



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Investigación Química y Química Industrial

Facultad de Química

Curso académico 2021/22

Centro Singular de Investigación en Química Biológica y Materiales

Moleculares (CiQUS).

POLÍMEROS HEICOIDALES SUPRAMOLECULARES

Carlos Nogueira Blanco

05/07/2022

D. EMILIO QUIÑOÁ CABANA, Catedrático de Química Orgánica de la Universidad de Santiago de Compostela y D. FÉLIX FREIRE IRIBARNE, Prof. Titular de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMAN: que la memoria adjunta, titulada: “Polímeros Helicoidales Supramoleculares” presentada por **Carlos Nogueira Blanco**, ha sido realizada bajo su dirección en los laboratorios del Centro Singular de Investigación en Química Biológica y Materiales Moleculares (CiQUS). Considerando que constituye un trabajo de Fin de Máster apto y autorizando su presentación en la Facultad de Química de la Universidad de Santiago de Compostela.

Santiago de Compostela a 5 de julio de 2022

Fdo.:



Emilio Quiñoá Cabana



Félix Freire Iribarne

ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
$[\alpha]_D$	Rotación Óptica Específica
Abs	Absorbancia
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AFM	Microscopía de Fuerza Atómica
<i>ap</i>	<i>Antiperiplanar</i>
d	Doblete
CD	Dicroísmo Circular
CV	Coefficiente de Variación
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
DLS	Dispersión Dinámica de Luz
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>E</i>	<i>Entgegen</i> . Sustituyentes de mayor prioridad en lados opuestos
E_a	Energía de Activación
Equiv	Equivalente
ESI	Ionización por Electrospray
g	Gramos
HATU	Hexafluorofosfato de 2-(7-Azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HCl	Ácido Clorhídrico
IR-FT	Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier
K	Constante de Unión

K_B	Constante de Boltzmann
K_{elo}	Constante de Elongación
K_{intra}	Constante de Asociación Intramolecular
K_{inter}	Constante de Asociación Intermolecular
K_{nuc}	Constante de Nucleación
λ	Longitud de Onda
L-CD	Luz circularmente polarizada hacia la izquierda
m	Multiplete
<i>M</i>	Hélice con giro en el sentido antihorario
MALDI	Ionización/Desorción Láser Asistida por Matriz
MB	Balance de Masas
MCH	Metilciclohexano
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Megahertzios
min	Minutos
mL	Mililitros
MS	Espectrometría de Masas
nm	Nanómetro
<i>R</i>	Centro estereogénico con prioridad en sentido antihorario
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
OPE	Oligofeniletinileno
OPV	Oligofenilvinileno
<i>P</i>	Hélice con giro en el sentido horario
PDI	Índice de Polidispersidad
ppm	Partes Por Millón

ppy	Piperidina
R-CD	Luz polarizada circularmente hacia la derecha
r.t	Temperatura Ambiente
σ	Factor de Cooperatividad
S	Centro estereogénico con prioridad en sentido antihorario
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
<i>Sp</i>	<i>Sinperiplanar</i>
t	Triplete
T	Temperatura
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Ultravioleta Visible
VT-CD	Dicroísmo Circular de Temperatura Variable
Z	<i>Zusammenen</i> . Sustituyentes de mayor prioridad del mismo lado

ÍNDICE

1. ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN	2
a. Historia y Antecedentes	3
b. Clasificación de los Polímeros Supramoleculares	4
c. Aspectos Termodinámicos y Cinéticos	7
d. Propiedades de los Polímeros Supramoleculares	10
i. Helicidad Supramolecular y Quiralidad Axial.....	10
ii. Amplificación de la Quiralidad.....	11
iii. Inversión de la Helicidad	11
e. Determinación de la Helicidad en Polímeros Supramoleculares	13
f. Sistemas π - conjugados (OPes)	14
g. Introducción de Elementos Modulables.....	15
3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO.....	17
4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS	18
a. Análisis del Monómero Objetivo	18
i. Resonancia Magnética Nuclear (RMN ^1H y ^{13}C)	20
ii. Polarimetría.....	20
iii. Espectrometría de Masas (ESI).....	20
iv. Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR).....	20
v. Espectroscopía RAMAN	21
b. Análisis del Polímero Supramolecular Helicoidal	22
i. Ensayos CD/UV	22
i. Estabilización del Agregado.....	22
• Estudios de Polaridad de Disolventes.....	22
• Estudios de Concentración.....	24
• Estudios de Temperatura	24
ii. Rampas de Temperatura	25
iii. Ensayos Fotoquímicos.....	27
ii. Polarimetría.....	28
iii. Espectrometría de Masas (MALDI y ESI).....	29
iv. Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR).....	29
v. Estudio Morfológico (DLS).....	30
5. CONCLUSION.....	31
6. BIBLIOGRAFIA	32

