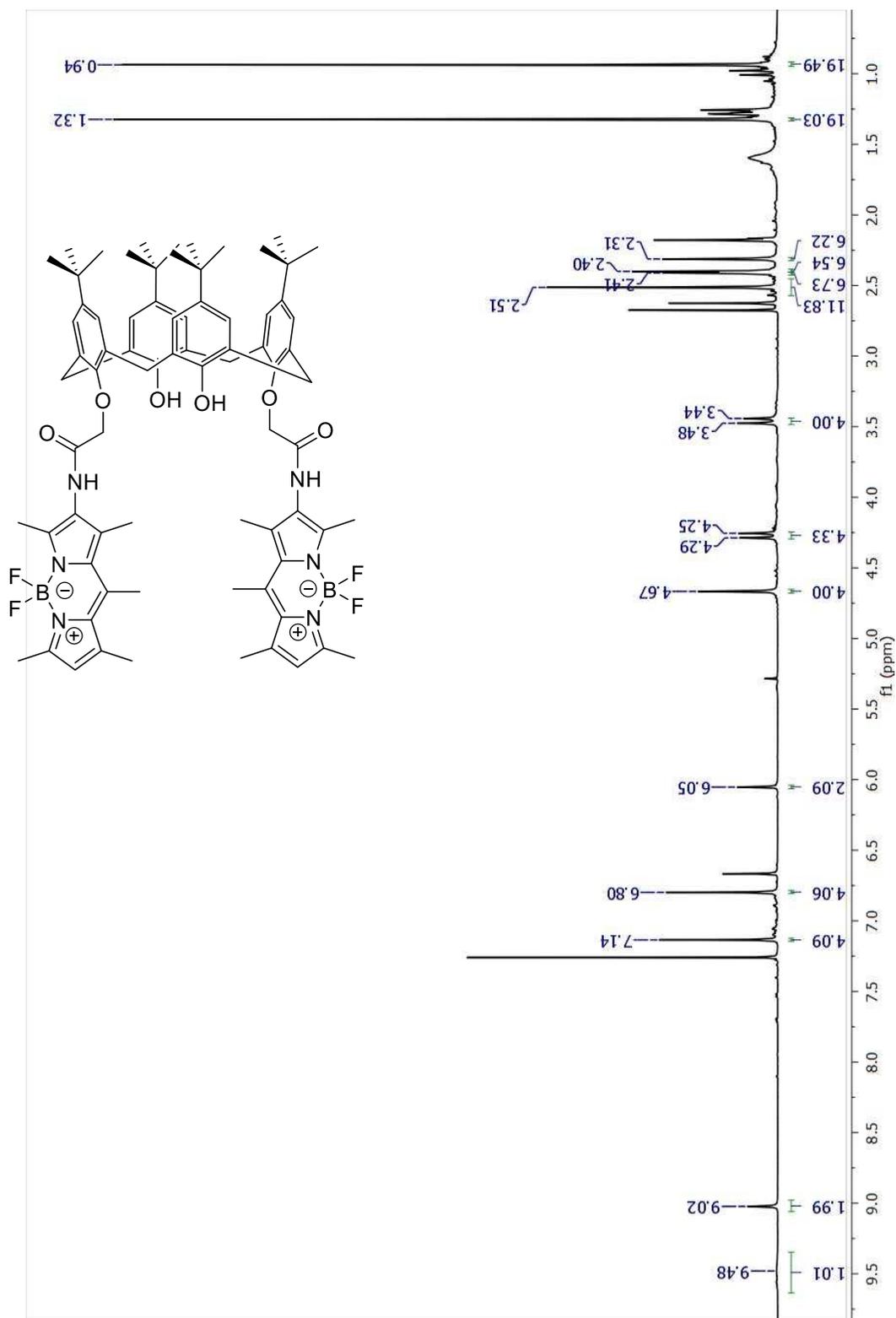
A.1.12 ¹H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Ph-BODIPY (15)



