

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

Síntesis y estudio de las propiedades de complejación metálica de un nuevo ligante con grupos azufre como donadores y naftaleno como unidad fluorófora.

TESIS PROFESIONAL

Para obtener el título de:
QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Haydee Sarahy López Martínez

Hermosillo, Sonora

Agosto 2013

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



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

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado para revisar la tesis profesional de **Haydee Sarahy López Martínez**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de **Químico-Biólogo-Clinico**.

Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega
Director de Tesis

Dra. Rocío Sugich Miranda
Secretario

Dra. Rosa Marina Arvayo Ortiz
Vocal

M.C. Oralia Orduño Fragoza
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la **Universidad de Sonora** y al **Departamento de Ciencias Químico-Biológicas** por enriquecer mis conocimientos en todo el trayecto de mi carrera. Así mismo, al **Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM)** por prestarme sus instalaciones en el proceso de elaboración de mi tesis.

Agradezco a todos los que con su apoyo se hizo posible la realización de mi trabajo.

Especialmente a mi directora de tesis **Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega**, por compartirme de su tiempo y conocimientos, por su apoyo para seguir y terminar este trabajo, y sobre todo por su gran amistad incondicional.

Así como también, agradezco a mis sinodales la **Dra. Rocío Sugich, M.C. Oralia Fragoza y la Dra. Marina Arvayo** por compartir su tiempo y consejos para la mejora de este trabajo.

A todos mis compañeros de QB y DIPM que estuvieron en el transcurso de mi carrera y de mi tesis y que me brindaron su apoyo.

DEDICATORIAS

A **Dios** por darme salud y todo lo necesario para completar una etapa más de mi vida.

A mis Padres **María de Jesús Martínez de López y Martín Ignacio López Escalante** por estar siempre conmigo en los momentos felices y en los tristes, en los fáciles y los difíciles, por apoyarme, por brindarme todo lo necesario para completar mis estudios hasta hoy obtenidos, por su confianza, por su amor incondicional y por hacerme la persona que soy, los amo.

A mis hermanos **Elda, Ivan y Luis Miguel**, por compartir tantos momentos buenos y malos, por su cariño, su apoyo y por la gran familia que somos.

A **Jesús Rivero e Idolina Grijalva** por cada lindo momento vivido, por su apoyo y por su cariño durante mucho tiempo.

A mis amigos **Lesly, JP, Esquer, Yes, Iseth, Mayto, Adilene, Mois, Macho, Fresita**, por todo el apoyo incondicional en las buenas y las malas, por hacer de cada momento una sonrisa, por quererme tanto como yo a ustedes, por todas las travesuras, en pocas palabras, por su gran amistad.

A todos mis compañeros, **del DIPM, de QBC y de PGJE** que me han apoyado y acompañado en el transcurso del tiempo y triunfos.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	7
OBJETIVOS	9
Objetivo General	9
Objetivos Particulares	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
ANTECEDENTES.....	13
Efectos Tóxicos de los Metales Pesados	13
Compuestos de Coordinación	14
Química Supramolecular.....	15
Diseño de los Quimiosensores Fluorescentes.....	16
Afinidad de Entre Grupos Donadores y Cationes	19
Espectroscopia	20
Espectroscopia de UV- visible.....	21
Espectroscopia de Fluorescencia.....	23
Espín de electrón.	23
Estados de singulete y triplete.....	23
Vías de relajación de una molécula en estado excitado.	24
Factores que afectan a la fluorescencia.	26
Estructura de la molécula	26
Disolvente	27
Temperatura.....	27
pH	27
Presencia de oxígeno disuelto.....	27
Emisión y excitación.....	27
Fluorímetro.....	28
Espectrometría de Masas	28
Espectroscopia de Infrarrojo	31
Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.....	32
Desplazamientos químicos.....	34
Protección nuclear y desplazamiento de ¹ H.	34
Espectroscopia de RMN de ¹³ C.....	36
Espectrómetro de RMN.....	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	38

Materiales	38
Metodología	39
Síntesis del Ligante 2,2-(etano-1,2-diilbis(sulfanidiil)) bis (N-naftalen-2-il- metilacetamida) (ESNA).....	39
Caracterización	39
Punto de fusión.	39
Espectrometría de masas.....	39
Espectroscopia de infrarrojo	40
Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón, RMN ¹ H y ¹³ C.	40
Espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis).....	40
Espectroscopia de fluorescencia.	40
Estudio del Efecto de la Coordinación Metálica en los Espectros de Emisión del Ligante ESNA.	40
RESULTADOS	42
Espectroscopia de Infrarrojo	42
Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Protón ¹ H y de ¹³ C.....	43
Espectrometría de Masas.	45
Espectroscopia de Ultravioleta-Visible (UV-Vis).	45
Espectroscopia de Fluorescencia.....	46
Evaluación de la Capacidad Sensora del Ligante <i>ESNA</i> , para Metales.....	48
Titulaciones espectrofluorimétricas con Ag ⁺	50
Titulaciones espectrofluorimétricas con Zn ²⁺	51
Titulaciones espectrofluorimétricas con Au ³⁺	54
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura del ligante <i>ESNA</i>	12
2. Representación de un quimiosensor fluorescente.	17
3. La interacción de la molécula con el metal induce formación de excímero..	19
4. Transiciones electrónicas entre niveles de energía moleculares.....	22
5. Diferentes estados electrónicos con dirección de espín	24
6. Diagrama de energía parcial para un sistema fotoluminiscente.	26
7. Componentes básicos de un fluorímetro	28
8. Esquema de un espectrómetro de masas de ionización con electrones y sector magnético	29
9. Espectro de masas del propano (C ₃ H ₈ ; MM = 44).....	30
10. Relación entre vibración de grupos y absorción infrarroja	32
11. Acomodo de los espines nucleares en presencia y ausencia de campo magnético.....	34
12. Espectro de RMN de protón del metanol.....	35
13. Protección y desprotección del metanol.	35
14. Diagrama de un espectrómetro de RMN.	37
15. Síntesis del ligante <i>ESNA</i>	39
16. Titulación espectrofluorimétricas para el análisis de complejación ligante - metal.	41
17. Espectro de IR del ligante <i>ESNA</i> en pastilla de KBr.	42
18. Espectro de RMN de ¹ H del ligante <i>ESNA</i> en DMSO-d ₆	44
19. El espectro de RMN de ¹³ C del ligante <i>ESNA</i> en DMSO-d ₆ /Etanol.....	44
20. Espectro de masas por la técnica de impacto electrónico del ligante <i>ESNA</i>	45
21. Espectro de absorción del ligante <i>ESNA</i> , en etanol concentración 1X10 ⁻⁵ M.	46
22. Espectro electrónico de fluorescencia del ligando <i>ESNA</i>	47
23. Espectros de emisión del ligante <i>ESNA</i> , y de sus complejos en solución con los iones Ag ⁺ , Cd ²⁺ , Au ³⁺ , Hg ⁺ , Ni ²⁺ y Zn ²⁺ . λ _{ex} = 273 nm, [M]/[L]= 30. [<i>ESNA</i>]= 1X10 ⁻⁶ M en etanol.....	49
24. Espectros de emisión de <i>ESNA</i> , a diferentes relaciones [Ag ²⁺]/[<i>ESNA</i>] desde 0 a 30 λ _{ex} = 273 nm, [<i>ESNA</i>]= 1X10 ⁻⁶ M, en etanol.....	50
25. Espectros de emisión de <i>ESNA</i> , a diferentes relaciones [Zn ²⁺]/[<i>ESNA</i>] desde 0 a 10 λ _{ex} = 273 nm, [<i>ESNA</i>]= 1X10 ⁻⁶ M, en etanol.....	51
26. Variación de la razón I _M /I _E por efecto de Zn ²⁺ . λ _{ex} = 273 nm, [<i>ESNA</i>]= 1X10 ⁻⁶ M, en etanol. ...	52
27. Geometría optimizada para la molécula <i>ESNA</i> por el método semi-empírico MP6.	53
28. Geometría optimizada para el complejo Zn ²⁺ / <i>ESNA</i> por el método semi-empírico MP6.....	54

29. Espectros de emisión de ESNA, a diferentes relaciones $[Au^{3+}]/[ESNA]$ desde 0 a 2
 $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M, en etanol. 55

30. Variación de I_M por efecto de la concentración de Au^{3+} . $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M,
en etanol. 55

OBJETIVOS

Objetivo General

Sintetizar y caracterizar un nuevo ligante con grupos azufre como donadores y naftaleno como unidad indicadora, y evaluar su respuesta como sensor para metales por espectroscopia de fluorescencia.

Objetivos Particulares

- Sintetizar el ligante 2,2-(etano-1,2-diilbis(sulfanidiil)) bis (N-naftalen-2-il- metilacetamida). **(ESNA)**
- Caracterizar el ligante **ESNA** por diferentes técnicas como son: punto de fusión, Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , Espectroscopia de Infrarrojo, Ultravioleta-Visible, Espectroscopia de Fluorescencia, Espectrometría Masas.
- Analizar las propiedades de afinidad del ligante hacia los metales Au^{3+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ y Hg^{2+} , mediante espectroscopia de fluorescencia.

RESUMEN

En este trabajo se reporta la síntesis de un nuevo sensor fluorescente acíclico 2,2-(etano-1,2-diilbis (sulfanidiil)) bis (N-naftalen-2-il-metilacetamida) (**ESNA**) que contiene en su estructura grupos azufre y grupos amida como donadores de electrones, y unidades de naftaleno en los extremos como fluoróforo. El compuesto se obtuvo a partir de la reacción de condensación entre el ácido 2,2'-(etilenditio)diacético con la amina naftalen-2-ilmetilamina utilizando como acoplantes diisopropilcarbodiimida (DIC) y el 1-hidroxibenzotriazol (HOBt). El ligante **ESNA** se caracterizó por las diferentes técnicas espectroscópicas: Resonancia Magnética Nuclear de Protón y Carbono (RMN de ^1H y ^{13}C), Infrarrojo (IR), Espectroscopia electrónica (UV-Vis y fluorescencia), además Espectrometría de Masas y punto de fusión. Los resultados indican la obtención de la molécula esperada. El espectro de absorción en etanol muestra una banda estructurada con máximos a 265 nm ($\epsilon_{\text{max}}= 1.38 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 276 nm ($\epsilon_{\text{max}}= 1.42 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y 287 nm ($\epsilon_{\text{max}}= 0.90 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), las cuales puede atribuirse a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos naftaleno. El espectro de emisión del ligante en solución de etanol muestra una banda intensa centrada a 335 nm y una banda a 404 nm. La primera banda puede atribuirse a banda de emisión de monómero de naftaleno y la banda de 404 nm a banda de excímero de naftaleno. Se evaluó la respuesta sensora del ligante hacia los metales oro (Au^{3+}), zinc (Zn^{2+}), cadmio (Cd^{2+}), níquel (Ni^{2+}), plata (Ag^+) y mercurio (Hg^+). Se encontró que la presencia de Au^{3+} provocó un apagamiento de la fluorescencia del ligante, la presencia de Zn^{2+} provocó un aumento en la emisión de excímero de naftaleno. Mientras la presencia de los iones Cd^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ y Hg^+ no provocó cambio en las propiedades de emisión del ligante.

INTRODUCCIÓN

La extracción minera es una de las principales actividades económicas que se realizan en el estado (Secretaría de Economía del Estado de Sonora, 2013), sin embargo este tipo de proyectos ocasionan disturbios al medioambiente provocando una preocupación para el bienestar de los sistemas acuáticos y terrestres, y representan un riesgo para la salud. Los metales pesados se encuentran entre los contaminantes más tóxicos por ejemplo: el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), plomo (Pb), níquel (Ni) y cinc (Zn) (Ansari y col, 2004). A largo plazo, una exposición prolongada de estos en el agua, en los alimentos, en el aire y en la tierra, o una exposición directa pueden causar o exacerbar muchos problemas serios de salud en las personas, incluyendo daños al sistema reproductivo, al sistema neurológico y cáncer (Carvalho, 2011).

Por otra parte, algunos metales representan una fuente económica importante como son el oro (Au) y la plata (Ag), en los procesos de extracción de estos metales se tienen pérdidas que podrían ser detectadas por metodologías espectroscópicas. Esta preocupación ha provocado que grupos de investigación en los últimos años se dediquen al diseño y síntesis de nuevos materiales que puedan detectar a cationes. Para la detección de cationes se utilizan los denominados sensores. Un sensor químico se define según la IUPAC como aquel dispositivo que transforma una información química en una señal analítica de utilidad (Pascua, 2005). Efectivamente, los sensores químicos se caracterizan por integrar un receptor y un transductor que son responsables, respectivamente, del reconocimiento molecular y de la transformación de la interacción analito-receptor en una señal medible que debe ser procesada y registrada (Valeur y col, 1997).

El tema del desarrollo de sensores de naturaleza óptica ha tenido un marcado auge en los últimos años, por las posibilidades de aplicación en aspectos del medio ambiente, la industria y la medicina.

La evaluación de una molécula como sensor para un material se puede llevar a cabo en solución o el material puede estar soportado en un material sólido. La respuesta de una molécula puede variar dependiendo de su entorno (Jiskoot y col, 2005).

La investigación en el área de la química supramolecular, se ha centrado en el diseño de quimiosensores fluorescentes que cumplan con la finalidad de coordinarse específicamente a algún analito de interés y reflejar la señal fluorimétricamente (Swager, 1998).

Las moléculas que pueden detectar la presencia de iones metálicos a través de cambios en las propiedades luminiscentes se les llama sensores fluorescentes y el esquema más útil de la transducción de ésta clase de sistemas se basa en el amortiguamiento o el realce de la fluorescencia (Bargossi y col, 2000).

Entre los fluoróforos más utilizados para la construcción de quimiosensores fluorescentes se encuentra el naftaleno, antraceno y pireno (Lodeiro & Pina, 2009). En este proyecto se utiliza como unidad fluorófora el naftaleno.

Una novedad en el diseño de quimiosensores fluorescentes es la unión de dos fluoróforos idénticos a través de una cadena de interconexión con propiedades quelantes, a este tipo de sensores se les conoce como sensores bicromofóricos. La interacción con el analito puede inducir cambios conformacionales que favorezcan la unión de las unidades fluoróforas y la consecuente formación de excímeros, que son dímeros en estado excitado (De Melo y col, 2002), (Machi y col, 2006). El reconocimiento de una molécula por un catión en particular, va a depender del diseño de la molécula sensora y de la afinidad que presente el metal por los átomos donadores.

En este proyecto de tesis se realizó la síntesis de un nuevo ligante (**ESNA**), que en su estructura tiene grupos donadores de azufre y amida y como unidad indicadora al naftaleno, como se muestra en la Figura 1. Se evaluó la capacidad del ligante de reconocer a ciertos metales (Au^{3+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ y Hg^+) por la técnica de espectroscopia de fluorescencia.

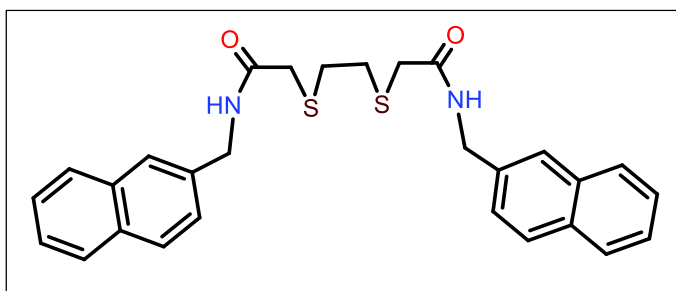


Figura 1. Estructura del ligante ESNA.

ANTECEDENTES

Efectos Tóxicos de los Metales Pesados

Los metales pesados involucran cualquier metal que tenga una densidad relativamente alta y que sea tóxico aun en bajas concentraciones. Estos no pueden ser eliminados fácilmente por los organismos por que tienden a acumularse (Ansari, 2004). Algunos de estos metales tóxicos son el plomo, cadmio, arsénico, mercurio y níquel, y provocan daños cuando entran en el organismo. (Agarwal, 2009). Es conocido que las intoxicaciones por metales, ocurren principalmente por las sales de estos, ya que el metal en su forma elemental en la mayoría de casos suele ser poco toxico.

Cada vez se incrementa el número de intoxicaciones en humanos por metales, debido a la aparición de nuevas formas de exposición. Varias alteraciones neurológicas degenerativas consideradas como idiopáticas se han relacionado con la absorción excesiva de ciertos metales. Por ejemplo, la intoxicación por mercurio se han relacionado con empastes dentales y la exposición laboral por el uso de técnicas industriales más sofisticadas como la industria de semiconductores (Mencías y Mayero, 2000).

Dos tercios de los elementos químicos son metales, alrededor de 20 son esenciales para el hombre por su participación en procesos fisiológicos. Sin embargo a dosis altas todos los metales resultan tóxicos. Los metales se encuentran en el medio ambiente integrados en ciclos biogeoquímicos, con transformaciones de especies metálicas mediante la participación de microorganismos y de cadenas tróficas, y pueden llegar al hombre a través de la dieta (Mencías y Mayero, 2000).

Los residuos mineros y de industrias que emplean metales pueden representar gran riesgo. Los compuestos metálicos, al contrario de los orgánicos, no son biodegradables, solo presentan cambios en su estado de oxidación, que aumenta o disminuye la toxicidad del elemento. Esto facilita la entrada de metales a cadenas alimentarias. La toxicidad aumenta con el carácter electropositivo y la solubilidad de los cationes metálicos, así como por la existencia de enlaces covalentes en el compuesto (Mencías y Mayero, 2000).

Los mecanismos de acción toxica de los diferentes metales son muy diversos. Estos pueden cambiar su estado de oxidación mediante reacciones de oxidación-reducción inducidas

por enzimas, y con ello estrés oxidativo. También la interacción con proteínas y ácidos nucleicos puede producir alteraciones genotóxicas y carcinógenas (Mencías y Mayero, 2000).

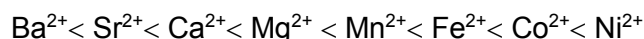
Compuestos de Coordinación

En 1893, Werner propuso la teoría de la coordinación, postulo que la mayoría de los elementos presentan dos tipos de valencia: una primaria y una secundaria que corresponden al número de oxidación y el número de coordinación respectivamente. Un complejo de coordinación consiste en la interacción de un ligante y un catión. Los metales de transición tienen una tendencia particular de formar iones complejos. Los ligantes son moléculas o iones que rodean al metal formando un compuesto de coordinación, las interacciones que existen entre el átomo de un metal y los ligantes se pueden ver como reacciones ácido-base de Lewis, la base de Lewis es una sustancia capaz de donar uno o más pares de electrones, y el átomo de metal de transición actúa como ácido de Lewis. De esta manera, los enlaces metal-ligante casi siempre son enlaces covalentes coordinados (Chang, 2010). El número de coordinación está dado por el número de átomos donadores que rodean al metal central en un ion complejo.