7. EXPERIMENTAL	36
a. Condiciones de Trabajo.....	36
b. Síntesis del Monómero Objetivo.....	37
i. REACCIÓN 1	37
ii. REACCIÓN 2	39
iii. REACCIÓN 3	41
8. ANEXOS	43
a. Imágenes Ensayos	43
b. Espectros de Masas	44

1. ABSTRACT

Supramolecular chemistry is a broad area of study, whose development in recent years has been exponential due to the promising applications of these materials, as well as an increasing number of specialized research groups. Supramolecular helical polymers are postulated as a viable solution to the scientific community's need to synthesize non-natural macromolecules that replicate the behavior, and consequently the functions, of biomolecules in living organisms. These materials are mainly characterized by a modulable and reversible self-assembly and may submit a helical conformation responsible for providing the aggregate with optical activity. Moreover, the real relevance of this type of materials lies in the possibility of modulating their helicity (direction of rotation of the helix) by subjecting them to certain external stimuli (solvent polarity, temperature, pH, etc.), which makes it possible to control their optical activity by means of a stimulus-response system.

For this work, a precursor monomer was synthesized and characterized, which was subsequently subjected to aggregation studies. The result was the obtaining and characterization of a stable supramolecular helical polymer with photochemical response capacity thanks to the incorporation of an azobenzene subunit, which allows the *E-Z* equilibrium to be modified in a simple way. This helical aggregate was prepared from a chiral precursor monomer derived from *L*-Valine to which a π -conjugated OPE subunit is covalently associated, which confers stiffness to the system, favoring self-assembly by means of π - π interactions.

To study the secondary structure of the supramolecular helical polymer obtained, several structural and optical characterization techniques were used, such as Mass Spectrometry, Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Polarimetry, Circular Dichroism (CD), Ultraviolet (UV-Vis) and Fourier Transform Infrared (FT-IR) Absorption Spectroscopy, Dynamic Light Scattering (DLS), RAMAN and Scanning Electron Microscopy (SEM). The information reported by these techniques will be used to describe and clarify the assembly mechanism adopted by the aggregate, as well as its behaviour in response to light and thermal stimuli.

2. INTRODUCCIÓN

La química supramolecular es aquella que se encarga del estudio de las interacciones no covalentes entre moléculas. Cuando varias moléculas sencillas en estado molecular libre se agrupan mediante interacciones débiles de tipo intermolecular, estas forman una macromolécula de mayor complejidad, la cual se conoce como complejo supramolecular. La presencia de interacciones intermoleculares de carácter débil en el complejo supramolecular (enlaces de hidrógeno, fuerzas de London, Van der Waals, etc.), propicia que la naturaleza del enlace de estos agregados supramoleculares sea reversible, pudiendo obtener el complejo a partir de las subunidades moleculares libres y viceversa.^[1]

La primera síntesis de este tipo de materiales se remonta al año 1920, cuando el químico germano Hermann Staudinger^[2], a partir de una serie de reacciones, consigue unir moléculas de bajo peso molecular dando lugar a moléculas de mayor tamaño, a las que denominaría “Macromoléculas”. Más tarde, en el año 1953, sería merecedor de recibir el Premio Nobel en Química por sentar las bases de la polimerización de macromoléculas.