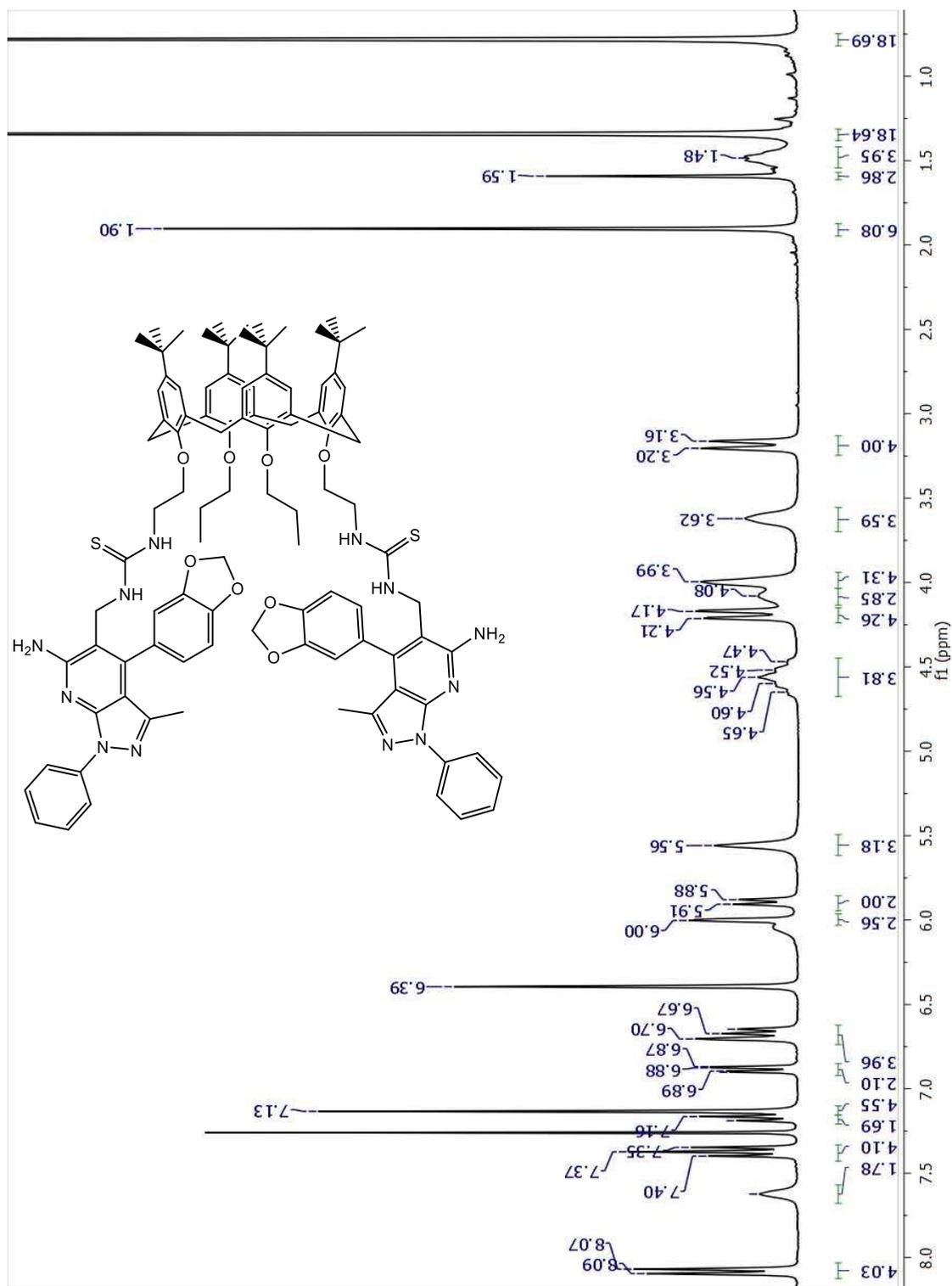
A.1.13 ¹H-RMN Calix[4]areno-amida-Ph-BODIPY (16)



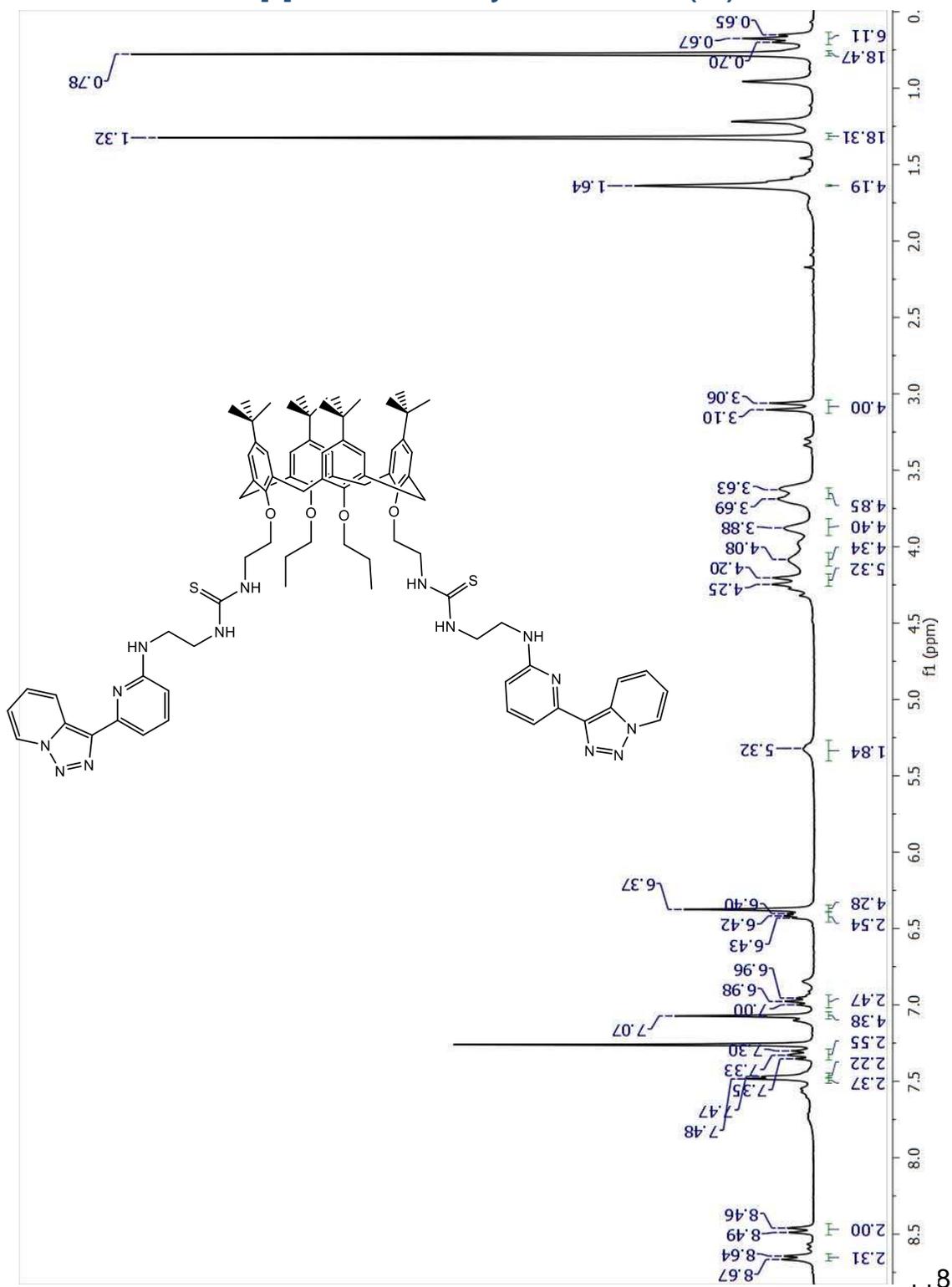
A.1.14 ¹H-RMN Calix[4]areno-amida-BODIPY (17)