Los ligantes se clasifican según el número de átomos donadores presentes en monodentados, bidentados o polidentados, Los ligantes bidentados y polidentados, también se conocen como agentes quelantes, por su capacidad para sujetar al átomo de un metal como una pinza. (Chang, 2010). El ion Cloruro es un ejemplo de un ligante monodentado, la etilendiamina es un ejemplo de un ligante bidentado por tener dos grupos aminos como grupos donadores y la molécula etilendiaminotetraacético es una ligante polidentado por tener cuatro grupos carboxilatos y dos grupos aminos como grupos donadores.

La afinidad de las reacciones de iones complejos es muy variable, y dependen según la naturaleza del ion metálico y de los ligantes. La estabilidad de los complejos se rige de acuerdo a la teoría de Pearson de ácidos y bases duros y blandos (Harley, 2000), y es adicional a otros factores que contribuyen a la fortaleza de los enlaces entre el donador y el aceptor. Estos factores incluyen el tamaño del catión y el átomo donador, sus cargas, sus electronegatividades y la superposición de orbitales entre ellos (Housecraft y Sharpe, 2005).

Irving y Wallace al estudiar la estabilidad de los compuestos de coordinación de cationes observaron que para un mismo ligando la estabilidad de los complejos aumenta en el orden:



y que también, determinados ligantes forman con Ag^+ , Hg^{2+} y Pt^{2+} complejos más estables que con Ti^{4+} , Al^{3+} , Co^{3+} , mientras que con otros ligantes ocurre lo contrario. Basándose en estas observaciones tanto los cationes metálicos (ácidos de Lewis) como los ligantes (bases de Lewis), fueron clasificados en dos grupos. El grupo "a" de los cationes está integrado por hidrogeno, cationes metálicos del grupo 1, cationes metálicos de los elementos del grupo 2, Ti^{4+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} y Co^{3+} y en el grupo "b" lo integran cationes de metales pesados en bajos estados de oxidación: Cu^+ , Ag^+ , Hg^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , etc.. El grupo "a" de los ligantes está integrado por N, O y F y este grupo tiene afinidad por los cationes del grupo "a" y los ligantes del grupo "b" está integrado por P, S, As. Esta terminología se sustituyó en 1963 a propuesta de Pearson por los términos "duros" y "blandos" respectivamente. Una base dura, son entidades químicas poco polarizables que contiene uno o más átomos donadores de elevada electronegatividad, en lo contrario de una base blanda. Un ácido duro son aquellos que forman enlaces coordinados más estables con las bases duras, son cationes con elevado estado de oxidación y pequeño volumen; y lo contrario para un ácido blando, (Valenzuela, 1995)

Los compuestos de coordinación tienen una amplia gama de utilidad en la industria, medicina y el hogar. En metalurgia la extracción de plata y oro mediante formación de complejos y la purificación de níquel a través de la conversión del metal en un compuesto gaseoso son un ejemplo de estos compuestos de coordinación, así como también, los agentes quelantes terapéuticos como el EDTA y la modificación de detergentes contra el agua dura, (Chang, 2010).

Química Supramolecular

La química supramolecular es un campo interdisciplinario de la ciencia que cubre los aspectos químicos, físicos y biológicos de las especies químicas que se mantienen unidas y organizadas por medio de interacciones no covalentes: atracciones electrostáticas, puentes de hidrogeno, interacciones aromáticas, hidrofóbicas, Van der Waals, entre otras (Vasiuk y col, 2000).

El estudio de las interacciones intermoleculares y el reconocimiento molecular son aplicaciones que ayudan significativamente a la investigación, ya que se realiza la formación de nuevas moléculas con alta importancia (Ariga, 2006). El desarrollo de sistemas moleculares con capacidad de enlazarse a sustratos específicos con una afinidad altamente selectiva y

específica, y la capacidad de cambiar sus propiedades (longitud, forma, color mediante fotoquímica, pH, etc.) son las principales metas (Lehn, 1995)

Otro parte importante de la química supramolecular es la necesidad de sintetizar nuevos materiales que puedan trabajar como sensores selectivos y sensibles, que su respuesta se pueda monitorear en tiempo real y con aplicaciones en áreas como son biológico, clínico, y medio ambiental. Es por ello que se estudian los sensores químicos o quimiosensores, basados en luminiscencia. Algunos de estos sensores químicos están dirigidos a la detección de iones de metales de transición, ya que algunos de ellos están presentes en los sistemas biológicos, y al mismo tiempo, todos ellos pueden representar un problema ambiental cuando están presentes en cantidades no controladas (Prodi y col, 2000).

Los quimiosensores son moléculas capaces de enlazar selectivamente y reversiblemente a un analito de interés, donde la interacción se manifiesta por cambios en las propiedades del sistema en estudio. Los quimiosensores están estructurados de tres componentes diferente: un receptor, responsable de la unión selectiva del analito; una unidad indicadora, responsable de la respuesta; y en algunos casos un espaciador que modula la interacción electrónica entre dos unidades. Existen numerosos métodos para la detección de analitos, como absorción atómica, cromatografías, etc. que resultan caras y complicadas. En cambio, los métodos fluorimétricos ofrecen distintas ventajas entre ellas: selectividad, alta sensibilidad, bajo costo y el análisis en tiempo real (Valuer, 2002).

Diseño de los Quimiosensores Fluorescentes

El diseño de sensores fluorescentes es de alta importancia debido a su amplio campo de trabajo en analítica, bioquímica e investigación. Por medios fluorescentes se detectan analitos como cationes, aniones, moléculas neutras y gases que resultan importantes en las áreas anteriormente mencionadas. El desarrollo de sensores químicos basados en nuevos materiales artificiales que son capaces de señalar reversiblemente la presencia de otras especies químicas, es de gran importancia, (Basabe y col, 2007). Un sensor químico se caracterizan por integrar un receptor y un transductor que son responsables, respectivamente, del reconocimiento molecular y de la transformación de la interacción analito-receptor en una señal medible que debe ser procesada y registrada (Valuer y col, 1997).

Los sensores fluorescentes se dividen en dos grupos, biosensores fluorescentes y quimiosensores fluorescentes. El diseño clásico de un indicador fluorescente incluye dos partes, un receptor responsable del reconocimiento molecular del analito y un fluoróforo responsable de señalar el reconocimiento como se muestra en la Figura 2.

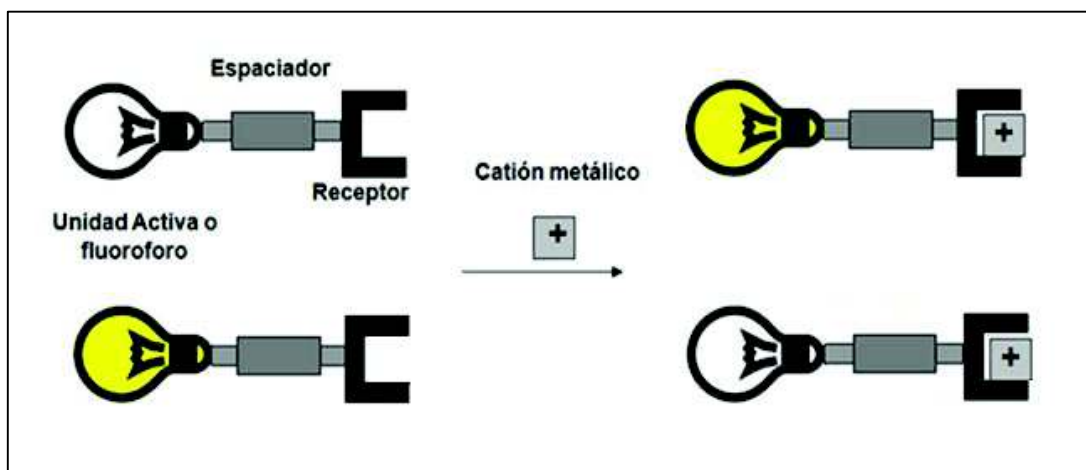


Figura 2. Representación de un quimiosensor fluorescente.

Fuente: Prodi y col, 2000.

Hay tres métodos principales para el diseño de sensores fluorescentes para la detección de iones en solución. El primero se basa en el uso de sondas fluorescentes intrínsecas; son moléculas fluorescentes donde el mecanismo de transducción de señales implica la interacción del analito con un ligando que es parte del fluoróforo. El segundo mediante sondas fluorescentes extrínsecas, en el cual, el receptor y el fluoróforo están unidos covalentemente pero son electrónicamente independientes, debido a que ambos están próximos se induce una respuesta fluorescente. El tercero se denomina quimiosensor ensamblado en la cual hay un ensayo competitivo y la interacción receptor-fluoróforo se disocia selectivamente (Basabe y col, 2007).

Cuando ocurre la interacción del analito con el receptor de un quimiosensor fluorescente, el transductor (fluoróforo) modifica sus propiedades en su banda de emisión como puede ser un desplazamiento de la banda de emisión, o que ocurra un realce o una amortiguación en la

banda de emisión. También se pueden modificar el rendimiento cuántico y el tiempo de vida del fluoróforo.

Un área de los quimiosensores fluorescentes es la detección de metales. Una técnica utilizada para medir la respuesta de la interacción entre el metal y el quimiosensor es la fluorescencia. Las ventajas de utilizar esta técnica analítica es la obtención de una señal en tiempo real, con alta sensibilidad y selectividad. Por lo tanto, se han hecho esfuerzos considerables para desarrollar sensores fluorescentes selectivos y sensibles para iones metálicos. Una molécula que tenga la capacidad de trabajar como un quimiosensor fluorescente puede ser diseñada para que la respuesta que se obtenga de la interacción del receptor-metal pueda ocurrir por diferentes mecanismos como son el proceso de transferencia electrónica foto inducida (PET), y el sistema de donante-aceptor (DLA). El grupo donante es unido covalentemente al aceptor, a través de la unidad enlazante rígida o flexible. Una cuestión importante para el uso exitoso de estos sistemas supramoleculares es la estabilización de la especie de carga separadas para evitar la transferencia de electrones de vuelta. Hay varios factores que controlan el proceso de transferencia de electrones: el potencial de oxidación del donante, el potencial de reducción del aceptor, la orientación y la distancia entre el donante y el aceptor (Pina, 2009)

Otros tipos de sensores son los de transferencia de carga fotoinducida (PCT) y los basados en la formación de excímero intermoleculares. Los primeros, deben contener un grupo electrón-atrayente y un grupo electrón-donante, el sustrato es un catión metálico que puede o no favorecer el estado relajado de transferencia de carga; el segundo, se caracteriza por la presencia de dos fluoróforos idénticos unidos por una cadena de interconexión, la manifestación de la formación del excímero es por la aparición de una nueva banda desplazada al rojo con respecto a la banda del monómero que se genera por la estabilización por apilamiento π entre los fluoróforos y a la falta de modos vibracional disponibles para relajar la energía por medios no emisivos. La Figura 3 muestra un esquema representativo de la formación de excímero.

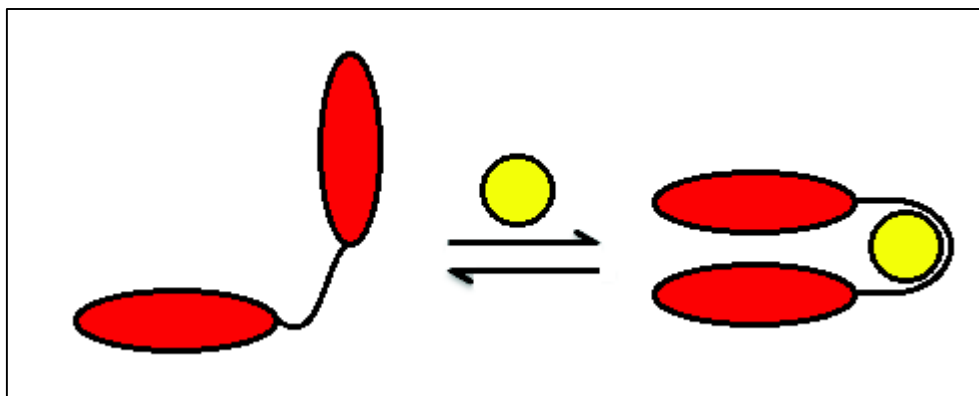


Figura 3. La interacción de la molécula con el metal induce formación de excímero.

Fuente: Sanchis, 2005.

Afinidad entre Grupos Donadores y Cationes

El reconocimiento molecular está determinado por la energía y la información involucrada en la selección y anclaje del sustrato por una molécula receptora dada. Es un proceso de reconocimiento a través de un conjunto de interacciones moleculares estructuralmente definidas, (Lehn, 1995).

Esta información se almacena en el receptor, tanto en sus centros de unión como en el entorno que rodea al lugar en dónde se une el sustrato. Además del tamaño y la forma, un receptor se caracteriza por su dimensionalidad, su conectividad, su conformación, su quiralidad y su dinámica. Los centros de unión se caracterizan por sus propiedades electrónicas (carga, polaridad y atracciones o repulsiones), por su tamaño, su forma, su número, y disposición en el esqueleto del receptor y también por una eventual reactividad que puede acoplar la complejación con otros procesos, como protonación, desprotonación, oxidación o reducción (Sanchis, 2005). El entorno que rodea estos centros de unión juega también un papel fundamental, ya que de este dependerá su estabilidad y selectividad (Steed, 2009).

Para complejos cargados la estabilidad y selectividad viene marcada por las interacciones catión-anión frente a las interacciones ion-medio. El reconocimiento implica complementariedad geométrica e interactiva entre las partes asociadas. Complementariedad de interacción, por ejemplo presencia de sitios de unión complementarios (positivo/negativo,

carga/dipolo, dipolo/dipolo, dador/aceptor de enlace de hidrógeno, etc.) en la correcta disposición, (Lehn, 1995).

Un ejemplo de esta complejación son los enlaces de coordinación, son interacciones muy fuertes, por lo tanto el enlace covalente coordinado permite obtener estructuras auto-ensambladas estables, comparadas con las de interacciones más débiles. Los iones de metales de transición son los más utilizados en la construcción de estos compuestos y se caracterizan por presentar número de coordinación variable, geometrías definidas, diferente afinidad por un tipo u otro ligando, propiedades específicas electrónicas y magnéticas.

Los ligantes utilizados deben poseer diversos átomos donadores que posibiliten el reconocimiento y la unión a los metales, combinados con las propiedades físicas del ion metálico lo que nos proporcionara la formación de una estructura con funcionalidad deseada (Hakan y Bıyıklıođlu, 2007). La estabilidad de los complejos se rige de acuerdo a la teoría de Pearson de ácidos y bases duros y blandos (Harley, 2000), y es adicional a otros factores que contribuyen a la fortaleza de los enlaces entre el donador y el aceptor.

La estabilidad del complejo formado dependerá de la afinidad que presente el ligante y el catión metálico. En esta tesis se presenta la síntesis de un ligante con grupos donadores de azufre y amida, lo que lo hace altamente selectivo, por lo cual, es importante mencionar que los iones nitrógeno son más selectivos para la atracción de iones duros, mientras que el azufre presenta unión preferente a iones blandos como: Cd^{2+} , Au^{3+} , Ag^+ , Hg^{2+} (ácidos blandos). La selectividad del ligando se puede mejorar combinando sistemas de donadores de átomos en una misma molécula (Hakan y Bıyıklıođlu, 2007).

Espectroscopia

En la química orgánica los instrumentos utilizados para la elucidación de la estructura molecular así como la pureza de las mismas son los espectrofotómetros. Existen diferentes tipos de espectrofotómetros como son: infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN de protón y carbono), fluorescencia y ultravioleta-Visible (UV-Vis). Otra técnica de caracterización es la espectrometría de masas. Estas mismas técnicas se utilizan para estudios de sistemas supramoleculares. En este apartado, se dará una descripción de las técnicas mencionadas anteriormente.

Espectroscopia de UV- visible

Las mediciones de absorción de las regiones UV y visible del espectro electromagnético (REM), son las más utilizadas ya que proporcionan información cualitativa y cuantitativa sobre moléculas orgánicas, inorgánicas y bioquímicas (Skoog, 2001). Las transiciones que ocurren en esta región corresponden a transiciones electrónicas en los orbitales moleculares y en los orbitales atómicos.

La absorción de la radiación UV en moléculas orgánicas se deben a la excitación de dos tipos de electrones: 1) los electrones compartidos por varios átomos que participan directamente en los enlaces, y 2) los electrones no compartidos que están localizados principalmente en los átomos de oxígeno, halógenos, azufre y nitrógeno (Skoog, 2000). La región de ultravioleta del espectro electromagnético se extiende del extremo de longitud de onda de la región visible al extremo de longitud de onda larga de la región de rayos X, pero el intervalo de ultravioleta de interés es de 200 a 400 nm. (McMurry, 2008)

La longitud de onda en la que absorbe una molécula orgánica va a depender de la fuerza con que se sujeten sus electrones. Los que se comparten en enlaces sencillos, como los de carbono-carbono o carbono-hidrogeno, están unidos con tal fuerza que solo es posible la absorción con fotones más energéticos que los UV normales. Los electrones que participan en enlaces dobles y triples se sujetan con menos fuerza y es más fácil excitarlos. Los grupos funcionales orgánicos insaturados que absorben en la región UV y visible se les conoce como cromóforos. La conjugación entre dos o más cromóforos puede ocasionar cambios en el máximo de absorbancia con longitudes de onda mayores. Muchos de los analitos que no absorben la radiación UV o visible pueden reaccionar con grupos funcionales orgánicos y formar especies que absorban en estas regiones. La espectrofotometría de absorción UV y visible también se emplea para determinar la estequiometría de las reacciones; en particular en los estudios de complejos metálicos (Skoog, 2001).

Cuando se irradia una molécula orgánica con energía electromagnética de la radiación UV-Vis, la energía absorbida corresponde a la cantidad necesaria para excitar un electrón de un orbital a otro en una molécula conjugada.

En la irradiación con la luz UV-Vis se absorbe energía y se promueve un cambio en su configuración de electrones de valencia, los cuales ocupan orbitales moleculares de enlace

sigma y pi (σ , π) y/o orbitales atómicos no enlazantes (n), Figura 4. La promoción del electrón es hacia los orbitales moleculares antienlazantes desocupados σ^* y π^* . Por lo que la transición de un electrón desde un orbital molecular de mayor energía ocupado (HOMO) a un orbital de menor energía desocupado (LUMO), es posible. Para la obtención de un espectro de UV-Vis el experimento consiste en hacer un barrido con las diferentes longitudes de onda de la región UV-Vis sobre la muestra en estudio, y cuando la energía de la luz con la que se está irradiando corresponde al nivel de excitación energético, se absorbe energía, la cual se muestra en una gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda (Hernández, 2002).