Los polímeros helicoidales supramoleculares, son un tipo de complejo supramolecular que se caracteriza por presentar una agregación quiral, en forma de hélice. Estos sistemas se encuentran presentes en organismos vivos llevando a cabo de forma eficiente y específica funciones clave. Como es el caso de la replicación de ADN durante la duplicación del código genético o el reconocimiento molecular (Host-Guest), tanto para la catálisis enzimática (enzima-substrato) como en la respuesta inmune (antígeno-anticuerpo).

En estos agregados helicoidales, la estructura secundaria adoptada (helicoidal) está íntimamente relacionada con las propiedades que presentan y por tanto con las funciones que desempeñan.

Estos biopolímeros de tipo helicoidal presentes en la naturaleza sirven de inspiración a la hora de generar de forma sintética polímeros helicoidales supramoleculares, que tratan de emularlos en estructura y propiedades (emisión de luz, “*self-assembly*”, fotorresistencia, fotosensibilidad, cromismo, etc).

a. Historia y Antecedentes

Las primeras investigaciones en el campo de las macromoléculas helicoidales tienen lugar en la primera mitad del siglo XX. En el año 1937, Hanes^[3] propone por primera vez la estructura de la (*R*)-Amilosa, polisacárido helicoidal formado por la unión de moléculas de glucosa unidas mediante enlaces covalentes.

Unos años más tarde, en la década de los años 50, se llevan a cabo dos de los descubrimientos más importantes del siglo XX tanto para el campo de la biología como en el de la química molecular. En 1951 Pauling *et al.*^[4] describieron por primera vez la estructura de la α -hélice en péptidos naturales, mientras que en 1953, Watson y Crick^[5] demostraron la existencia de una doble hélice en la estructura del ADN, portadora de la información genética en la mayoría de la de organismos vivos.

En 1955, Natta *et al.*^[6] demostraron por primera vez la existencia de helicidad en estado sólido para el propileno isotáctico. Este descubrimiento sentó las bases de los estudios en el campo de las macromoléculas helicoidales que se desarrollarían a partir de este momento.

En 1979, Okamoto *et al.*^[7] preparan el primer polímero helicoidal sintetizado a partir de un monómero precursor aquiral. Mediante la utilización de iniciadores quirales, se consigue obtener un único sentido de giro para la hélice, dando lugar a un polímero isotáctico estable en disolución y con capacidad de reconocimiento quiral.

En 1988, Green *et al.*^[8], preparan polímeros helicoidales dinámicos sensibles a estímulos externos, capaces de adoptar una hélice levógira o dextrógira en respuesta a ellos, obteniendo así una mezcla aleatoria de ambos conformeros en disolución, con baja energía de interconversión de la helicidad.

Todos estos estudios sientan las bases de la polimerización covalente, mientras posibilitan e inspiran a su vez, el desarrollo de nuevos campos de estudio, como los sistemas poliméricos no covalentes.

En 1995, Bouman y Meijer^[9] demuestran la estereomutación de films delgados formados por polímeros ópticamente activos derivados de los politiofenos. Este fenómeno se encuentra dominado por la historia térmica de un material, es decir, al variar la velocidad de enfriamiento en estos materiales se consiguen obtener diferentes estructuras con comportamientos ópticos distintos.

En 2005 Ryu y Lee^[10] estudiaron el autoensamblaje reversible de moléculas boloamfílicas en agua. En un primer momento se obtienen micelas cilíndricas (producto cinético), y no es hasta pasadas cuatro semanas cuando se empiezan a formar las primeras moléculas con estructuras cilíndricas esperadas (producto termodinámico).

En 2011 Rybtchinski *et al.*^[11] consiguen aislar 3 agregados diferentes a partir de un mismo complejo de Pt^{II}, variando la relación de Agua/THF del medio. De forma que a altas concentraciones de agua la especie predominante era la cinética (gran interacción hidrofóbica), mientras que a bajas concentraciones de agua se tiende a obtener el producto termodinámico.

b. Clasificación de los Polímeros Supramoleculares

En la polimerización covalente las unidades monoméricas se encuentran unidas por interacciones fuertes formando el polímero. Predomina el control cinético, ya que existe una gran barrera energética que imposibilita la despolimerización haciendo irreversible el proceso. Por otra parte, en la polimerización supramolecular, las unidades monoméricas se unen mediante interacciones de carácter débil (enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , etc.) para dar lugar al agregado. La barrera energética en este caso es mucho más baja, lo que posibilita que el proceso sea reversible. Debido a que este proceso se encuentra dominado por el control termodinámico, magnitudes como la concentración, temperatura y presión cobran gran importancia.