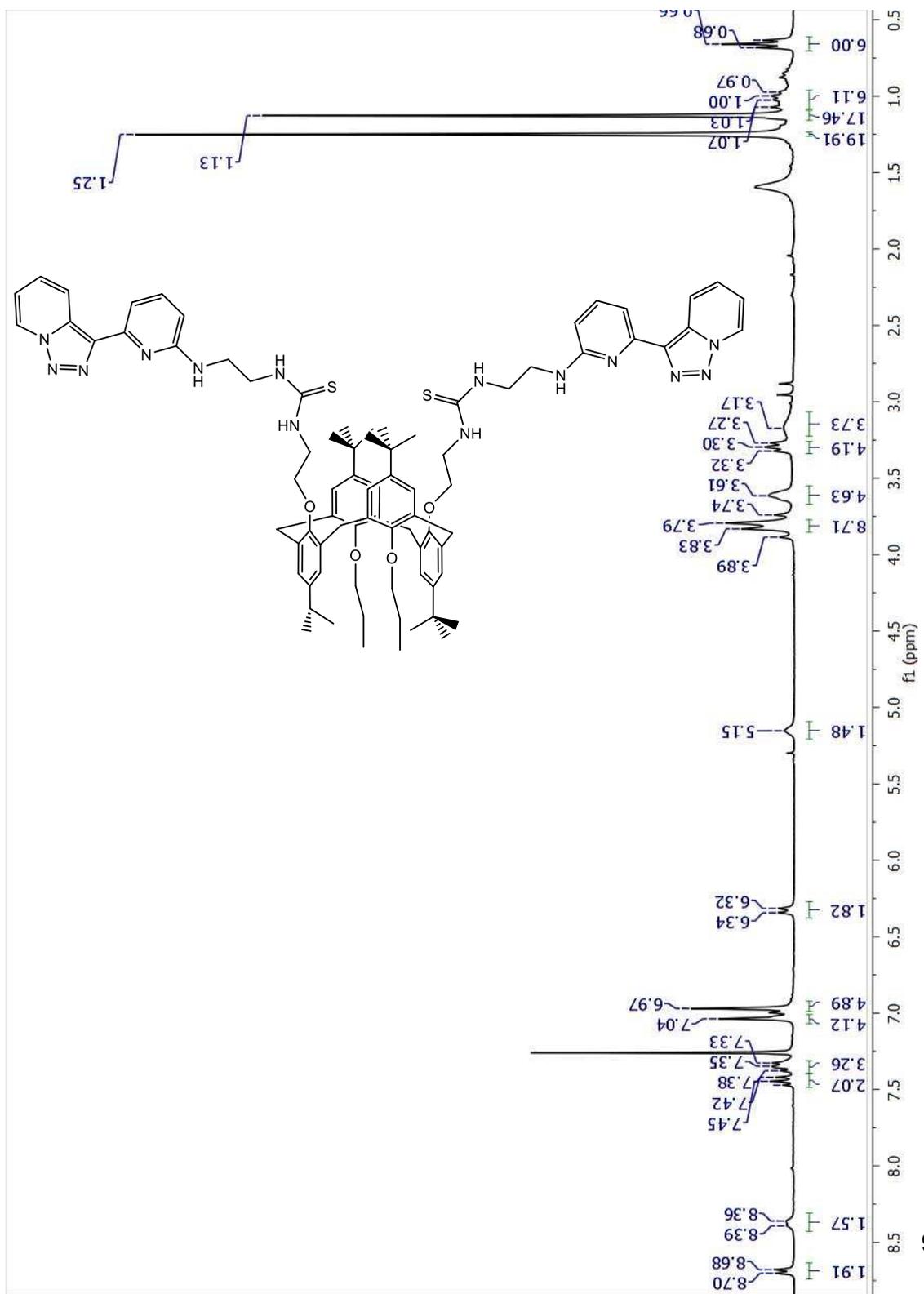
A.1.15 ¹H-RMN Calix[4]areno-tiourea-pirazolopy cono (18)