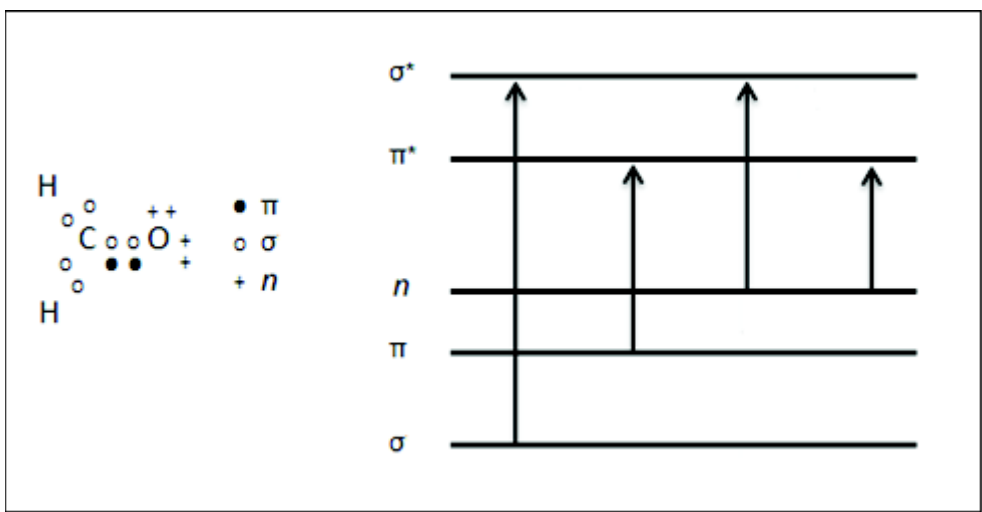


Figura 4. Transiciones electrónicas entre niveles de energía moleculares.

Fuente: Hernández, 2002.

Por lo tanto, la longitud de onda necesaria para efectuar la transición de $\pi \rightarrow \pi^*$ en una molécula conjugada depende de la diferencia de energía entre HOMO Y LUMO, la cual dependerá de la naturaleza del sistema. Las longitudes de onda de los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlace en una determinada molécula, y son importantes para la determinación de los grupos funcionales presentes (Skoog, 2008). El disolvente, el pH de la solución, la temperatura, la concentración de electrolitos, y la presencia de sustancias interferentes pueden influir en los espectros de absorción de los compuestos así como el ancho de la banda (Hernández, 2002).

Espectroscopia de Fluorescencia

En la fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia, las moléculas son excitadas para dar un espectro de emisión que nos proporciona información para análisis cuantitativo y cualitativo. En fluorescencia y la fosforescencia, la excitación se realiza mediante la absorción de fotones (fotoluminiscencia). La quimioluminiscencia se basa en el espectro de emisión de una especie excitada que se forma en una reacción química. La diferencia entre fluorescencia y fosforescencia, es que en la primera las transiciones electrónicas no generan un cambio en el espín del electrón, y en consecuencia esta presenta una vida corta, apagando la luminiscencia casi inmediatamente, lo que es contrario en fosforescencia (Skoog, 2001).

La medida de la intensidad de fotoluminiscencia o quimioluminiscencia permite la determinación cuantitativa de un conjunto de especies inorgánicas y orgánicas. Uno de los aspectos importantes de la luminiscencia es su sensibilidad mayor a la espectroscopia de absorción, así como también, sus amplios intervalos de linealidad (Skoog, 2001).

Espín de electrón. El principio de exclusión de Pauli establece que en un átomo no puede haber dos electrones con los cuatro números cuánticos iguales, el cual requiere que no haya más de dos electrones en un orbital y deben tener estado de espines opuestos, esto quiere decir que sea diamagnético. Por lo tanto, los radicales libres que contienen electrones desapareados son paramagnéticos y se atraen en un campo magnético (Skoog, 2001).

Estados de singulete y triplete. Para que una sustancia origine emisión fotoluminiscente es necesario que absorba radiación electromagnética, mediante transiciones electrónicas entre orbitales π enlazantes y antienlazantes ($\pi \rightarrow \pi^*$). La multiplicidad molecular M , es:

$$M = 2S + 1$$

donde S es el número cuántico de espín de la molécula, y es la suma de los espines de cada uno de los electrones (Hernández, 2002).

Un estado electrónico molecular en el cual todos los espines de los electrones están apareados es estado de singulete ($S = 0$ y $M = 1$) y en un campo magnético no hay desdoblamiento de niveles de energía. Cuando uno de los electrones es excitado a un nivel de energía superior tenemos estados de singulete excitado en el que el espín del electrón continúa

apareado con tiempo de vida media de 10^{-8} a 10^{-5} s, en ambos casos $M=1$. En el caso de los radicales libres, presenta un valor de $S= \frac{1}{2}$, por lo que la multiplicidad es un estado de doblete y puede tomar dos orientaciones en un campo magnético con diferencia de energía. En el caso de triplete, los dos electrones se han desapareado paralelamente y es menos energético que el anterior con un tiempo de vida media de 10^{-4} a varios segundos, el valor de $S = +\frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$ y $M = 3$, en la Figura 5, se presentan los esquemas de singulete y triplete (Skoog, 2001).

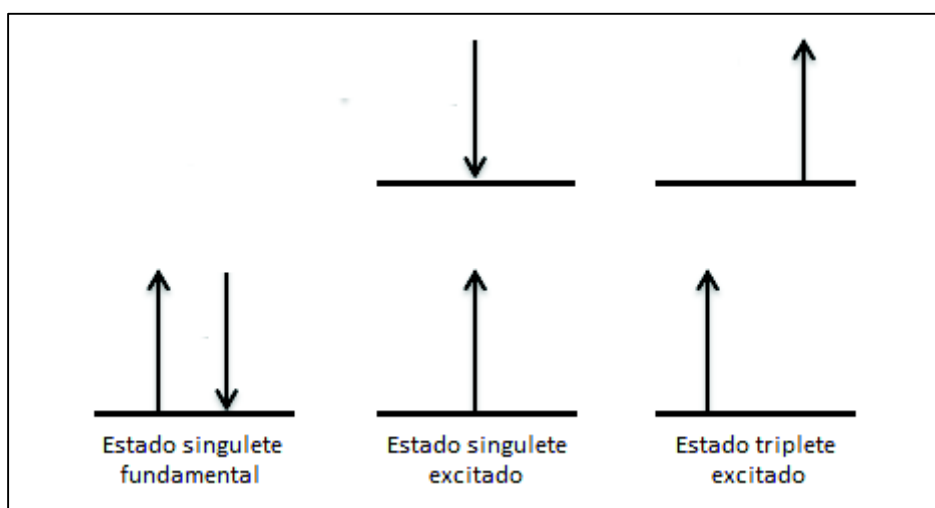


Figura 5. Diferentes estados electrónicos con dirección de espín

Fuente: Skoog, 2008.

La posibilidad de que tenga lugar la excitación por radiación de una molécula en el estado fundamental a un estado triplete excitado es baja, debido a este proceso los picos de absorción son varios órdenes de magnitud menos intensos que los correspondientes a las transiciones singulete/singulete. Sin embargo se ve que en ciertas moléculas, un estado triplete excitado puede formarse desde un estado singulete excitado observándose la fosforescencia (Skoog, 2001).

Vías de relajación de una molécula en estado excitado. Una molécula excitada puede volver a su estado fundamental mediante una combinación de varias etapas. La fosforescencia y fluorescencia se dan por la emisión de un fotón de radiación. La mejor vía para llegar al estado fundamental es aquella que minimiza el tiempo de vida del estado excitado por

esto, si la desactivación de la fluorescencia es más rápida que los procesos no radiantes, se observa la emisión. Con base en lo anterior pueden darse procesos en los cuales la fluorescencia sea menos intensa o desaparezca (Skoog, 2008).

Cuando una molécula absorbe radiación se produce el paso desde el estado fundamental a un estado electrónico excitado y cualquiera de los posibles estados vibracionales excitados. El exceso de energía se pierde inmediatamente como choques entre las moléculas excitadas y el disolvente, mediante un proceso de relajación vibracional que resulta altamente eficaz ya que el tiempo de vida media de una molécula excitada vibracionalmente es 10^{-12} s. También puede ocurrir que se pase a un estado electrónico de más baja energía sin emisión de radiación, lo que produce una conversión interna en un tiempo igualmente pequeño (Hernández, 2002). La conversión interna es eficaz cuando dos niveles de energía electrónicos están lo suficientemente próximos como para que haya un solapamiento de los niveles de energía vibracional (Skoog, 2008).

La fluorescencia es el proceso de emisión de un fotón y ocurre de inmediato después de la excitación, por lo que no es posible observar visiblemente la emisión de fluorescencia. Debido a esta conversión y relajación, la emisión de fotones fluorescentes desde estado excitado superiores al primero, son muy poco probables. La desactivación de un estado electrónico excitado por pérdida de energía no radiante puede tener lugar mediante conversión interna, si los niveles vibracionales del estado fundamental se solapan con los del primer estado excitado mediante conversión externa, la cual implica interacción y transferencia de energía entre la molécula excitada y el disolvente; además aquellas condiciones que reducen el número de colisiones como baja temperatura y alta viscosidad (Hernández, 2002). Una consecuencia de la eficacia de la relajación vibracional es que la banda de fluorescencia para una transición electrónica se desplaza a menores frecuencias o longitudes de onda más largas respecto a la banda de absorción, y este efecto se llama desplazamiento Stokes (Skoog, 2008). La Figura 6 es un diagrama de energía en el que podemos observar cada uno de los estados anteriormente mencionados.

El cruce entre sistemas ocurre por el cambio de espín de un estado de singulete a triplete y es más común en átomos pesados, como el yodo o el bromo. Una vez en estado de triplete, la molécula puede llegar al nivel vibracional inferior mediante procesos de relajación vibracional y emitir un fotón para llegar al estado fundamental y presentar la fosforescencia, el

tiempo de vida media en un estado de triplete excitado respecto a la emisión varía entre 10^{-4} y 10 s o más, este proceso se muestra en la Figura 6 (Hernández, 2002).

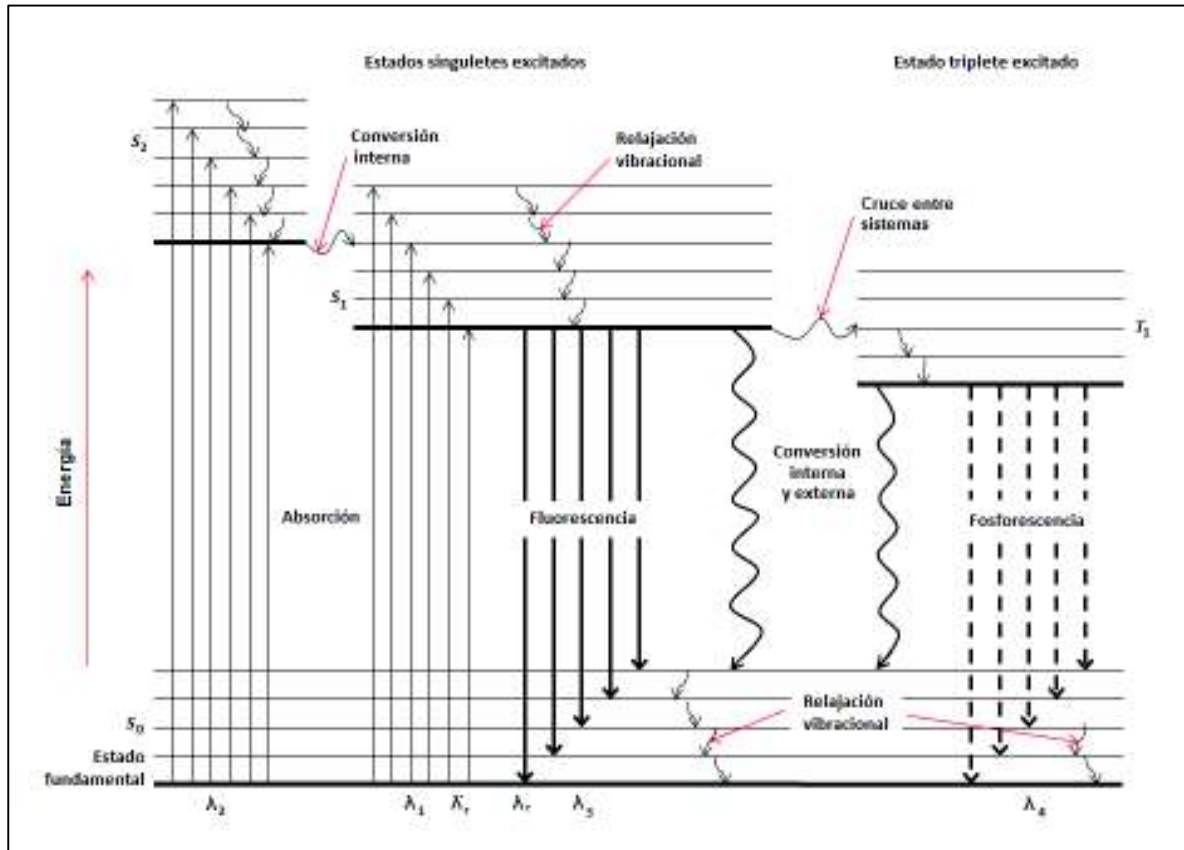


Figura 6. Diagrama de energía parcial para un sistema fotoluminiscente.

Fuente: Skoog, 2008.

Factores que afectan a la fluorescencia. La estructura molecular y el entorno químico, son aspectos que influyen en la luminiscencia, y son los que determinaran la intensidad de emisión en fotoluminiscencia (Hernández, 2002).

Estructura de la molécula:

- La molécula debe tener una estructura capaz de absorber radiación ultravioleta o visible, lo que nos lleva a provocar transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

- La rigidez de la molécula favorece la fluorescencia, y es un aspecto importante en la respuesta fluorófora con agentes quelantes orgánicos.
- Los grupos funcionales aromáticos también favorecen este proceso.
- Efecto del átomo pesado por sustituyentes halógenos, aumenta la probabilidad del cruzamiento de sistemas y a un aumento de la fosforescencia.

Disolvente:

- La disminución en la viscosidad del disolvente aumenta la probabilidad de conversión externa.
- La fluorescencia disminuye en presencia de átomos pesados o solutos con estos átomos.
- Los disolventes compuestos con átomos pesados aumentan la fluorescencia.

Temperatura:

- Al aumentar la temperatura aumenta el número de colisiones y con ello la probabilidad de desactivación por conversión externa.
- Un aumento de temperatura también disminuye la viscosidad del disolvente.

pH: los cambios de emisión por este factor están relacionados con las especies resonantes diferentes de un compuesto asociadas con las formas ácidas o básicas de las moléculas.

Presencia de oxígeno disuelto: este reduce la intensidad de emisión de una disolución fluorescente, debido a las características oxidantes, y la amortiguación por las propiedades paramagnéticas del oxígeno.

Emisión y excitación. Otra ventaja que presenta la técnica de fluorescencia con respecto a la absorción de UV-Vis, es que en la primera se pueden monitorear dos bandas con respecto a una de la segunda técnica. Los espectros de excitación se obtienen midiendo la intensidad luminiscente a una longitud de onda fija mientras se varía la longitud de onda de excitación, y el espectro de emisión es la intensidad de la emisión fluorescente en función de la longitud de onda de emisión, a la longitud de onda de excitación fija (Skoog, 2001)

Fluorímetro. Los componentes principales de un espectrofluorímetro son: fuente de radiación, monocromador; selector de longitud de onda, muestra y detector, como se muestra en la Figura 7, (Hernández, 2002).

Con base en todo lo anterior la fluorimetría es sumamente importante para el análisis de diferentes muestras, por sus múltiples ventajas como la linealidad, su alta sensibilidad, lectura de concentraciones muy pequeñas de hasta 10^{-9} , y la más importante, que el análisis es realizado en tiempo real.

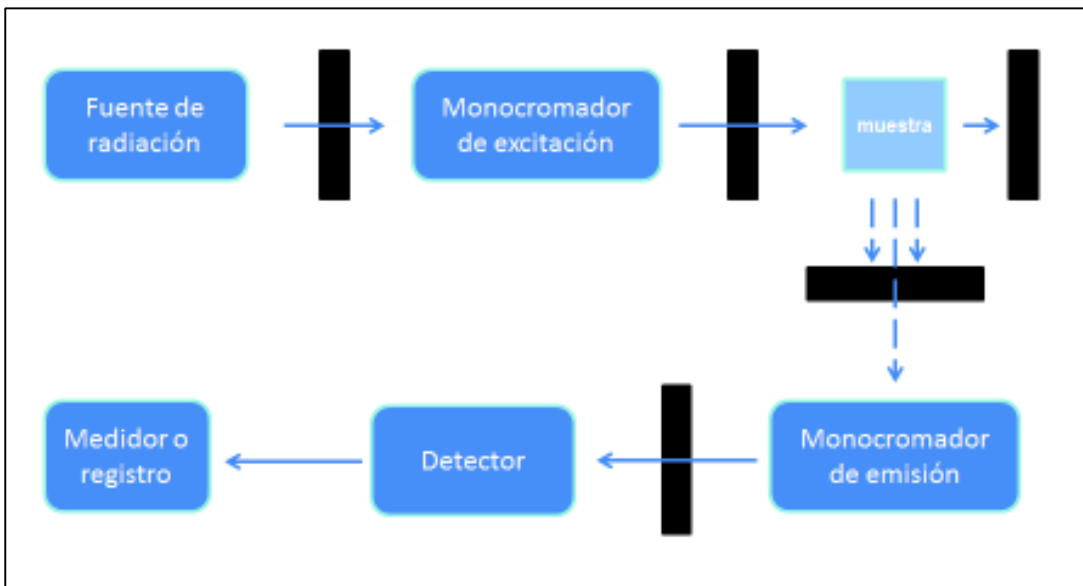


Figura 7. Componentes básicos de un fluorímetro.

Fuente: Hernández, 2002.