Los polímeros supramoleculares pueden clasificarse en función al mecanismo de crecimiento (clasificación termodinámica), de esta forma se diferencia entre; crecimiento isodésmico, anillo-cadena y cooperativo.^[12]

La polimerización isodésmica se basa en la formación reversible de un enlace no covalente idéntico para todas las etapas del proceso (equivalentes). Este se caracteriza por la presencia de una sola constante de unión K para cada etapa de la polimerización, la cual es independiente del tamaño del polímero. Por otra parte, la sucesiva adición de monómeros a la cadena polimérica en crecimiento disminuye la energía libre de Gibbs del sistema. Este hecho es indicativo de que la afinidad que presentan las subunidades monoméricas por el extremo terminal del polímero creciente es independiente de la longitud del polímero. Este mecanismo de crecimiento se caracteriza por la ausencia de intermediarios cíclicos durante la etapa de autoensamblaje (*self-assembly*). Se obtienen agregados con alto grado de polidispersidad.

En la polimerización supramolecular anillo-cadena, los polímeros y oligómeros lineales involucrados se encuentran en equilibrio con sus homólogos cíclicos, de forma que la unión entre monómeros ditópicos da lugar a la formación del agregado lineal. La polimerización es de carácter reversible y se encuentra caracterizada por dos constantes termodinámicas (modelo propuesto por Ercolani *et al.*^[13]), la constante de asociación intermolecular K_{inter} y la constante de asociación intramolecular K_{intra} .

El mecanismo de crecimiento cooperativo (termodinámicamente favorable) diferencia entre dos etapas, nucleación y elongación, gobernadas por distintas constantes de asociación. En un primer momento se genera el polímero mediante un mecanismo de crecimiento isodésmico lineal (agregado cinético), caracterizado por una constante de unión K_n . Se adicionan las subunidades monoméricas sucesivamente al polímero creciente, hasta que alcanza un cierto grado de polimerización coincidiendo con la formación de un núcleo termodinámicamente desfavorable. En este momento finaliza la primera etapa de nucleación y se da paso a la elongación. Los monómeros adicionados a partir de este momento se asocian al polímero de forma favorable con una constante de unión K_e ($K_e \gg K_n$) (agregado termodinámico).

La polimerización inicial (etapa de nucleación) es termodinámicamente menos favorable que en la etapa de elongación. Cuando el polímero en crecimiento alcanza una longitud crítica, este modifica su estructura/conformación, se forma el núcleo, lo que provoca que el proceso de polimerización (asociación) sea más favorable que el de disociación. Para que pueda darse paso a la etapa de elongación tiene que superarse una determinada temperatura o concentración crítica.

La polimerización supramolecular cooperativa a su vez puede clasificarse en dos nuevos subgrupos, las nucleadas y las “*downhill*”.

Ferrone *et al.*^[14] establecen que para que una polimerización supramolecular cooperativa sea del tipo nucleada, es necesario que en las primeras etapas del proceso, la energía libre de Gibbs para los oligómeros involucrados aumente con respecto al monómero precursor. El proceso continuará hasta que se alcance el máximo de energía libre de Gibbs lo que coincide con la formación de un núcleo inestable con un determinado grado de polimerización. A partir de este momento la reacción de polimerización se vuelve favorable. La especie más energética e inestable es el núcleo formado, que actúa como cuello de botella en la formación del agregado supramolecular.^[15]

Por otra parte, la polimerización supramolecular cooperativa de tipo *downhill* se distingue de la nucleada en las primeras etapas del proceso. El crecimiento inicial está asociado a una constante de unión menor que la del proceso de elongación, pero no se aprecia el incremento en la energía libre de Gibbs característico de la polimerización supramolecular cooperativa de tipo nucleada. La especie más energética e inestable para este caso es el monómero precursor.