A.1.17 ¹H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo cono (20)

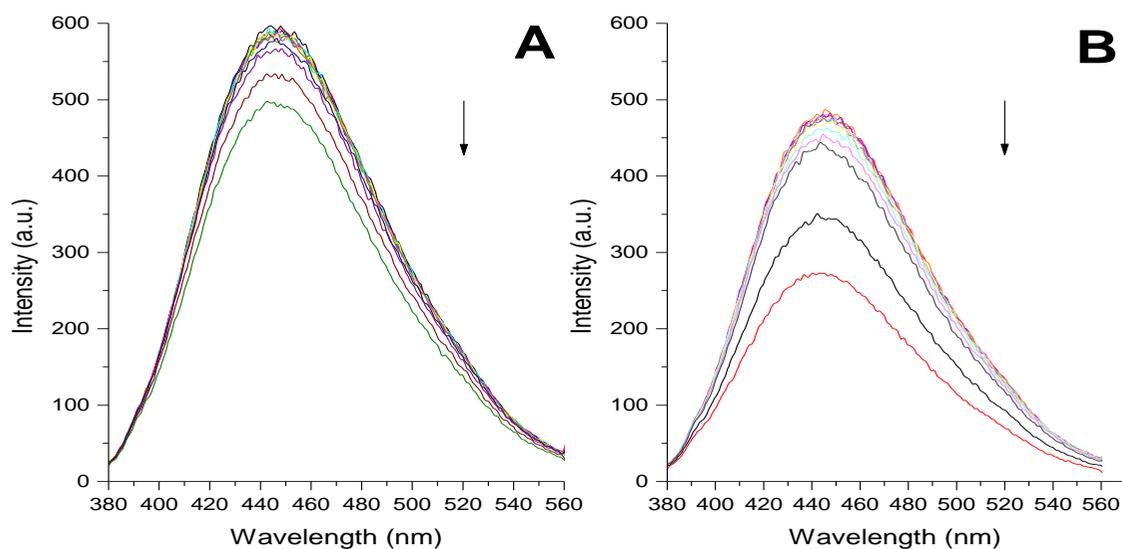


A.1.18 ¹H-RMN Calix[4]areno-tiourea-Py-triazolo 1,3-alternado (21)