Espectrometría de Masas

La técnica de espectrometría de masas tiene varias ventajas sobre otras técnicas analíticas entre las que destacan: 1) es el método más directo y exacto para determinar masas atómicas y moleculares (Chang, 2010); 2) por las librerías existentes es una técnica importante para la identificación estructural de compuestos orgánicos; 3) es altamente sensible y 4) se requieren cantidades de muestras muy pequeñas. El espectro de masas ayuda a establecer la estructura de una sustancia nueva de distintas maneras: dar un peso molecular exacto; dar una

formula molecular o reducir las diferentes posibilidades; también puede indicar la presencia de ciertas unidades estructurales en una molécula (Morrison, 1998).

Existen más de 20 tipos de espectrómetros de masas, pero todos tienen tres partes básicas (Figura 8): una fuente de ionización en el que se ionizan las moléculas, un analizador de masas en el que se separan los iones por su relación de masas a carga (m/z), y un detector en el que se registran los iones separados (McMurry, 2008).

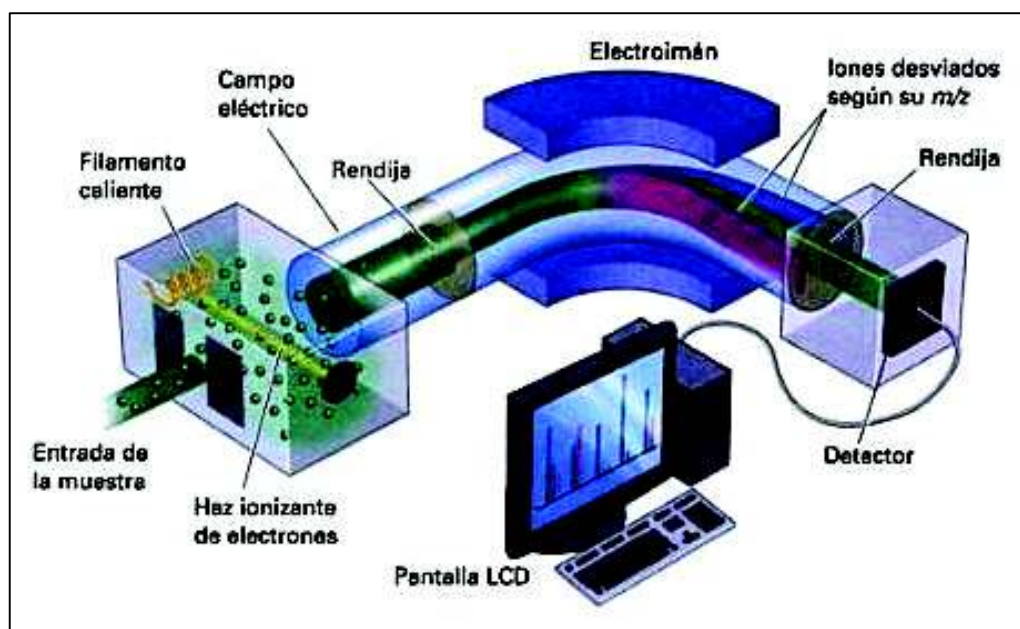


Figura 8. Esquema de un espectrómetro de masas de ionización con electrones y sector magnético.

Fuente: McMurry, 2008.

El primer paso para analizar un compuesto es el de ionizar la muestra. El método más comúnmente utilizado es el de impacto electrónico, donde el espectrómetro de masas bombardea moléculas en fase de vapor y es irradiado con electrones de alta energía que elimina un electrón de la molécula original, generando el ion molecular, cuyo valor m/z es el peso molecular del compuesto. La mayoría de los elementos se encuentran naturalmente en forma de varios isótopos. Por lo general predomina ampliamente el más liviano, siendo más escasos los más pesados. El pico M^+ refleja las moléculas que contienen el isótopo más común de cada elemento (Ning, 2005; Morrison, 1998).

Una vez generados los iones estos son separados con base en su masa y su carga, y se representan cada uno de estos en su relación m/z , en forma de espectros, Figura 9. El conjunto de iones se analiza de modo que se obtiene una señal para cada valor de m/e representado; la intensidad de cada señal refleja la abundancia relativa del ion que produce la señal. El pico mayor se denomina pico base, su intensidad se toma como 100; las de los otros máximos se expresan en relación con el pico base y el pico que corresponda al radical catión sin fragmentar se llama pico principal o ion molecular (M^+). Los espectros de masas pueden utilizarse de dos modos generales: (a) para comprobar la identidad de dos compuestos y (b) para ayudar a establecer la estructura de una sustancia nueva (Morrison, 1998). La Figura 9 muestra el espectro de masas del propanol.

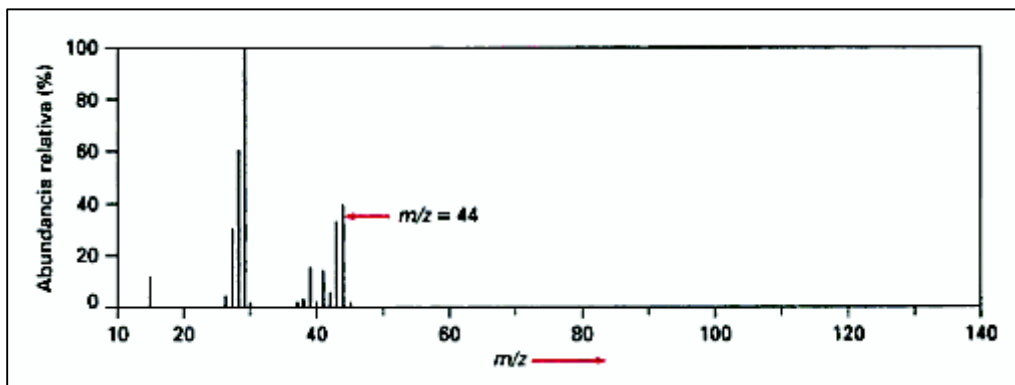


Figura 9. Espectro de masas del propano (C_3H_8 ; MM = 44).

Fuente: McMurry, 2008.

Al eliminar un electrón de la molécula original, se genera el ion molecular, cuyo valor m/z es el peso molecular del compuesto. La mayoría de los elementos se encuentran naturalmente en forma de varios isotopos. Por lo general predomina ampliamente el más liviano, siendo más escasos los más pesados. Y el pico M^+ refleja las moléculas que contienen el isótopo más común de cada elemento (Morrison, 1998).

La masa de cada ion se determina por la magnitud de su desviación. La cantidad de corriente que se genera es directamente proporcional al número de iones. Mediante esta técnica podemos determinar la pureza de la muestra, a partir de la fórmula es posible calcular el

porcentaje con que contribuyen cada elemento a la masa total del compuesto lo que se puede comparar con un resultado obtenido teóricamente, (Chang, 2010).

Espectroscopia de Infrarrojo

Las aplicaciones más importantes de la región infrarroja (IR) del espectro electromagnético, son el análisis cuantitativo y cualitativo de especies moleculares. Esta técnica se divide en tres categorías según el tipo de región en la que se encuentre denominadas: infrarrojo cercano, medio y lejano. La primera se utiliza en el análisis cuantitativo de ciertas especies, como agua, dióxido de carbono, azufre hidrocarburos, etc., la segunda región es la más utilizada para análisis cuantitativo y cualitativo mediante espectros de absorción, emisión y reflexión, la tercera región consiste en la determinación de estructuras de especies inorgánicas y organometálicas que se basan en medidas de absorción (Skoog, 2001).

No todas las moléculas pueden absorber en la región del infrarrojo, para que se presente la absorción debe presentarse un cambio en el momento dipolar de la molécula. Al ocurrir la interacción de la región electromagnética de infrarrojo con la molécula se provocan vibraciones en los enlaces presentes en las moléculas y esta absorción corresponde a una energía específica de cada enlace. A partir de esto se puede identificar los grupos específicos de las moléculas, (Christian, 2009).

La absorción en infrarrojo cercano se debe a armónicos y bandas combinadas vibracionales, que son transiciones prohibidas de baja probabilidad. La excitación de una molécula desde un estado vibracional fundamental hasta uno de mayor nivel, donde el número cuántico de vibración ν sea mayor o igual a 2, causa absorciones armónicas. Las bandas combinadas de absorción se producen cuando se excitan dos vibraciones moleculares diferentes en forma simultánea y la intensidad de las bandas armónicas disminuye. Esto se debe principalmente a movimientos de alargamiento y flexión de los enlaces C-H, O-H y N-H (Christian, 2009). Las muestras que presentan absorción en la región de infrarrojo medio, para su lectura se suelen diluir en forma de pastillas de KBr, en películas delgadas, polvos o soluciones. Las transiciones que ocurren en esta región son mucho más fuertes con respecto al infrarrojo cercano. Esta región es la más utilizada en la química orgánica, porque es donde se pueden caracterizar los enlaces presentes en una molécula. Entre los grupos funcionales más comunes que se pueden identificar se encuentran los grupos: alcohol, éster carbonilo, olefinas e

hidrocarburo insaturado aromático, en la Figura 10 se muestran la región de absorción de algunos grupos. Aunque este análisis sea de uso principal para identificación y deducción estructural, es útil en el análisis cuantitativo de mezclas complejas de compuestos similares debido a que algunos máximos de absorción de cada compuesto se presentan en longitudes de onda definidas y selectivas, con intensidades proporcionales a la concentración de la especie absorbente, (Christian, 2009).

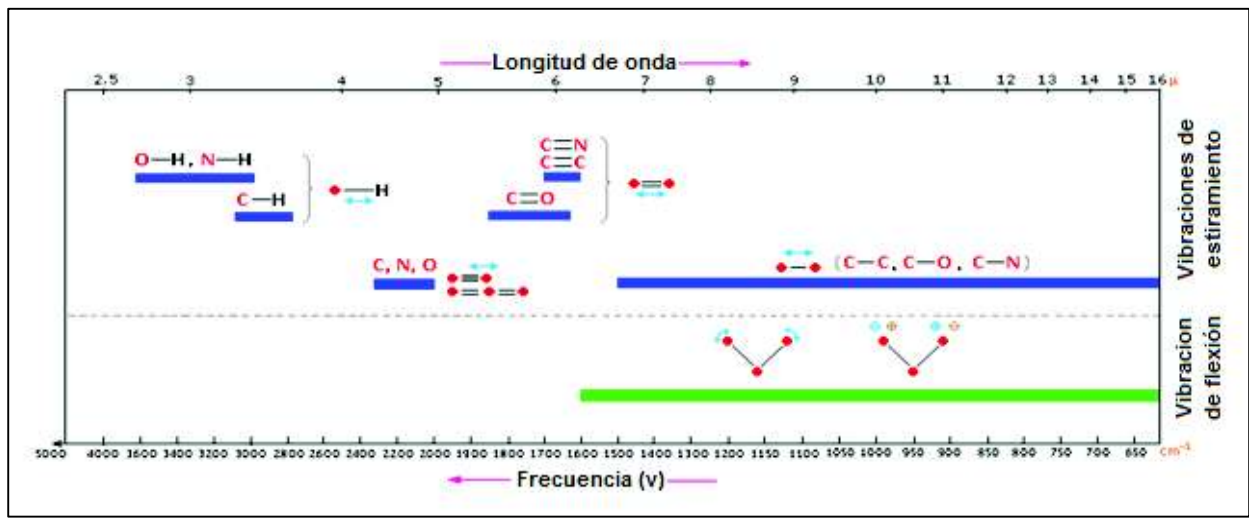


Figura 10. Relación entre vibración de grupos y absorción infrarroja.

Fuente: Espectroscopía IR. John William Florez.

Para la adquisición del espectro de infrarrojo de una muestra, la técnica más utilizada para manipulación de sólidos es la formación de pastillas de KBr. Las sales de haluros tiene la propiedad de flujo en frio por lo cual, cuando se presiona suficientemente este material finamente pulverizado presenta propiedades transparentes o translucidas como el vidrio. Al usar esta técnica, se mezclan a fondo un miligramo o menos de la muestra pulverizada con 100 mg de polvo de bromuro de potasio. La muestra se puede realizar con un mortero, posteriormente se presiona la muestra en un troquel especial entre 700 y 1000 kg/cm² (Skoog, 2001).

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

La resonancia magnética nuclear (RMN) es un método de determinación estructural, no reemplaza ninguna de las anteriormente mencionadas pero si complementa el estudio mediante el análisis de los núcleos en vez de los electrones exteriores (McMurry 2008). Las bases teóricas de la RMN fueron propuestas por W. Pauli en 1942, quien sugirió que ciertos núcleos atómicos deberían tener propiedades de espín y momento magnético, al exponerlos a un campo magnético, conducirían a un desdoblamiento de los niveles de energía. Pero en 1946 Bloch en Stanford, y Purcell en Harvard, demostraron que los núcleos en un campo magnético intenso absorben radiación electromagnética, como consecuencia de un desdoblamiento de niveles de energía. En los cinco primeros años de continuar con RMN los químicos se dieron cuenta que el entorno molecular influía en la absorción de la radiación de radiofrecuencias por un núcleo en un campo magnético, y que este efecto se podía correlacionar con la estructura molecular. Desde entonces la aplicación de esta técnica ha ido creciendo (Skoog, 2001).

Para que los núcleos presenten absorción en la técnica de RMN, deben presentar número atómico impar y número de masa impar. Esta técnica depende de la absorción de energía cuando el núcleo de un átomo es excitado de su estado espín de energía menor al siguiente mayor. Las moléculas orgánicas (carbono e hidrogeno) tienen isotopos (^1H y ^{13}C) capaces de dar espectros de RMN que son ricos en información estructural (Skoog, 2001).

Al igual que los electrones, los protones también presentan número de espín de $+\frac{1}{2}$ y $-\frac{1}{2}$. En ausencia de un campo magnético externo, no hay diferencia de energía entre esos dos estados de espín nuclear (Carey, 2006), y los momentos de protón están orientados al azar (Wade, 2004). La absorción electromagnética solo puede ocurrir cuando los dos estados de espín tienen energías diferentes, esto es posible utilizando un campo magnético. Al colocar una muestra en un campo magnético externo B_0 los protones se orientan - y giran, comportándose como un imán diminuto y tiene un momento magnético asociado con él, como se muestra en la Figura 11 (Carey, 2006).

La frecuencia necesaria para la resonancia depende de la fuerza del campo magnético externo y de la identidad de los núcleos. Si el campo magnético es muy fuerte, la diferencia de energía es mayor entre los estados de espín y se requiere mayor energía para la inversión de este, y en un campo magnético más débil ocurre lo contrario. (McMurry, 2008).

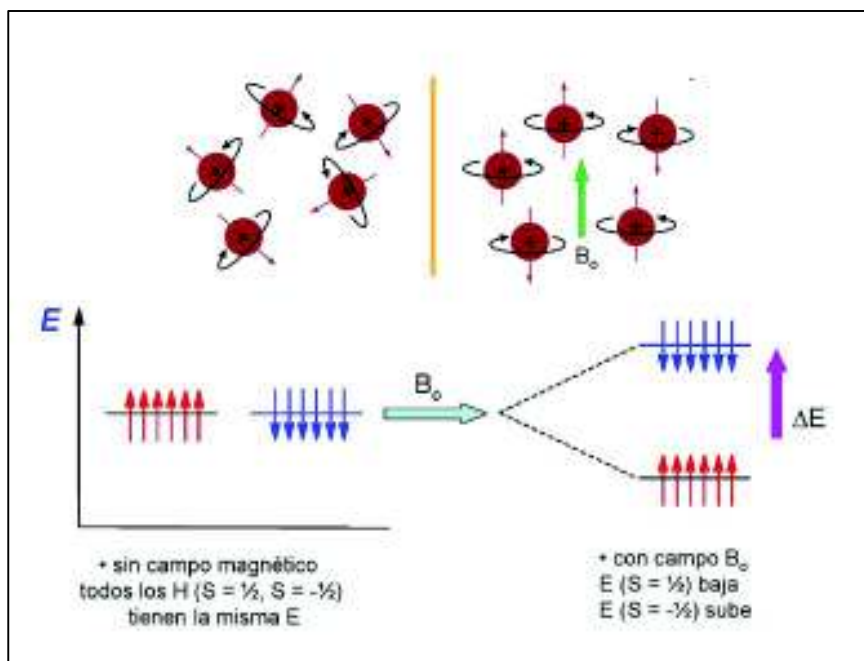


Figura 11. Acomodo de los espines nucleares en presencia y ausencia de campo magnético.

Fuente: Carey, 2006.

Desplazamientos químicos. Los espectros de RMN se representan en graficas que muestran la fuerza del campo aplicado que aumenta de izquierda a derecha, la parte izquierda es el lado de campo bajo, y la derecha de campo alto. Los núcleos que absorben en la región de campo bajo requieren una fuerza menor para la resonancia, por lo que están más desprotegidos. En contrario los que absorben a campo alto, requieren mayor fuerza y están más protegidos como se muestra en la Figura 12. Para definir la posición de una absorción, se calibra la gráfica de RMN y se utiliza un punto de referencia que es el tetrametilsilano (TMS). El desplazamiento químico es la posición de la gráfica en la cual absorbe un núcleo, (McMurry, 2008).

Protección nuclear y desplazamiento de ^1H . Los protones en una molécula están unidos a otros átomos por enlaces covalentes y todos estos, afectan el ambiente magnético de los protones. Un campo magnético externo afecta al movimiento de los electrones en una molécula, induciendo campos locales caracterizados por líneas de fuerza que circulan en dirección opuesta al campo aplicado (Carey, 2004). Entonces, si el campo magnético en el núcleo es más débil que el campo externo se dice que está protegido, al ser así, estos absorben

radiación con fuerza de campo mayor (campo alto) comparada con una fuerza de campo menor (campo bajo). En la Figura 13 el protón del grupo hidroxilo no está tan protegido como los del grupo metilo, por lo que estos absorben en un campo más bajo que los metilo, quedando el protón del grupo hidroxilo desprotegido. Si todos los protones estuvieran protegidos, estarían todos en resonancia para la misma combinación de frecuencia y de campo magnético (Wade, 2004).

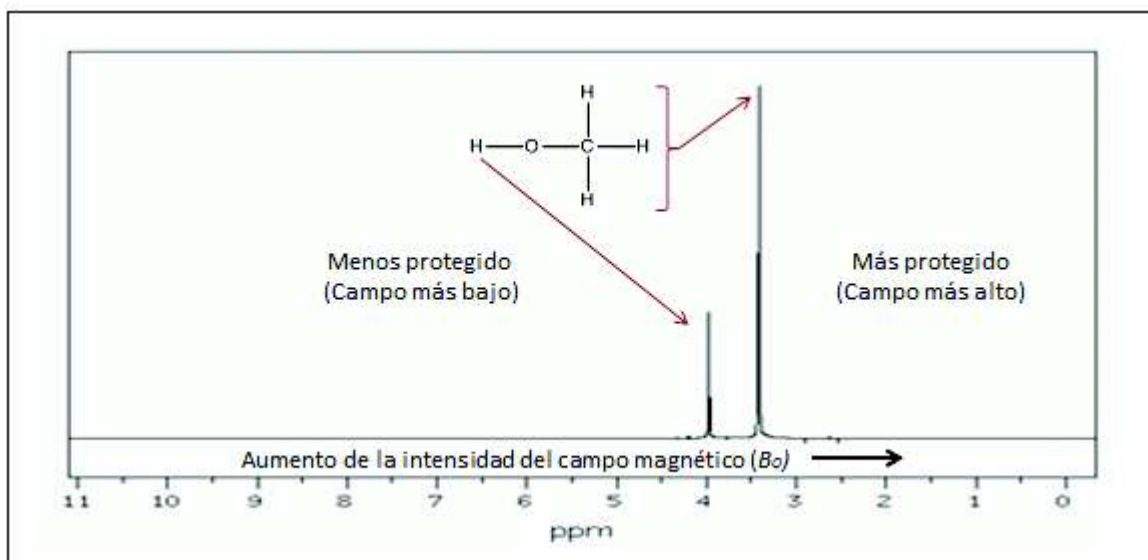


Figura 12. Espectro de RMN de protón del metanol.

Fuente: (Wade, 2004).

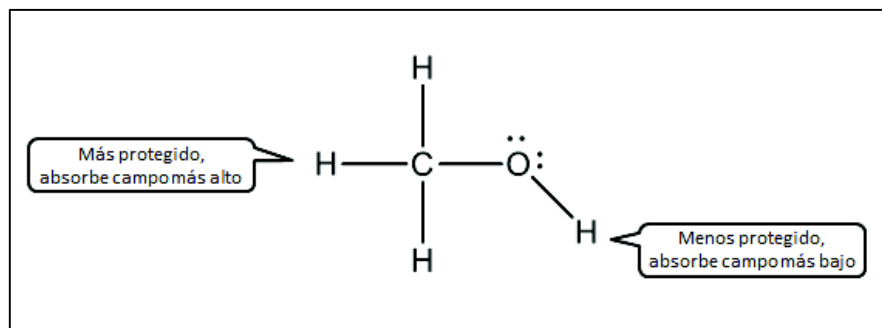


Figura 13. Protección y desprotección del metanol.

Fuente: Wade, 2004.

La medida de intensidad de campos proporciona información importante: a) número de señales diferentes, para saber cuántos tipos de protones están presentes, b) grado de protección, indica la densidad electrónica de la molécula próxima a cada tipo de protón, c) intensidades de las señales, nos indican cuantos protones de cada tipo están presentes y d) desdoblamiento de las señales, para los protones próximos (Wade, 2004).

Espectroscopia de RMN de ^{13}C . Los espectros de RMN de ^{13}C tienen la ventaja de investigar el esqueleto de carbonos en forma directa. Esta es análoga a la RMN de protón en que el número de señales informa sobre el número de clases de carbonos diferentes, y sus desplazamientos químicos se relacionan con ambientes químicos particulares. Solo el 1.1% de los átomos de carbono en una muestra son ^{13}C , y la intensidad producida por los núcleos de este es mucho más débil que la producida por el mismo número de núcleos de ^1H . El espectro de ^{13}C es muy simple, se observa un pico distinto separado para cada carbono. Para las señales de protones en las moléculas orgánicas el espectro es de 12 ppm, en cambio los de ^{13}C abarcan un intervalo de más de 200 ppm lo que facilita la interpretación de los espectros, (Carey, 2006).

Los desplazamientos se miden en relación con los carbonos del tetrametilsilano. Los factores que más afectan a los desplazamientos en ^{13}C son: 1) la electronegatividad de los grupos unidos al carbono y 2) la hibridación del carbono, (Carey, 2006).

Espectrómetro de RMN. El equipo de RMN más sencillo consta de cuatro partes (Figura 14), (Wade, 2004):

- Un imán fijo, con un controlador de campo muy sensible que produzca un campo magnético preciso.
- Un transmisor de radiofrecuencia (RF), capaz de emitir a una frecuencia precisa.
- Un detector para medir la absorción de la energía de RF por parte de la muestra.
- Un registrador para representar la señal de salida del detector frente al campo magnético aplicado.

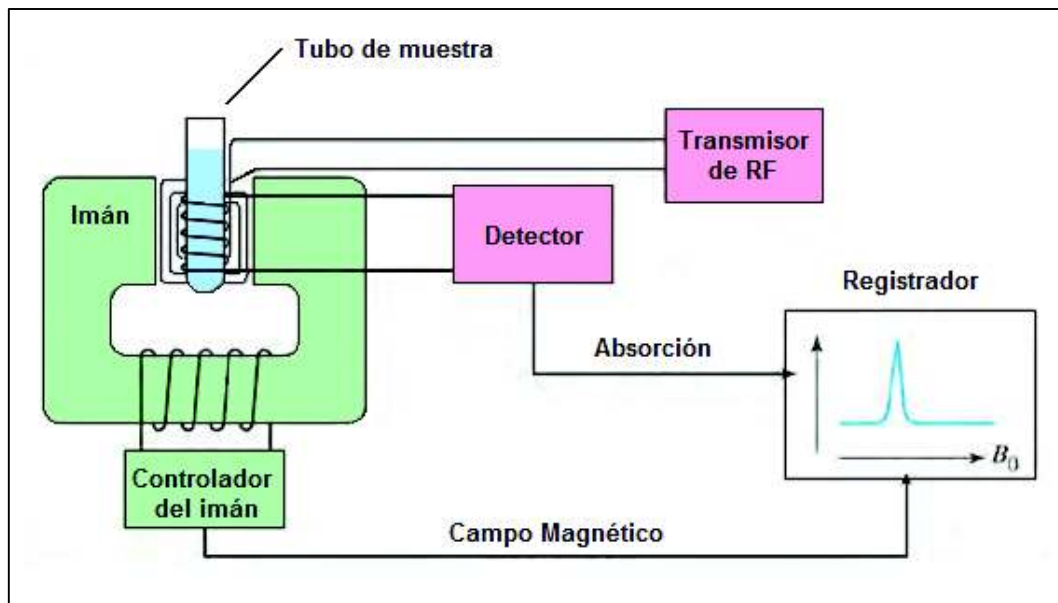


Figura 14. Diagrama de un espectrómetro de RMN.

Fuente: Wade, 2010.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los materiales a utilizar en la síntesis y sus estudios espectroscópicos de coordinación metálica están disponibles comercialmente y se enuncian a continuación.

- Acido 2,2' (etilenditio)diacético marca Aldrich.
- 2-Naftalen-il-metilamina, marca Karl Industries Inc.
- Diisopropilcarbodimida (DIC) Marca Aldrich.
- Hidroxilbenzotriazol hidratado (HOBt), marca Aldrich.
- Diclorometano, marca Aldrich.
- Dimetilformamida marca Aldrich.
- DMSO-d6 marca Aldrich.
- Etanol marca Fago Lab.
- Agua desionizada.
- Cloruro de Zinc marca Aldrich.
- Cloruro de Mercurio marca Aldrich.
- Cloruro de Cadmio marca Aldrich.
- Cloruro de Oro marca Aldrich
- Nitrato de plata marca Aldrich.
- Cloruro de Níquel marca Aldrich.

Metodología

Síntesis del Ligante 2,2'-(etano-1,2-diilbis(sulfanidiil)) bis (N-naftalen-2-il- metilacetamida) (ESNA).

El ligante **ESNA** se obtuvo por la formación de enlaces amidas entre el ácido 2,2'-(etilenditio) diacético y la amina 2-Naftalen-il-metilamina. Se siguió la siguiente metodología y la reacción general se representa en la Figura 15. En 10 mL de diclorometano (DCM) se disolvieron 0.160g (0.9 mmol) de Ácido 2,2'-(etilenditio) diacético, 0.300 g (1.8 mmol) de 2-Naftalen-il-metilamina, 278 ul (1.8 mmol) del acoplante DIC y 0.244 g (1.8 mmol) del aditivo HOBT. La reacción se dejó en agitación constante por 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción se observó la formación de un polvo sin color el cual se recuperó por filtración y el producto fue lavado con agua y acetona para eliminar los reactivos sin reaccionar. El producto obtenido fue caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas.

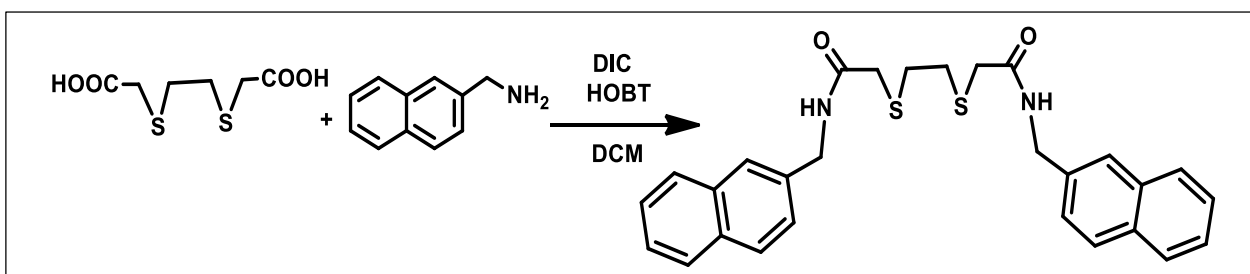


Figura 15. Síntesis del ligante **ESNA**.

Caracterización

Punto de fusión. El punto de fusión del compuesto se obtuvo en el equipo Mel-Temp II.

Espectrometría de masas. El espectro de masas del ligante se obtuvo en un espectrómetro marca Agilent Technologies, modelo 5975C, y las muestras se analizaron por inserción directa, utilizando el método de ionización por impacto electrónico. En análisis se realizó en el Centro de Graduados e Investigación en Química del Tecnológico de Tijuana.

Espectroscopia de infrarrojo. El espectro de infrarrojo se obtuvo mediante la formación de pastillas de KBr, utilizando un espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer Modelo GX.

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón, RMN ^1H y ^{13}C . Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del ligante se obtuvieron a temperatura ambiente en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear Bruker Avance 400 que opera a 400 MHz. Para llevar a cabo la medición el ligante se disolvió en DMSO-d6.

Espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis). El espectro de absorción electrónica, se obtuvo en un espectrofotómetro de ultravioleta-visible marca Agilent modelo 8453. La muestra se disolvió en etanol.

Espectroscopia de fluorescencia. Los espectros de emisión y de excitación se obtendrán en un espectrofotómetro de luminiscencia marca Perkin-Elmer, modelo LS50B. La muestra se disolvió en etanol.

Estudio del Efecto de la Coordinación Metálica en los Espectros de Emisión del Ligante ESNA.

Para el estudio de formación de complejos metálicos en solución se llevaron a cabo titulaciones espectrofluorimétricas a 25 °C en soluciones en etanol.

En la celda de cuarzo del fluorímetro se colocaron 3.0 mL de solución del ligante **ESNA** de concentración 1×10^{-6} M y se adicionaron microlitros de solución del metal a evaluar (plata, oro, mercurio, zinc, níquel y cadmio) o de nitrato de plata, para variar la relación de $[\text{M}]/[\text{L}]$. Después de cada adición la solución se agitó por 3 minutos utilizando un agitador magnético y enseguida se tomó el espectro, el esquema de la titulación se muestra en la

Figura 16.

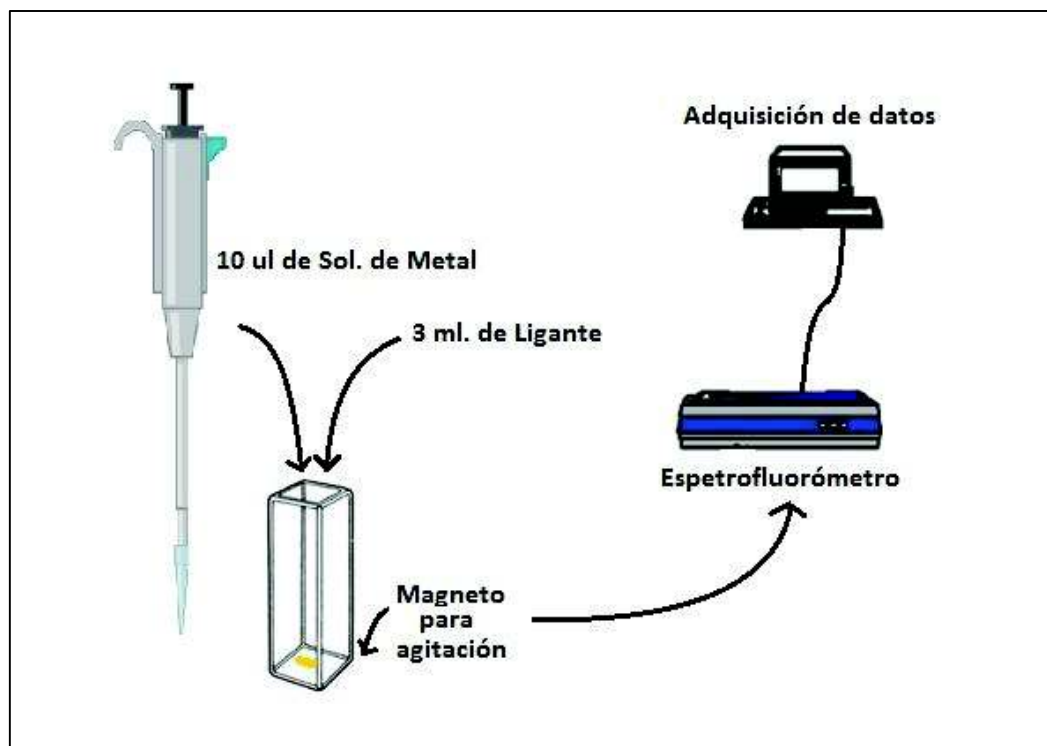


Figura 16. Titulación espectrofluorimétrica para el análisis de complejación ligante - metal.

RESULTADOS

De la reacción entre el ácido 2,2'-(etilenditio) diacético y la amina 2-Naftalen-il-metilamina, se obtuvo el ligante de cadena abierta tipo biscromofórico **2,2-(etano-1,2-diilbis(sulfanidil)) bis (N-naftalen-2-il- metilacetamida) (ESNA)**, con fórmula molecular $C_{28}H_{28}N_2O_2S_2$. Se obtuvo un polvo blanco, el cual presentó un punto de fusión de 167-168 °C, y un rendimiento del 98%. El ligante fue caracterizado por RMN de protón y carbono, espectroscopia de IR, UV-Vis y fluorescencia y espectrometría de masas. Los resultados se muestran a continuación.

Espectroscopia de Infrarrojo

El espectro de IR del ligante se muestra en la Figura 17. El espectro muestra las siguientes bandas de vibración: en 3283 cm^{-1} la banda de estiramiento N-H de amida; en 3048 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-H arílicos; en 2913 cm^{-1} las bandas de estiramiento C-H alifáticos; en 1639 cm^{-1} aparece la banda de estiramiento de C=O del grupo amida; en 1532 cm^{-1} aparece la banda de flexión N-H del grupo amida; 706 cm^{-1} aparece la banda de estiramiento C-S, y en 483 cm^{-1} aparece la banda de movimiento característico del anillo de naftaleno. La presencia de estas frecuencias de vibración corresponde a los diferentes grupos funcionales presentes en el ligante.

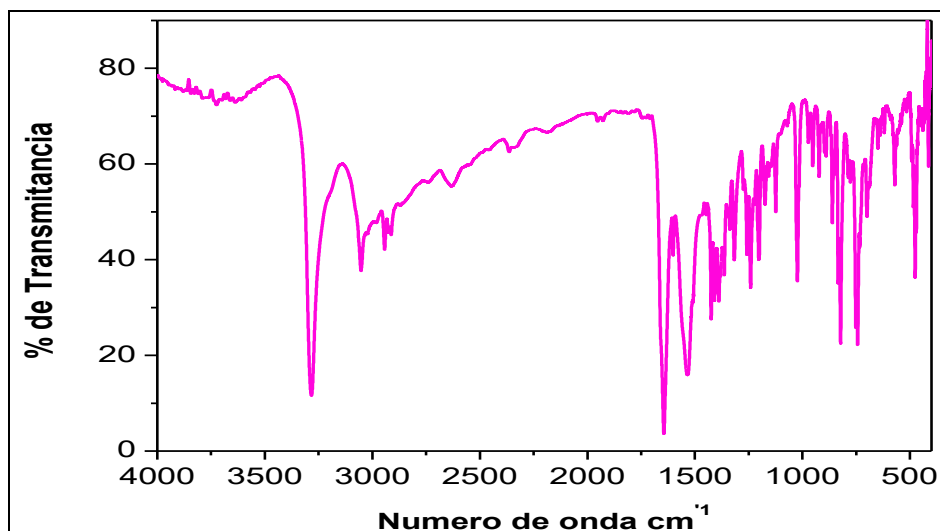


Figura 17. Espectro de IR del ligante **ESNA** en pastilla de KBr.

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Protón ^1H y de ^{13}C .

En la Figura 18, se muestra el espectro de RMN de ^1H , en DMSO- d_6 del ligante. En el espectro se observan 8 grupos de señales. En la región entre 2.7 ppm aparece un singulete correspondiente a los metilenos unidos a los grupos tioéter $\text{R-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-R}$, etiquetados con la letra **a**, la señal integra para dos hidrógenos; en 3.25 ppm aparece otro singulete correspondiente a los metilenos que se encuentran entre el grupo carbonilo de amida y el grupo tioéter, $\text{NH-CO-CH}_2\text{-S-R}$ etiquetados con la letra **b**, esta señal integra para dos hidrógenos. En 4.45 ppm aparece un doblete correspondiente a los protones etiquetados con la letra **d**, asignado a los grupos metilenos que se encuentran entre el grupo naftaleno y el grupo amida $\text{Naf-CH}_2\text{-NH-R}$, el desdoblamiento de la señal se debe al acoplamiento con el protón del NH-amida, la señal integra para dos hidrógenos. En 8.65 ppm aparece una señal en forma de triplete, correspondiente al protón unido al nitrógeno amida que se acopla con los protones etiquetados con **d**, la señal integra para un protón. En la región aromática del espectro aparecen cuatro grupos de señales, un singulete a 7.7 ppm, un doblete a 7.4 ppm y dos grupos de señales aproximadamente a 7.5 y 7.8 ppm, en los que no se puede distinguir claramente la multiplicidad. El singulete a 7.7 ppm puede asignarse sin problema al protón de la posición 1 del naftaleno, porque es el único que no tiene protones vecinos, la señal integra para un hidrógeno. El doblete a 7.4 ppm corresponde al protón de la posición 3 del anillo naftaleno, el cual tiene de vecino al protón 4 y la señal se manifiesta en forma de doblete, esta señal integra para un hidrógeno. La señal que aparece a 7.5 ppm se asignaron a los protones de las posiciones 6 y 7 del anillo naftaleno, corresponden a dos tripletes, pero las señales aparecen traslapadas, esta señal integra para dos hidrógenos. La señal que aparece en 7.8 ppm, integra para tres hidrógenos, y esta señal se asignó para los protones de las posiciones 4, 5 y 8, las cuales corresponden a dobletes que se encuentran traslapados.