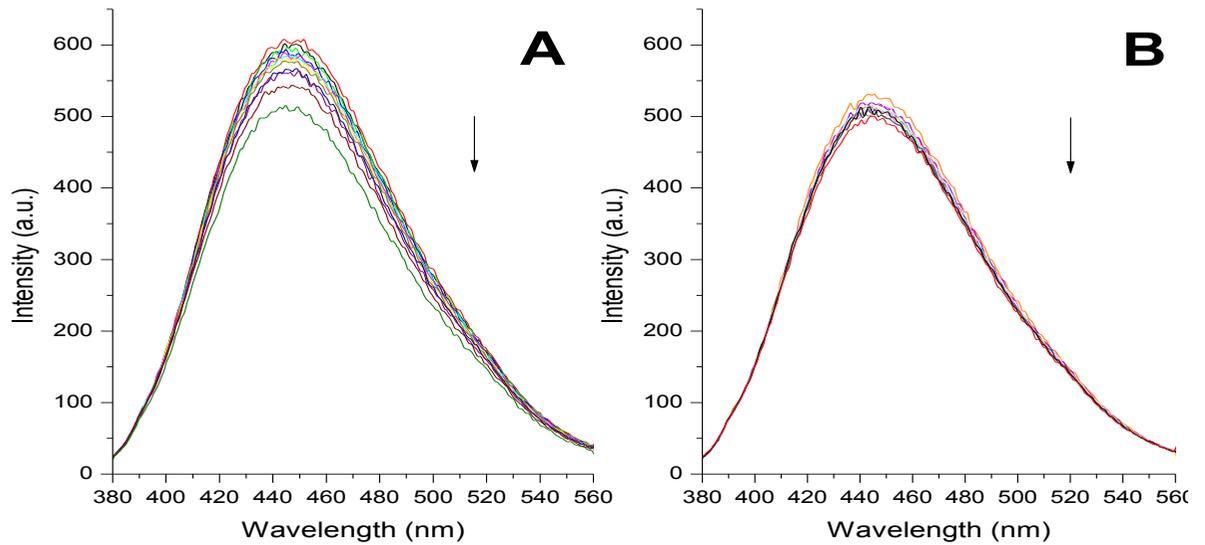


Anexo 2 Espectros de fluorescencia

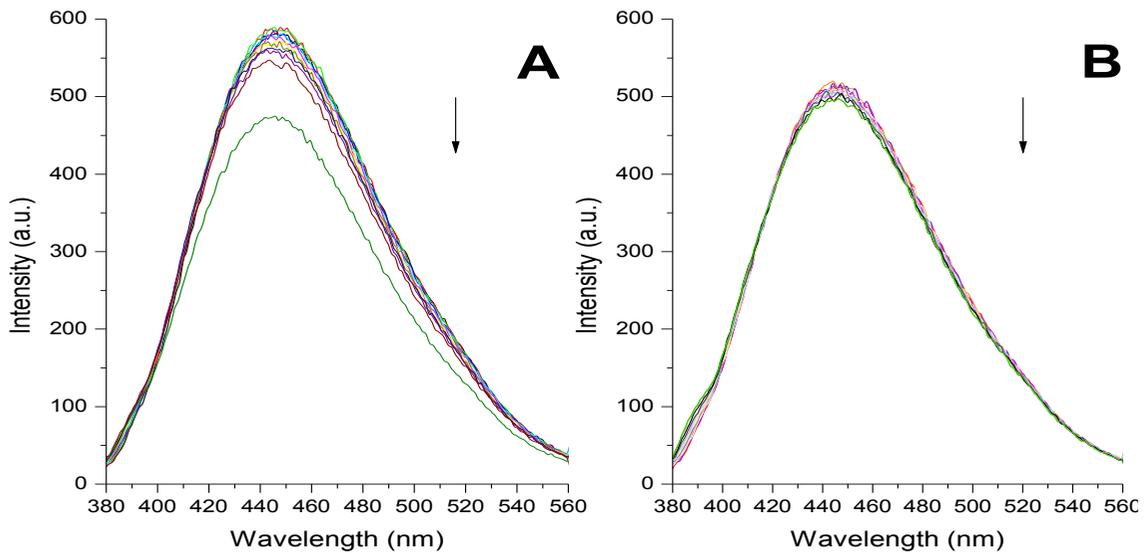
A.2.1 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Ag^+
B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Ag^+



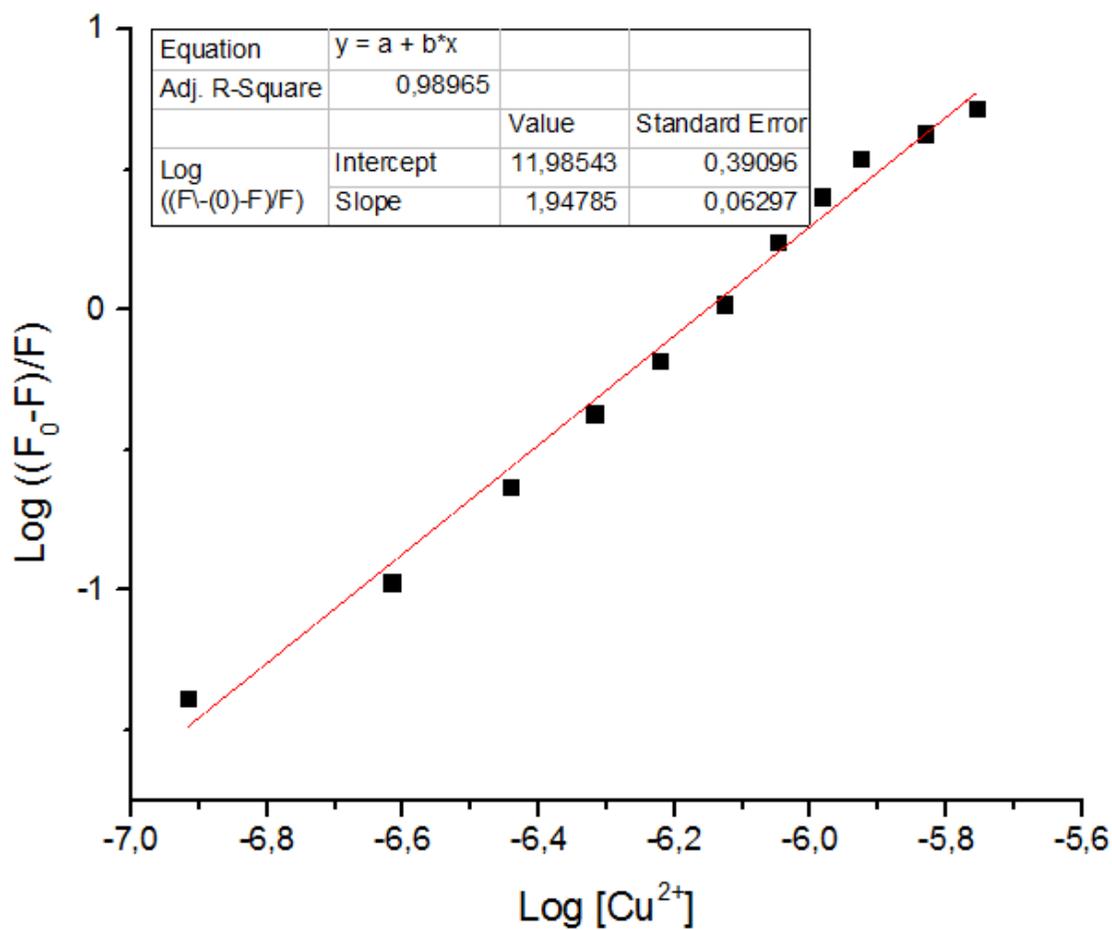
A.2.2 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Cd^{2+}
B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Cd^{2+}