El análisis de espectro, el número de señales, la posición de las señales y la relación de las áreas relativas de las mismas corresponden al producto teóricamente esperado.

En la Figura 19 se muestra el espectro de ^{13}C donde se encontraron 17 señales de carbonos diferentes. Para este análisis fue necesario preparar la muestra en una mezcla de solventes, en DMSO- d_6 y etanol para aumentar la solubilidad del compuesto. Las señales que aparecen en 19 y 58 ppm corresponden a la señal del etanol y la señal en 39 corresponde a la señal de DMSO, el resto de las señales corresponden a las señales del ligante sintetizado en este trabajo, a continuación se señale la asignación de cada una. La señal que aparece en 32

ppm corresponde al carbono etiquetado con la letra **a**, que se encuentran entre los grupos tioéter, en 38 ppm aparece la señal del carbono etiquetado con la letra **b**, en 42 ppm aparece la señal del carbono etiquetado con la letra **d**. en la región entre 120 y 140 ppm aparece 10 señales correspondientes a los carbonos del anillo de naftaleno y en 170 ppm aparece la señal correspondiente a carbono de grupo carbonilo de grupo amida. Este análisis nos indica los diferentes tipos de carbonos presentes en la molécula esperada.

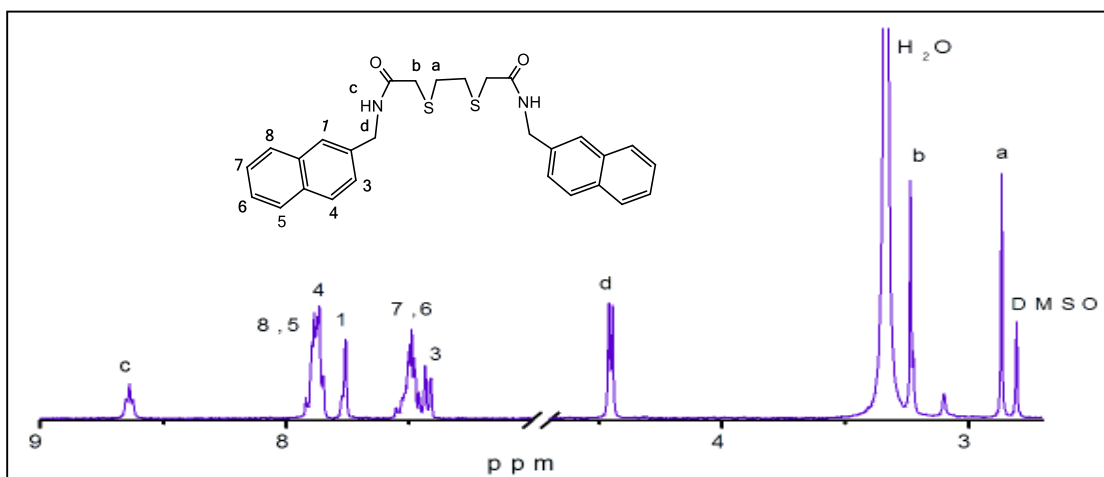


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H del ligante **ESNA** en DMSO-d₆.

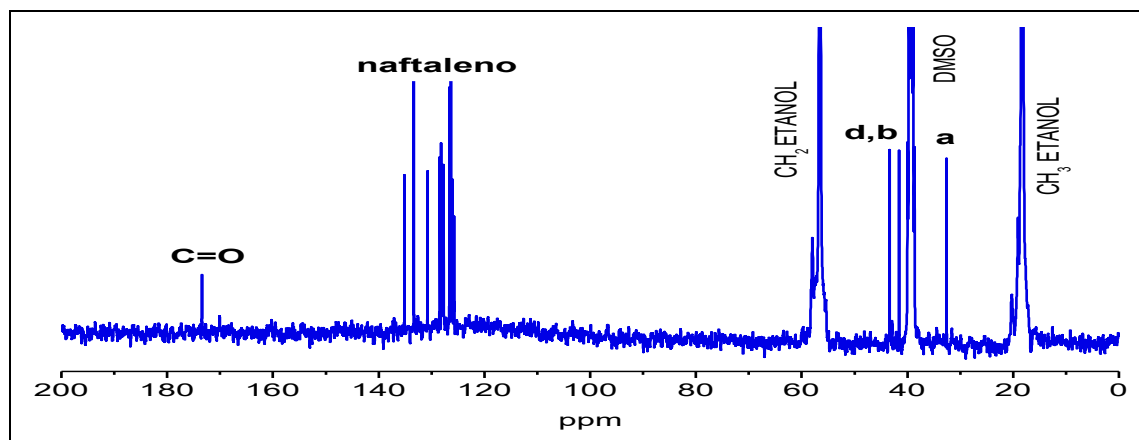


Figura 19. El espectro de RMN de ^{13}C del ligante **ESNA** en DMSO-d₆/Etanol.

Espectrometría de Masas.

En la Figura 20 se muestra el espectrograma de masas por la técnica de impacto electrónico del ligante **ESNA**. Este método se caracteriza porque la ionización se hace por bombardeo de electrones provocando que la molécula se fragmente y en el espectrograma aparecen las señales de las diferentes fracciones de la molécula, representado como m/z contra abundancia relativa de las diferentes fracciones. En 488.2 aparece la señal del pico base (M^+), que corresponde al pico de la molécula completa. El pico más abundante aparece en la posición de m/z de 141.1, esta señal corresponde al fragmento del anillo de naftaleno con grupo metileno unido, esto indica que en el rompimiento ocurrió entre el anillo naftaleno y el grupo amida. En 198.1 aparece una señal que corresponde a la fracción de la molécula naftaleno- $\text{CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{-}$. La señal que aparece en 231.1, corresponde a la fracción $\text{NH-CO-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CO-NH}$ más un átomo de sodio. Las diferentes señales que aparecen nos indican el peso molecular del producto esperado.

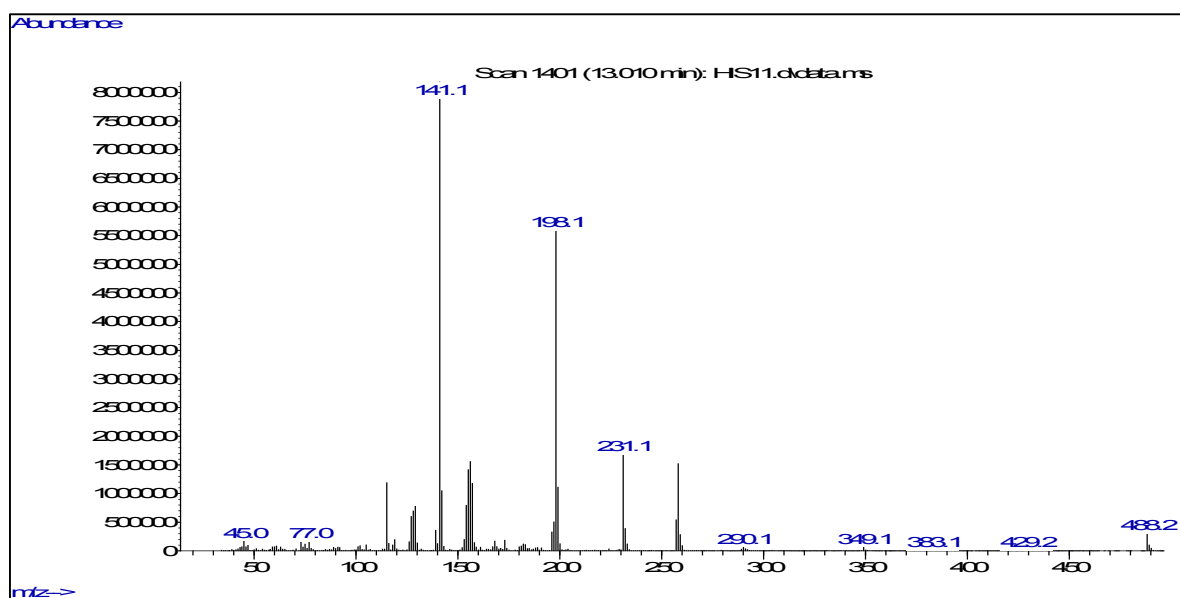


Figura 20. Espectro de masas por la técnica de impacto electrónico del ligante **ESNA**.

Espectroscopia de Ultravioleta-Visible (UV-Vis).

En la Figura 21, se muestran el espectro de absorción del ligante **ESNA** en etanol con una concentración de 1×10^{-5} M. El espectro presenta dos bandas una a 230 nm y otra banda estructurada con máximos a 265 nm ($\epsilon_{\text{max}} = 1.38 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 276 nm

($\epsilon_{\max} = 1.42 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y 287 nm ($\epsilon_{\max} = 0.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Por los valores de los coeficientes de extinción molar las señales pueden asignarse a transiciones del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, lo cual indica la presencia de anillos aromáticos en la molécula, y la posición de la banda a menor energía coinciden con lo reportado por Grabner G. y colaboradores acerca de los espectros de UV-visible para la molécula de naftaleno, (Grabner y col., 2000).

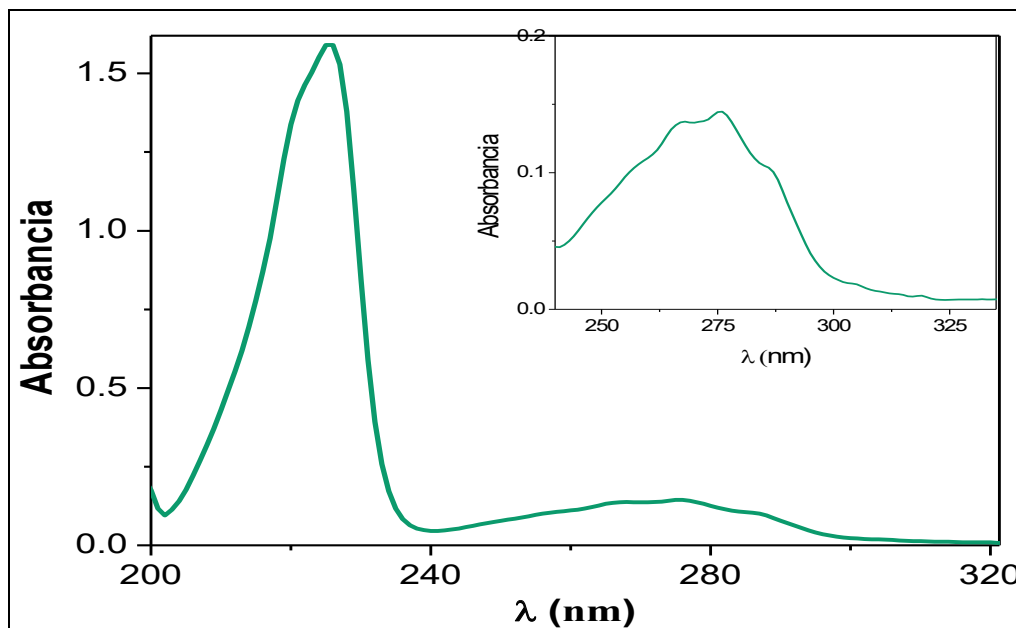


Figura 21. Espectro de absorción del ligante **ESNA**, en etanol concentración $1 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Espectroscopia de Fluorescencia.

En la Figura 22 se muestran los espectros de excitación y emisión del ligante **ESNA** en solución de concentración 1×10^{-6} en etanol. El espectro de excitación, presenta dos bandas: una centrada a 220 nm y otra a 276 nm. Con cualquiera de estas dos longitudes de onda produce el espectro de emisión. El espectro de emisión está constituido de dos bandas: una banda estructurada centrada a 338 nm, la cual corresponde a emisión de monómero de naftaleno, y una banda ancha centrada a 404 nm característica de emisión de excímero de naftaleno. (Machi y col., 2007). La forma de los espectros de fluorescencia es similar a los reportados por Machi y colaboradores, quienes describen ligantes biscromóforicos donde la unidad de interconexión entre los grupos naftalenos es una unidad de EDTA.

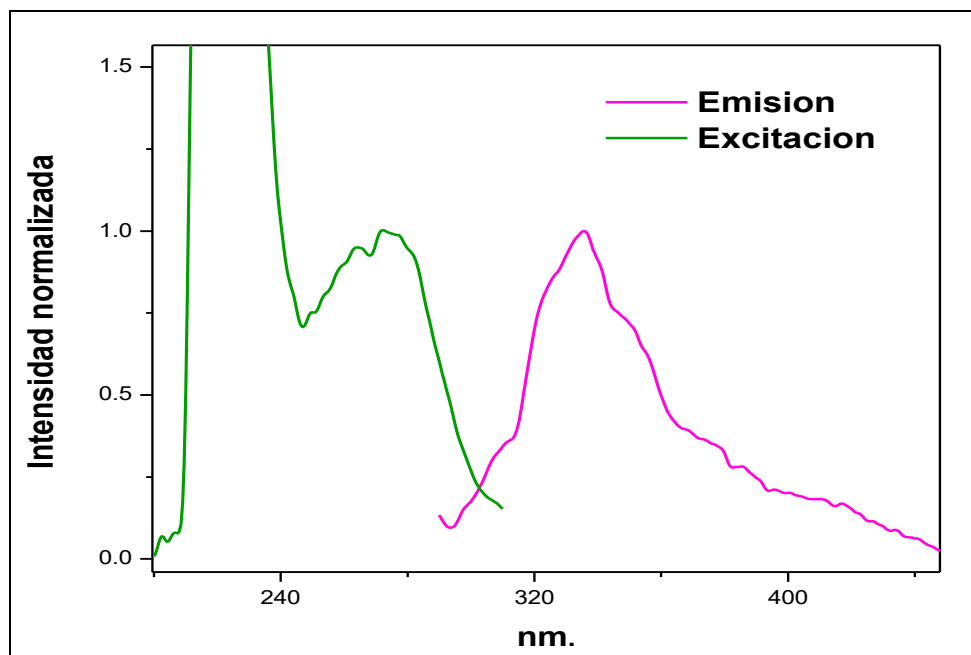


Figura 22. Espectro electrónico de fluorescencia del ligando **ESNA**.

También los espectros de fluorescencia del ligante **ESNA** coinciden con lo reportado por el grupo de Investigación del Dr. Enrique García España, quienes han reportado síntesis de ligantes acíclicos así como de macrocíclicos del tipo poliaza, donde las unidades son grupos de naftaleno, coincidiendo en la posición y forma de las bandas de emisión. (Rodríguez y col, 2008), (Clares y col, 2004). La formación de excímeros depende de varios factores como son el tipo de solvente, la dimensión de la cadena que separa a los dos cromóforos, la geometría de la molécula, cambios conformacionales en el estado excitado y/o por efecto de la coordinación. Está reportado por Ying-Hsia Li y colaboradores que la polaridad del solvente influye grandemente en la formación de los excímeros, favoreciéndose en solventes polares, como es el caso del estudio en este trabajo, donde las mediciones se realizaron en etanol, un solvente polar, (Li y col, 1975). Otro factor importante para la formación de excímero intramoleculares es la longitud y flexibilidad del grupo espaciador entre los dos fluoróforos, reportes de Seixas de Melo y colaboradores que trabajaron con moléculas de poliaminas con grupos naftil en los extremos, encontraron que la formación de excímero depende de la longitud de la poliamina, (Seixas de Melo y col, 2002).

Los resultados obtenidos en la caracterización del compuesto por las diferentes técnicas utilizadas nos confirman la obtención del producto esperado y que se encuentra puro.

Evaluación de la Capacidad Sensora del Ligante *ESNA*, para Metales.

Otro de los objetivos en este trabajo es realizar estudios de coordinación en solución y evaluarlos por la técnica de fluorescencia. La selectividad que presente un ligante hacia un metal depende de varios factores como: 1) los tipos de átomos donadores que presente la molécula y 2) la topología que presente el ligante para que permita la interacción con el ion metálico.

En el caso de la molécula sintetizada en este trabajo, la cual presenta como átomos donadores los grupos tioéter y amidas se eligieron para llevar a cabo estudios de comportamiento de sensor a los iones Ag^+ , Cd^{2+} , Au^{3+} , Hg^+ , Ni^{2+} y Zn^{2+} por ser cationes suaves, los cuales presentan compatibilidad con los grupos presentes en la molécula. La evaluación se llevó a cabo por la técnica de fluorescencia, esto como resultado que el ligante *ESNA* presenta fluorescencia.

Para evaluar la capacidad de reconocimiento del ligante *ESNA* hacia los diferentes metales seleccionados, se preparó primeramente una serie de soluciones en etanol del ligante a diferentes concentraciones desde 1×10^{-3} hasta 1×10^{-7} M. Se encontró que la concentración más adecuada para trabajar fue la de 1×10^{-6} M.

Para la evaluación de la respuesta sensora del ligante con los diferentes metales seleccionados se llevó a cabo un estudio cualitativo de la formación del complejo, el cual consistió en lo siguiente: se colocaron 3 mL de la solución del ligante de una concentración de 1×10^{-6} M en etanol, en la celda de fluorescencia y se le adicionaron 10 μL de la solución del metal a evaluar de concentración 0.01 M, se agitó por 3 minutos y se tomó el espectro de emisión utilizando una longitud de onda de excitación de 273 nm. Al adicionar el metal este se encuentra en exceso, 30 veces más concentrado el metal que el ligante, esto es con la finalidad de que todo el ligante forme complejo con el metal y evaluar si presenta un cambio en sus propiedades de emisión. Los espectros de este estudio se muestran en la Figura 23. Como se puede ver en la figura los iones Ni^{2+} , Cd^{2+} y Hg^+ , no produjeron ningún cambio en el espectro, lo que nos puede indicar dos posibilidades: 1) que no existe interacción entre el ligante y el metal ó 2) que si existe interacción pero la transducción de la interacción no es buena. La presencia de la plata provocó una disminución en la banda de emisión del ligante y un corrimiento hacia el azul del máximo de emisión de aproximadamente 15 nm. En el caso del ion Zn^{2+} , se observó un

aumento en la banda de emisión de 400 nm, lo que nos indica que al interaccionar con el ion favorece el apilamiento de los anillos de naftaleno. En el caso del ion Au^{3+} , se observó un apagamiento total de la emisión de fluorescencia del ligante **ESNA**.