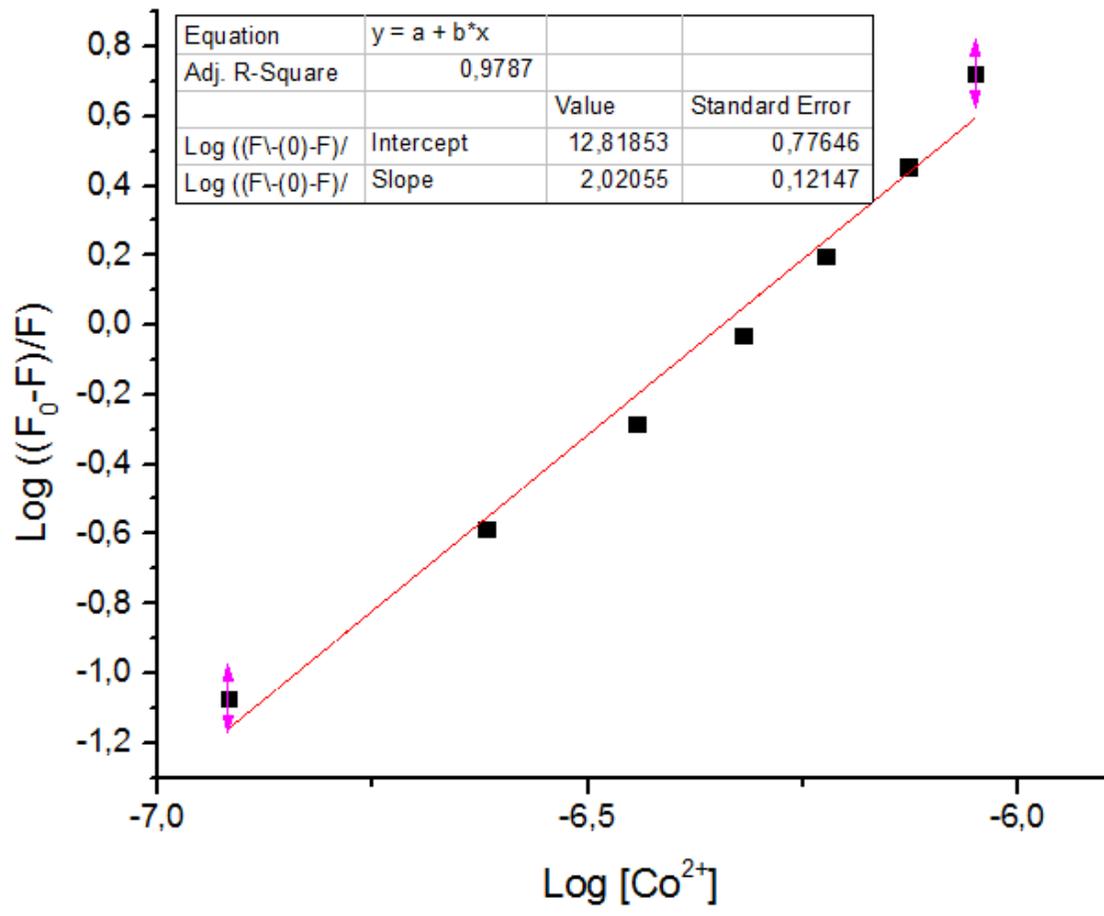
A.2.3 A) Titulación del receptor 20 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Zn^{2+}
B) Titulación del receptor 21 (0,07 μM) con 0 - 3 equivalentes de Zn^{2+}