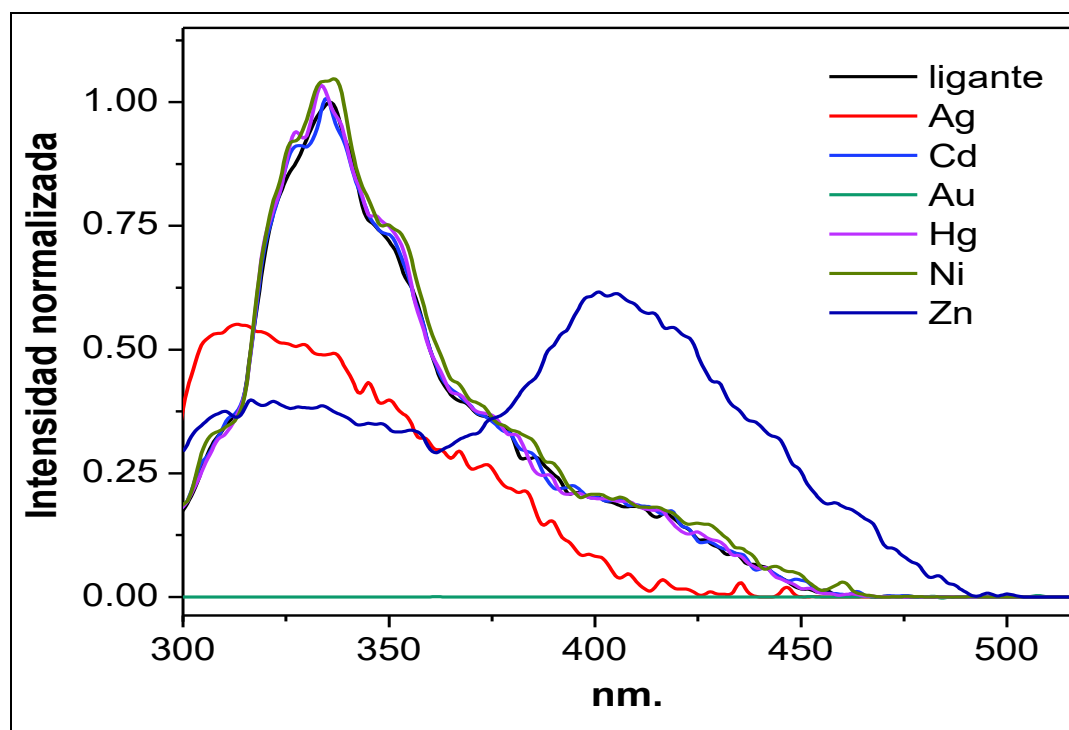


Figura 23. Espectros de emisión del ligante **ESNA**, y de sus complejos en solución con los iones Ag^+ , Cd^{2+} , Au^{3+} , Hg^+ , Ni^{2+} y Zn^{2+} . $\lambda_{\text{ex}} = 273 \text{ nm}$, $[\text{M}]/[\text{L}] = 30$. $[\text{ESNA}] = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ en etanol.

Con la finalidad de realizar un estudio más detallado de la respuesta observada en las pruebas cualitativas, se llevó a cabo un estudio de titulaciones espectrofluorimétricas de los iones Ag^+ , Au^{3+} y Zn^{2+} . Para el estudio se colocaron 3.0 mL del ligante de concentración $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ y se le adicionaron alícuotas de 10 μL de concentración $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ de la solución del metal, para variar la relación $[\text{M}]/[\text{L}]$ en proporciones de 0.1 en cada adición y poder además determinar la estequiometría del complejo.

Titulaciones espectrofluorimétricas con Ag^+

En la Figura 24 se presentan los espectros de emisión del ligante en etanol en presencia de diferentes concentraciones del ion Ag^+ . En este estudio se observó que el metal no provoca ningún cambio en la banda de emisión del ligante donde las relaciones de los equivalentes se encuentran entre 0 y 1, pero a concentración mayor provoca un amortiguamiento de la fluorescencia, llegando a un apagamiento del 50% cuando la relación de equivalentes es de 30. Se encuentran reportados dos mecanismos por el cual la plata apaga la fluorescencia de grupos aromáticos como es el naftaleno. Un mecanismo es la formación de un exciplex entre los naftalenos con el ion plata, pero en los espectros obtenidos en esta titulación no se observa una nueva banda de emisión a mayor longitud de onda. Un exciplex se define como la formación de un complejo entre el anillo aromático en el estado excitado y otra molécula o ion en el estado basal. El segundo mecanismo propuesto es el que el metal provoca un cruzamiento de sistema del estado de singlete excitado al estado de triplete, provocando el apagamiento de la emisión de fluorescencia, (Masuhara y col., 1984).

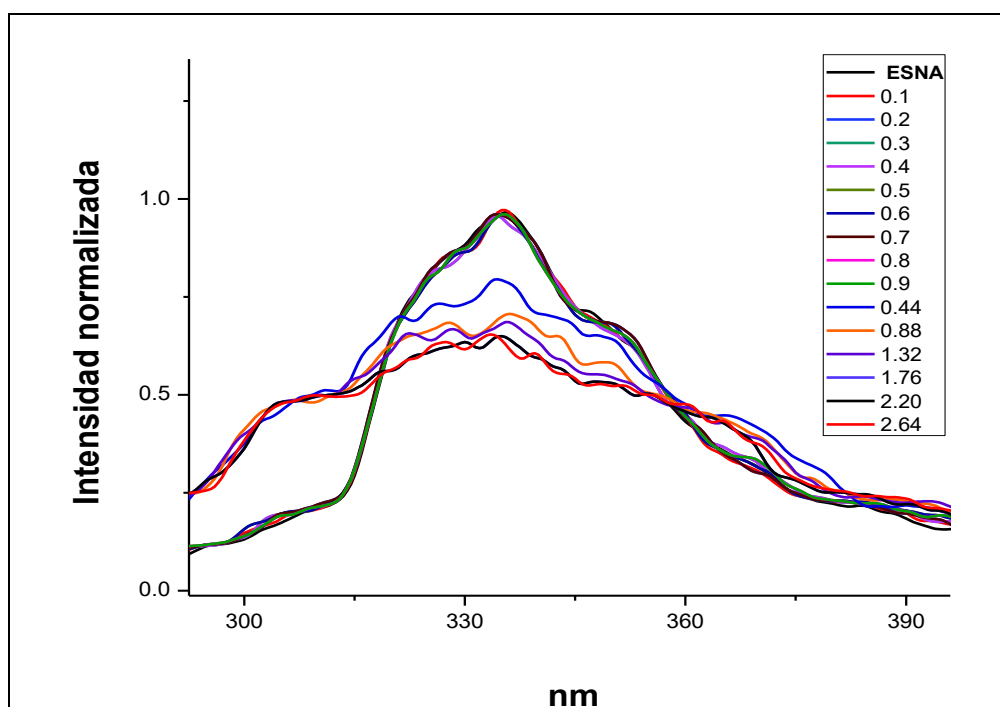


Figura 24. Espectros de emisión de **ESNA**, a diferentes relaciones $[\text{Ag}^{2+}]/[\text{ESNA}]$ $\lambda_{\text{ex}} = 273 \text{ nm}$, $[\text{ESNA}] = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$, en etanol.

Titulaciones espectrofluorimétricas con Zn^{2+}

En la Figura 25 se muestran los espectros de la titulación con el ion Zn^{2+} a una concentración 30 veces mayor que la del ligante. Como se puede observar al ir adicionando las alícuotas del metal, la banda de emisión de excímero se fue intensificando, sin modificarse la banda de emisión del monómero. Esta respuesta es interesante, debido a que al formarse el complejo, el arreglo que adquiere la molécula permite que los anillos de naftaleno se acerquen para que se forme el excímero de naftaleno. Se encuentra documentado que una de los mecanismos de formación de excímero es por efecto de la coordinación, (Kawakami y col, 2002). Kawakami y colaboradores reportan el reconocimiento selectivo al ion Zn^{2+} con la formación de excímero intramolecular en un ligante que presenta grupos ésteres y piridina como unidades coordinantes y naftaleno una unidad fluorófora. Al coordinar la molécula induce la interacción vía apilamiento π de las dos subunidades de naftaleno, presentando la emisión a 400 nm debido a la formación de excímero, el cual coincide con lo encontrado en el estudio de reconocimiento del ligante **ESNA** con el Zn^{2+} . La posición de la banda de emisión del excímero indica que la orientación de los anillos es del tipo cara a cara, (Machi y col, 2006).

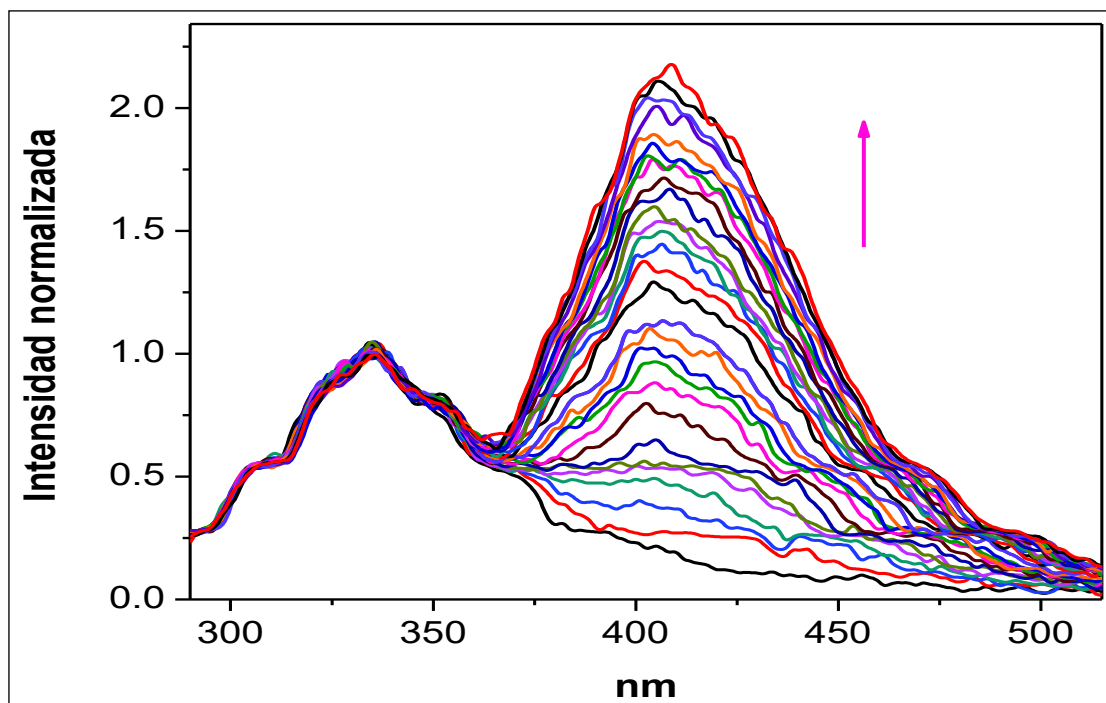


Figura 25. Espectros de emisión de **ESNA**, a diferentes relaciones $[Zn^{2+}]/[ESNA]$ desde 0 a 900 $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M, en etanol.

Con el propósito de visualizar mejor el cambio en la emisión se graficó la variación de la intensidad de monómero (IM) (a 335 nm) entre la intensidad de excímero (IE) (a 400 nm), con respecto a la relación $[Zn^{2+}]/[L]$, la gráfica se muestra en la

Figura 26. Como se puede ver en la figura los cambios más significativos ocurren entre las relaciones de 0 a 200, y a relaciones mayores el cambio fue menor. Con el fin de poder explicar los resultados obtenidos en la interacción del ligante ESNA con el ion Zn^{2+} , se realizó un estudio de modelado molecular. El modelado molecular es una herramienta que actualmente es utilizado para modelar, imitar y predecir el comportamiento de una molécula. Para este estudio se le solicitó ayuda al Dr. Zeferino Ramírez del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales. El modelado se realizó empleando el método semi-empírico PM6 (Stewart, 2007). Utilizando el programa MOPAC2012 (Stewart, 2012).

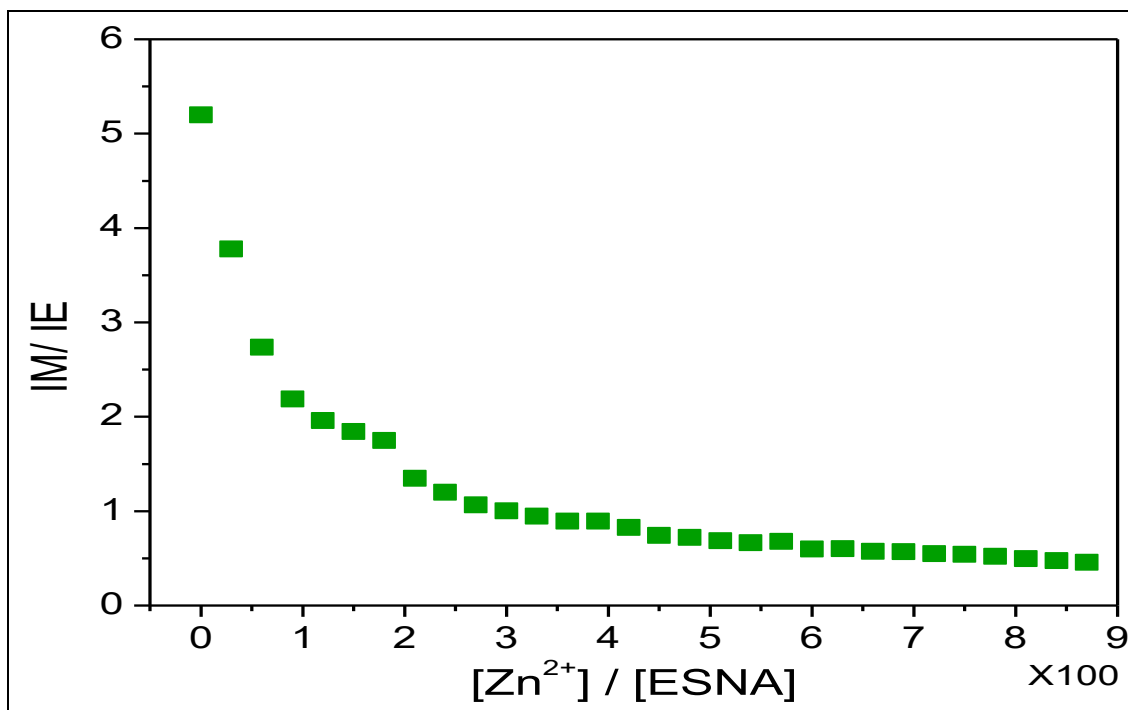


Figura 26. Variación de la razón I_M/I_E por efecto de Zn^{2+} . $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M/etanol.

En la Figura 27 se muestra la propuesta del arreglo de la molécula ESNA en forma libre, donde se puede observar que los anillos de naftaleno se encuentran cercanos uno del otro, lo que nos sugiere la formación de excímero intramolecular, y este arreglo concuerda con lo

observado en el espectro de emisión del ligante libre. El cálculo se basa en la molécula en el estado gaseoso, probablemente al tener la molécula en solución la interacción de los anillos de naftaleno se favorece por las interacciones hidrofóbicas.

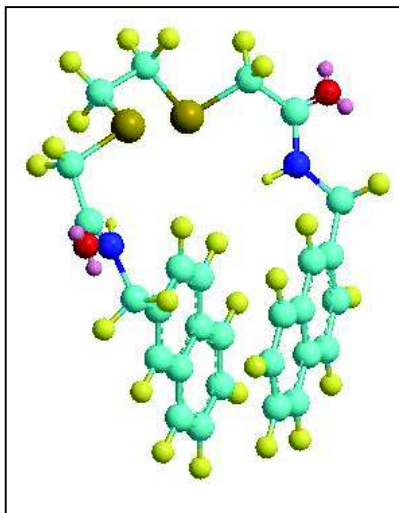


Figura 27. Geometría optimizada para la molécula **ESNA** por el método semi-empírico MP6.

Para la optimización de la geometría del complejo entre el ion Zn^{2+} y el ligante se utilizó el mismo modelo de cálculo utilizado para el ligante en su forma libre. En este modelado se consideró las posibles interacciones que se pueden llevar a cabo entre la molécula y el ion Zn^{2+} . Existen varias posibilidades de interacción, ya que en la molécula presenta grupos donadores de azufre, oxígeno y nitrógeno. Se realizaron cálculos de las posibilidades siguientes: 1) interacción con los grupos tioéter y con los oxígenos de los grupos amidas y 2) interacción con los grupos tioéter y con los nitrógenos del grupo amida.

En la figura 28 se muestra la propuesta de la coordinación del ion zinc con el ligante, donde se puede observar que la coordinación ocurre con los grupos tioéter y con los nitrógenos del grupo amida, este arreglo favorece el acercamiento de los anillos de naftaleno, lo que nos ayuda a explicar el incremento en la intensidad de la banda del excímero. La forma más común del ion Zn^{2+} para coordinar es de tipo tetraédrico lo que concuerda con el modelo obtenido, aunque también puede presentar octaédrico. (Zhang, 2012).

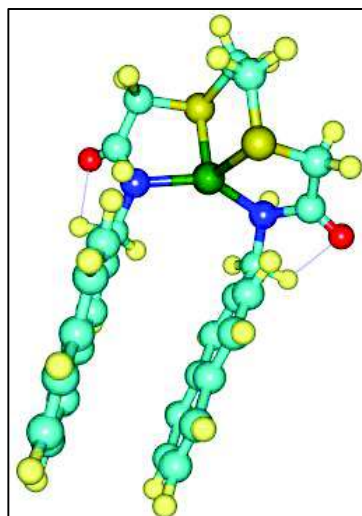


Figura 28. Geometría optimizada para el complejo $Zn^{2+}/ESNA$ por el método semi-empírico MP6.

Titulaciones espectrofluorimétricas con Au^{3+}

En la Figura 29 se muestra la respuesta del ligante a la presencia de los iones Au^{3+} , como se observa en la figura el efecto de la presencia del metal provocó la amortiguación de emisión de fluorescencia del monómero de naftaleno y en la Figura 30 se muestra como cambio la intensidad de fluorescencia en la banda de monómero a la longitud de onda de 335 nm a las diferentes relaciones $[Au^{3+}]/[L]$, como se observa en la figura el cambio fue gradual presentando los cambios más marcados en la relación 0 a 1 y a relaciones mayores los cambios fueron pequeños. De esta gráfica se puede observar que en la relación 1 a 1 el metal amortiguó a la fluorescencia en un 50% y en relación 2:1 la amortiguación es del 60%. Revisando en la bibliografía no se encuentran reportes de sistemas de Au^{3+} con ligantes bicromofóricos, por lo que la respuesta obtenida en este trabajo es novedosa, ya que se puede utilizar como sensor para este metal. Los reportes encontrados donde el Au^{3+} apague la fluorescencia son en sistemas de tipo nanosensores fluorescentes donde la base es el silicio. La respuesta presentada por los nanosensores, reportados por Zhiguang Song y colaboradores, a la presencia del ion Au^{3+} es muy parecida a la del ligante **ESNA**. El proceso por el cual el metal apaga la fluorescencia es atribuido a un proceso de transferencia de energía. Este mecanismo de amortiguación de la fluorescencia depende directamente de la distancia entre el metal-fluoróforo. En el sistema estudiado en este trabajo, el que absorbe la energía es el ligante y le transfiere la energía al ion Au^{3+} , que este se relaja por mecanismos no radiativos, (Song y col, 2012).

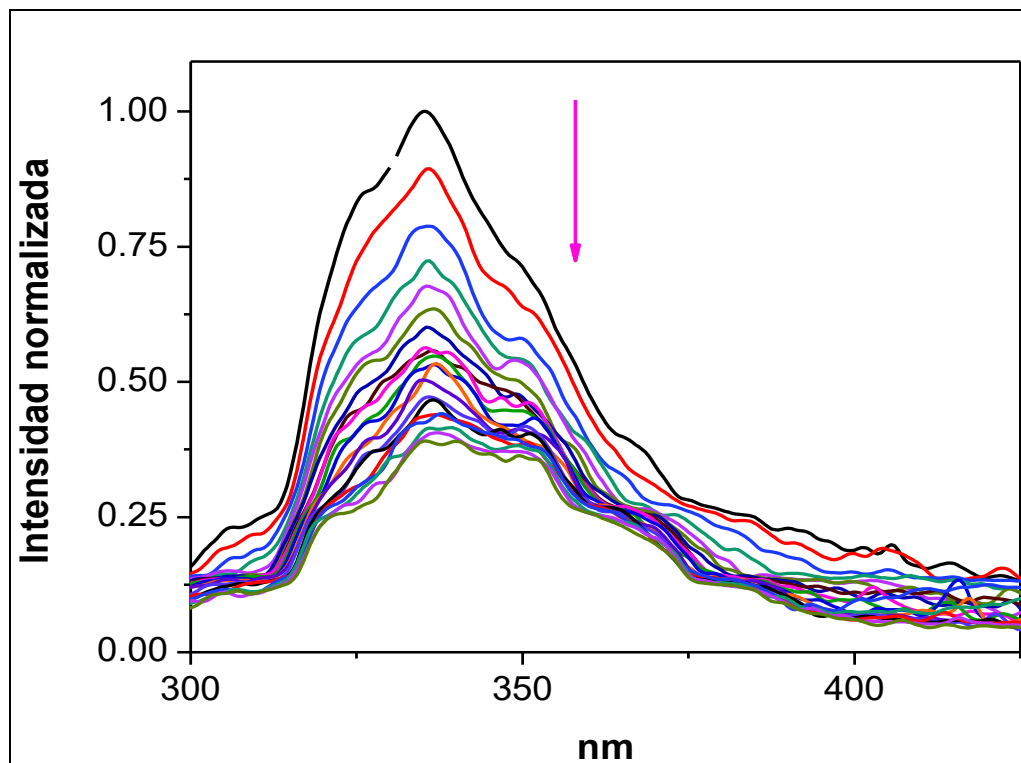


Figura 29. Espectros de emisión de ESNA, a diferentes relaciones $[Au^{3+}]/[ESNA]$ desde 0 a 2 $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M, en etanol.

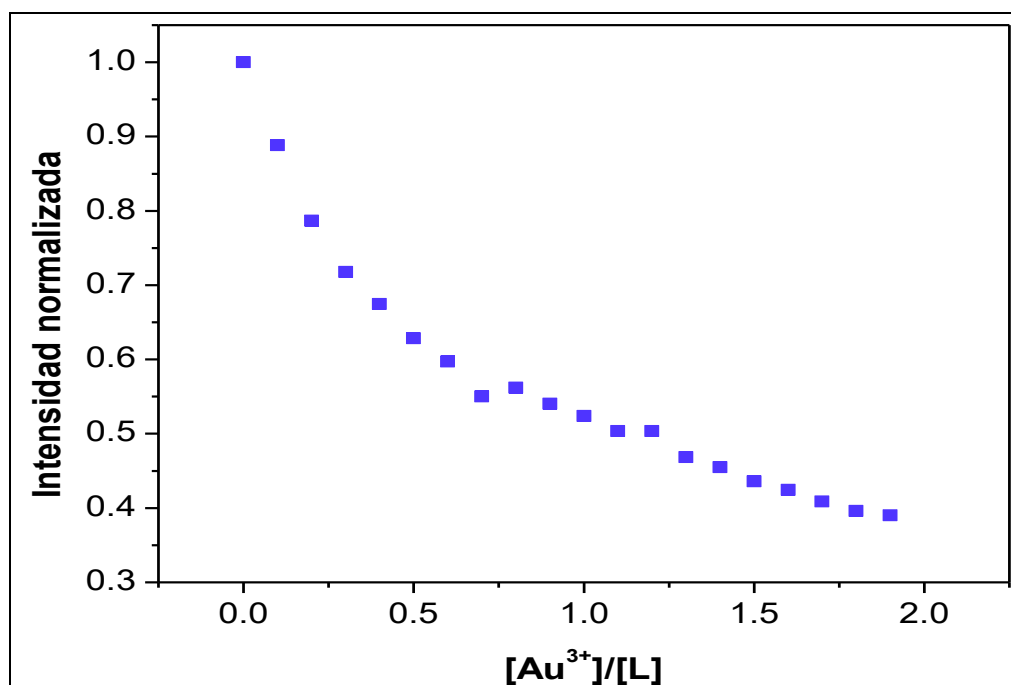


Figura 30. Variación de I_M por efecto de la concentración de Au^{3+} . $\lambda_{ex}= 273$ nm, $[ESNA]= 1 \times 10^{-6}$ M, en etanol.

CONCLUSIONES

Se sintetizó un nuevo ligante fluorescente bicromofórico a partir de la reacción entre el ácido 2,2'-(etilenditio) diacético y la amina 2-Naftalen-il-metilamina (ESNA), se obtuvo con un alto rendimiento del 98%. El análisis de RMN de ^1H y ^{13}C , masas, punto de fusión e IR confirmó la pureza del producto.

El ligante **ESNA** presenta en su espectro de emisión dos bandas una banda estructurada centrada a 338 nm, la cual corresponde a emisión de monómero de naftaleno, y una banda ancha centrada a 404 nm característica de emisión de excímero de naftaleno. El modelado molecular de la molécula por el método semi-empírico PM6 indica que la molécula presenta un arreglo en que los anillos de naftaleno se encuentran cara a cara.

La evaluación de la respuesta sensora del ligante **ESNA**, en solución en etanol, hacia los iones Ag^+ , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Hg^+ , Zn^{2+} y Au^{3+} reveló que los iones Ag^+ , Ni^{2+} , Cd^{2+} y Hg^+ no provocan un cambio significativo en las bandas de emisión del ligante, mientras que los iones Au^{3+} y Zn^{2+} la respuesta fue destacada.

La coordinación del ligante con el ion Zn^{2+} , provocó un aumento en la emisión de excímero de naftaleno, mientras que la banda de monómero se mantuvo constante. La intensificación de la banda de excímero indica que al ocurrir la formación del complejo los anillos de naftaleno adquieren un arreglo cara a cara. El estudio de modelado molecular por el método semi-empírico PM6, indica que la posible coordinación del metal con el ligante ocurre con los grupos tioéter y con los nitrógenos del grupo amida.

El ligante mostró un apagamiento gradual en su banda de emisión de monómero al aumentar la presencia de iones Au^{3+} apagándola en más del 50% y esto se atribuye al proceso de transferencia de energía.

RECOMENDACIONES

- 1) Intentar la formación de cristales, tanto del ligante libre como de los complejos con zinc y oro para caracterizarlos mediante cristalografía de rayos-X de monocristal.
- 2) Realizar un estudio de Job para confirmar la estequiometría de la formación de los complejos.
- 3) Realizar estudios por fluorescencia de la interacción con otros iones metales.
- 4) Realizar estudios de interferencia de otros iones para evaluar si la respuesta se mantiene para los iones zinc y oro.
- 5) Evaluar la respuesta del ligante en muestras reales.

BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal S. K. **2009**. Heavy Metal Pollution. New Delhi. A.P.H. Pub. Corp. 1 p.
- Ansari T, Marr I, Tariq N. **2004**. Heavy Metals in Marine Pollution Perspective. Journal of Applied Sciencies. 4(1), 1-20.
- Ariga K., Kunitake, Toyoki. **2006**. Supramolecular Chemistry: fundamentals and applications. Springer Distribution Center GmbH.
- Bargossi C, Fiorini M.C, Montalti M, Prodi L, y Zaccheroni N. **2000**. "Recent developments in transition metal ion detection by luminescent chemosensors", *Coord. Chem. Rev.* 208. 17-32.
- Banerjee A, Sahana A, Guha S, Lohar S, Hauli I, Mukhopadhyay S, Matalobos J, Das D. **2012**. Nickel(II)-Induced Excimer Formation of a Naphthalene-Based Fluorescent Probe for Living Cell Imaging. American Chemical Society. *Inorg. Chem.* 51, 5699–5704.
- Basabe-Desmonts L, Reinhoudt D, Crego-Calama M. **2007**. Desing of fluorescent materials for chemical sensing. *Chemical society reviews*, 36 (6), 993-1017.
- Basiuk E, Gomez J, Basiuk V. **2000**. Química supramolecular de los compuestos obtenidos por la combinación entre los macrociclos poliazas y los ácidos aromáticos. *Journal of the Mexican Chemical Society*, Vol. Octubre- Diciembre, 289-293.
- Carey F. A. **2006**. Química Orgánica. 6ta edición. México DF. Editorial McGraw-Hill.
- Carvalho S. **2011**. Productos químicos y género. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo ©.
- Chang R. **2010**. Química. 10ma ed. México DF. McGraw-Hill. 88-89 p.
- Christian G. D. **2009**. Química Analítica. 6ta ed. México DF. McGraw-Hill. 469-472 p.

- Clares M, Aguilar Juan, Aucejo Ricardo, Lodeiro Carlos, Teresa A, Pina F, Lima J, Parola A, Pina J, Seixas de Melo J, Soriano C, García-España E. **2004**. Synthesis and H⁺, Cu²⁺, and Zn²⁺ Coordination Behavior of a Bis(fluorophoric) Bibrachial Lariat Aza-Crown *Inorg. Chem.* **43**, 6114-6122).
- De Melo J. S, Albelda, M. T, Diaz P, Garcia-Espana E, Lodeiro C, Alves S, Soriano, C. **2002**. Ground and excited state properties of polyamine chains bearing two terminal naphthalene units. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*(5), 991-998.
- Fox M. A., Whitesell J. K. **2000**. *Química Orgánica*. 2da edición. México DF. Editorial Pearson.
- Grabner G, Rechthaler K, Mayer B, Kholer G. **2000**. Solvent Influences on the Photophysics of Naphthalene: Fluorescence and Triplet State Properties in Aqueous Solutions and Cyclodextrin Complexes, *J.Phys. Chem. A.*, **104**, 1365-1375.
- Hakan A, Biyiklioğlu Z. **2007**. New Heavy Metal Ion-Selective Macrocyclic Ligands with Nitrogen and Sulfur Donor Atoms and their Extractant Properties. *Separation Science and Technology*. Taylor & Francis Group. **42**(10): 835-845.
- Hatley J, James T, Ward C. **2000**. Synthetic Receptors. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 2000; 3155-84.
- Hernández L, González C. **2002**. *Introducción al análisis instrumental*. 1ª ed. Barcelona. Ariel Ciencia. 53-55, 94-102 p.
- Housecraft C, Sharpe A. **2005**. *Inorganic Chemistry*. 2da Edición. Pearson Prentice Hall.
- Jiskoot W, Visser A, Herron J.N, Sutter M. **2005**. Fluorescence Spectroscopy. En *Methods for Structural Analysis of Protein Pharmaceuticals*. W. Jiskoot & Crommelin (editores), AAPS Press, Arlington, VA, Capitulo 2.
- Kawakami J, Niiyama T, Ito S. **2002**. Intramolecular Excimer Formation and Complexing Behavior of Tridentate Pyridine Podand Having Two Naphthalene Rings as a Fluorescent Chemosensor for Zinc Ion. *Analytical Science*. **18**, 735-735.

- Lehn J. **1995**. Supramolecular chemistry: Concepts and perspectives. Federal Republic of Germany, 262 p.
- Li Y, Chan L, Tyler L, Moody R.T, Himel C.M, Hercules D.M. **1975**. "Study of Solvent Effects on the Fluorescence of 1-(Dimethylamino)-5-naphthalenesulfonic Acid and Related Compounds", *J. Am. Chem. Soc.* 97, 3118-3126.
- Machi L, Santacruz H, Sánchez M, Inoue M. **2006**. Bichromophoric Naphthalene Derivates of Ethylenediaminetetraacetate: Fluorescence from Intramolecular Excimer, Protonation and Complexation with Zn²⁺ and Cd²⁺. *Supramolecular Chemistry*, 18, 561-569.
- Machi L, Santacruz H, Sánchez M, Inoue M. **2007**. Cd²⁺-sensing bichromophore: Excimer emission from an EDTA-methylnaphthalene derivative. *Inorganic Chemistry Communications* 10, 547-550.
- Masuhara H , Shioyama H, Saito T, Hamada K, Yasoshima S, Mataga N. **1984**. Fluorescence quenching mechanism of aromatic hydrocarbons by closed-shell heavy metal ions in aqueous and organic solutions. *J. Phys. Chem.*, 88 (24), pp 5868–5873.
- McMurry J, Lanto M, Hernández J, Vázquez A. **2008**. Química Orgánica. 7a ed. México. Cengage Learning. 409-411, 500-501 p.
- Mencías E, Mayero L. **2000**. Manual de toxicología básica. Madrid, España. Díaz de Santos. 619-621 p.
- Morrison R. T, Boyd R. N. **1998**. Química Orgánica. 5ta ed. México DF. Pearson Education. 560-562 p.
- Ning Y. **2005**. Structural Identification of Organic Compounds with Spectroscopic Techniques. WILEY-VCH. 215-220 p.
- Pascual S. **2005**. Síntesis de Polímeros que incorporan sistemas receptores de aniones: Estudio de sus aplicaciones como dosímetros y quimiosensores. Tesis de doctorado. Universidad de Burgos. 17-19.

- Pina G, Ochoa A, Rivero I. **2009**. Solid Phase Synthesis of N-Alkyl-bis-o-aminobenzamides for Metal Ion Sensing Based on a Fluorescent Dansyl Platform. *Journal of Combinatorial Chemistry*, Vol. 11, 83–90.
- Prodi L, Bolletta F, Montalti M, Zaccheroni N. **2000**. Luminescent chemosensors for transition metal ions. *Coordination Chemistry Reviews*. 205(1), 59-83.
- Rodríguez L, Lima J, Parola A, Pina F, Meitz R, Aucejo R, Garcia-España E, Llinares J, Soriano C, Alarcón J. **2008**. Anion Detection by Fluorescent Zn(II) Complexes of Functionalized Polyamine Ligands. *Inorg. Chem.*, 47, 6173-6183.
- Sanchis J. **2005**. Síntesis y evaluación de la capacidad complejante de ligandos nitrogenados derivados de bifenilos sustituidos. Tesis de doctorado. Universidad de Valencia. 18, 25 P.
- Secretaría de Economía del Estado de Sonora. **2013**. La minería en la economía de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Seixas de Melo J, Albelda M.T, Díaz P, García-España E, Lodeiro C, Alves S, Lima J.C, Pina F, Soriano C. **2002**. "Ground and Excited State Properties of Polyamine Chains Bearing Two Terminal Naphthalene Units", *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 991-998.
- Skoog D. A, West D. M, Holler F. J. **2001**. Química Analítica. 7ma ed. México DF. McGraw-Hill. 615-616 p.
- Skoog D, Holler F, Crouch S. **2008**. Principios de análisis instrumental. 6a ed. México. Cengage Learning. 402-404 p.
- Skoog D, Holler F, Nieman T. **2001**. Principios de análisis instrumental. 5a ed. España. McGRAW-HILL. 381-395, 409-412, 435-436 p.
- Song Z, Xiao C, Dai Y, Fei Q, Huan Y, Feng G. **2012**. Fluorescence quenching amplification in silica nanosensors for Au³⁺. *Nanotechnology* 23, 425501 (8pp).

Steed J. W, Atwood J. L. **2009**. Supramolecular Chemistry. Second Edition. John Wiley & Sons, UK. 27-30 p.

Stewart J. **2007**. Optimization of Parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. Journal of Molecular Modeling. Vol 13. Issue 12 pages 1173-1213.

Stewart J. **2012**. Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net).

Swager T. M. **1998**. The Molecular Wire Approach to Sensory Signal Amplification. *Accounts of Chemical Research* 31 (5), 201-207.

Valeur B, Badaoui F, Bardez E, Bourson J, Boutin P, Chatelain A, Devol I, Larrey B, Lefevre J.P, Soulet A. **1997**. Cation-Responsive Fluorescent Sensors. Understanding of structural and environmental effects. En J.P. Desvergne y A.W. Czarnik (editores), Chemosensors of Ion and Molecular Recognition. Editorial Kluwer Academic Publisher. Holanda. 195-220.

Valenzuela C. **1995**. Química General. Introducción a la química teórica. Universidad de Salamanca. Pag. 509.

Valuer B. **2002**. Molecular fluorescence: principles and applications. Wiley-VCH: Weinheim.

Wade L.G, JR. **2004**. Química Orgánica. 5ta edición. Madrid. Editorial Pearson.

Wade L.G, JR. **2010**. Organic Chemistry. 7th edition. United States of America. Pearson Prentice Hall.

Zhang J, Yang W, Piquemal J, Ren R. **2012**. Modeling Structural Coordination and Ligand Binding in Zinc Proteins with a polarizable Potential. Journal of Chemical Theory and Computation. 8, 1314-1324.