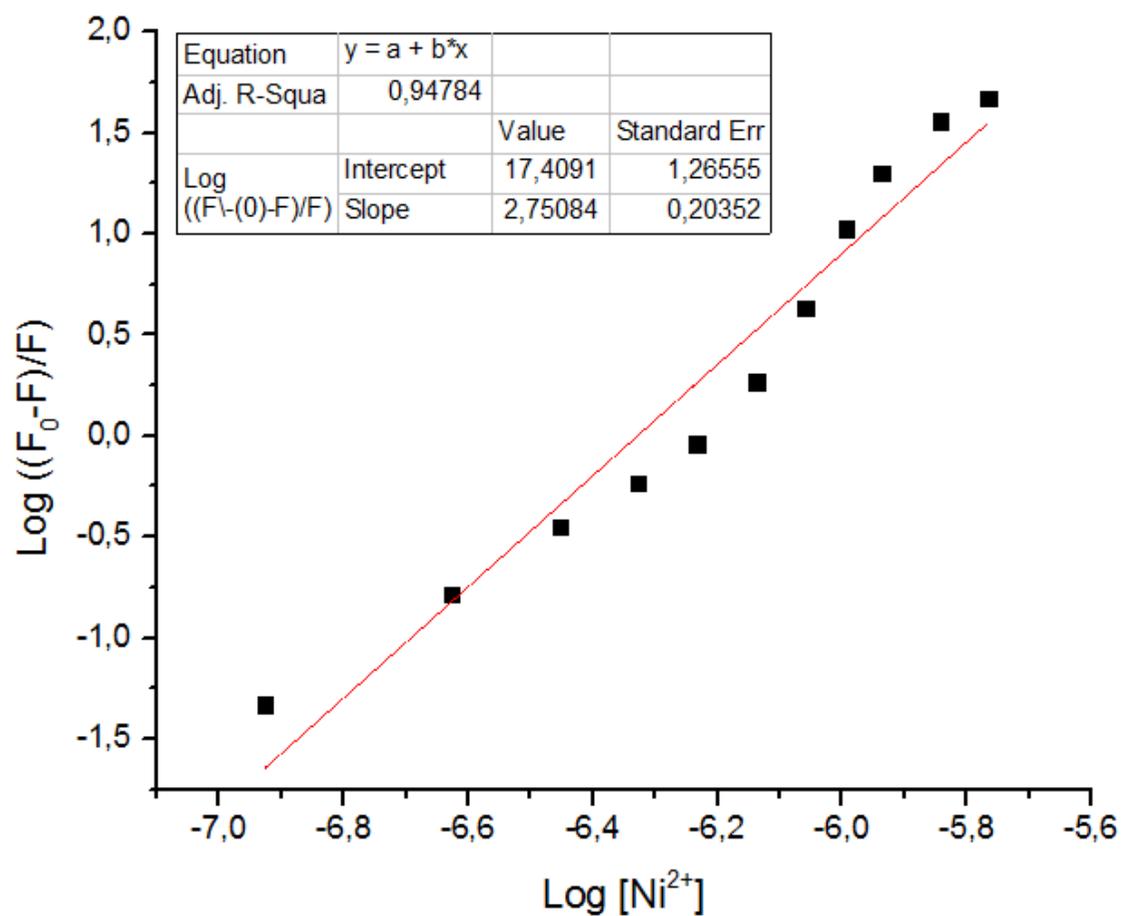
A.2.4 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Cu²⁺



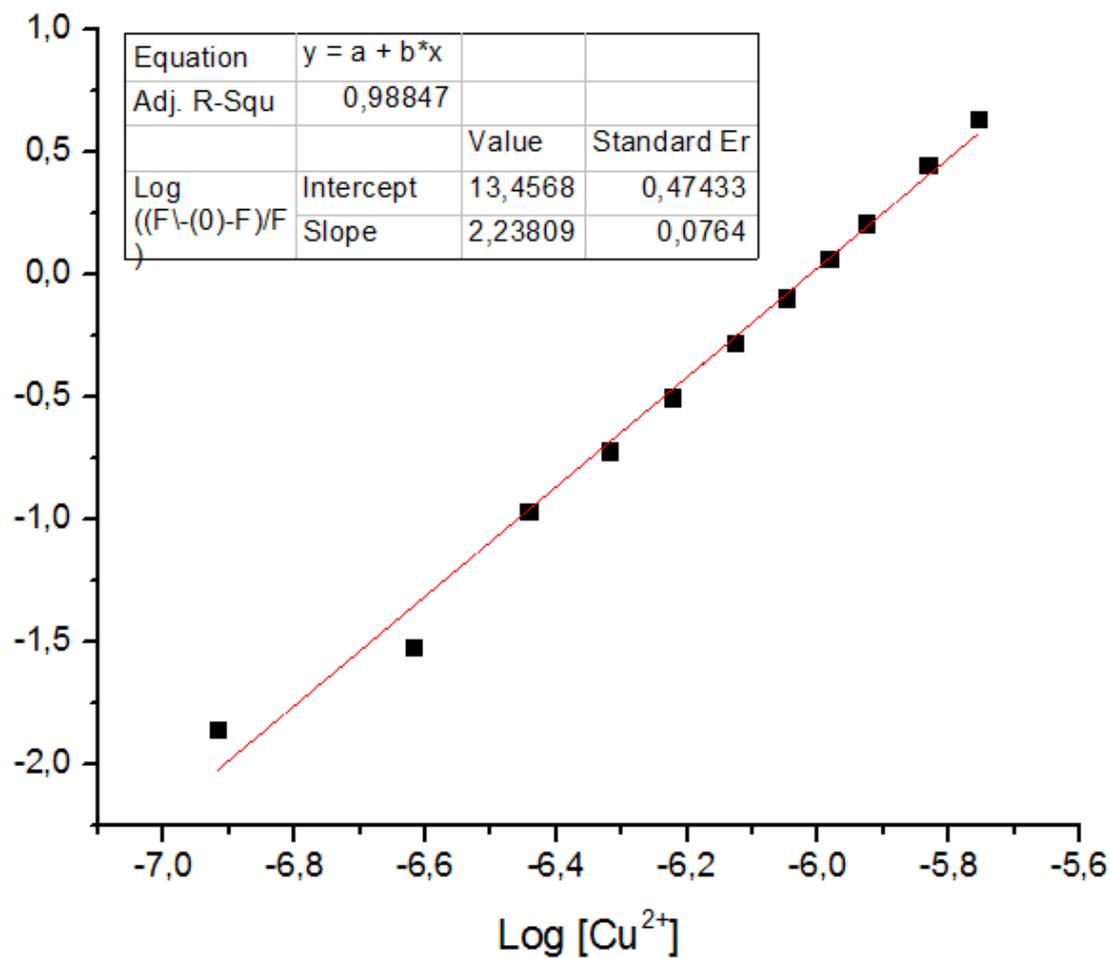
A.2.5 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Co²⁺



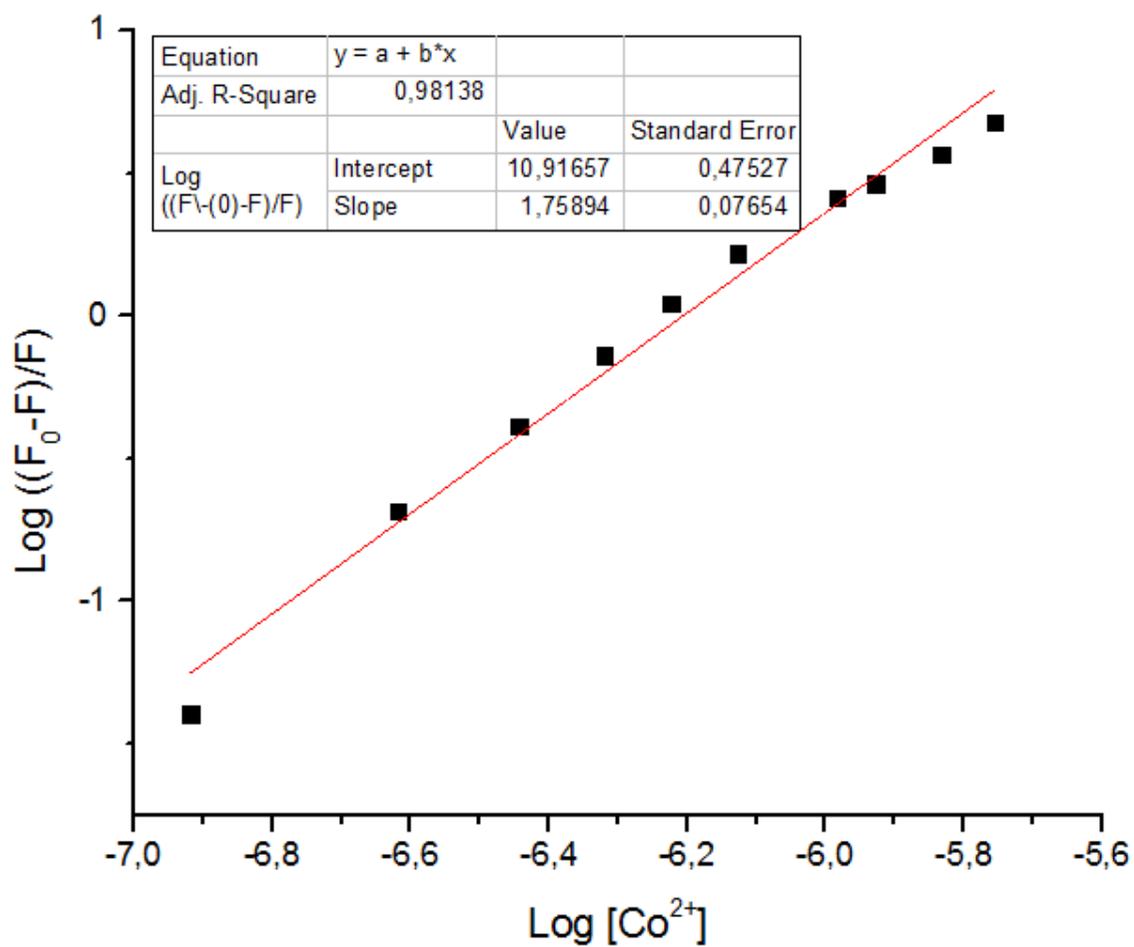
A.2.6 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 20 Ni²⁺



A.2.7 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Cu²⁺



A.2.8 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Co²⁺



A.2.9 Ajuste lineal de acuerdo con la ecuación de Hill a 450 nm para el complejo 21 Ni²⁺