La distinción entre ambos tipos de polimerización supramolecular cooperativa depende de la concentración de monómero presente. De forma que a altas concentraciones de monómero una polimerización supramolecular cooperativa nucleada puede convertirse en *downhill*.^[16]

Ambos mecanismos de crecimiento cooperativo pueden distinguirse atendiendo a estudios cinéticos y termodinámicos, como los llevados a cabo en 2012 por Meijer *et al.*^[17] utilizando como precursor un derivado quiral del *oligo(p-phenylenevinylene)* (OPV). A temperaturas bajas el agregado se autoensambla formando el complejo helicoidal termodinámicamente más estable (hélice *M*), mientras que tras un calentamiento rápido a temperaturas próximas a 273 K se obtiene una mezcla de agregados (hélices *M* y *P*). Se demuestra por tanto que la temperatura, concentración y composición del disolvente juegan un papel clave en el proceso, así como que existen diferentes vías de agregación que compiten por el monómero.

La polimerización supramolecular anticooperativa, mucho menos estudiada que la cooperativa, se caracteriza por altas constantes de asociación para la formación de los oligómeros en las primeras etapas del proceso (mayores que para la elongación). Se obtienen pequeños agregados discretos con bajo grado de polidispersidad.

La representación de la variación en la señal espectroscópica normalizada a una determinada longitud de onda (λ) frente a la temperatura (T) proporciona la curva de enfriamiento para el agregado. Si la curva sigue un modelo sigmoidal, el proceso de polimerización será de tipo isodésmico, mientras que si la curva sigue un modelo hiperbólico, esto será significativo de que se sigue un mecanismo de crecimiento cooperativo. Estas curvas de enfriamiento deben registrarse a ritmos lentos de enfriamiento para evitar la posible histéresis y garantizar que el sistema permanezca bajo control termodinámico, siguiendo un modelo matemático Balance de Masas (MB).^[18]

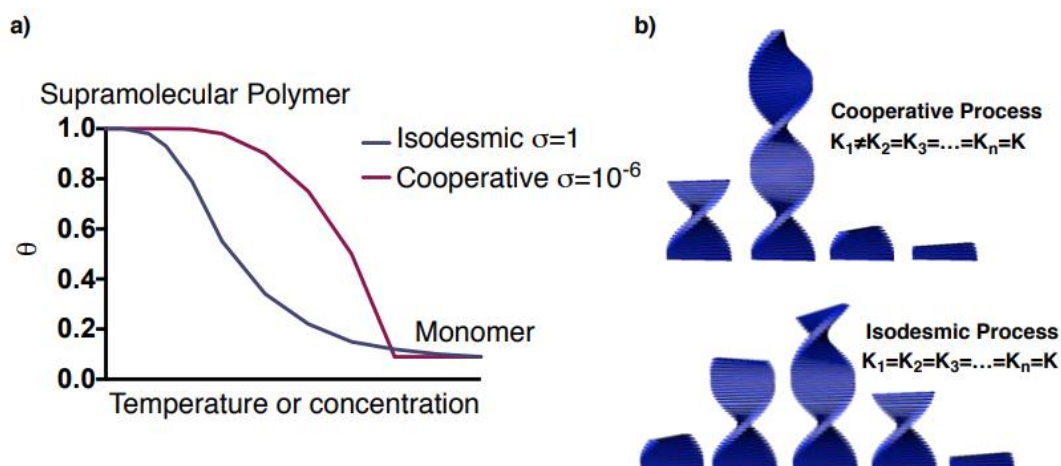


Figura 1: (a) Gráfica donde se muestran las curvas de enfriamiento para los mecanismos cooperativo e isodésmico. (b) Representación de la importancia del mecanismo de polimerización seguido en la obtención del agregado final.^[19]

c. Aspectos termodinámicos y cinéticos

La naturaleza de las fuerzas intermoleculares (no covalentes) involucradas en la formación de un polímero supramolecular determinan el tipo de organización supramolecular que adoptará el agregado. Para llegar a comprender el proceso de autoensamblaje de los agregados supramoleculares es necesario presentar una serie de conceptos.^[20]

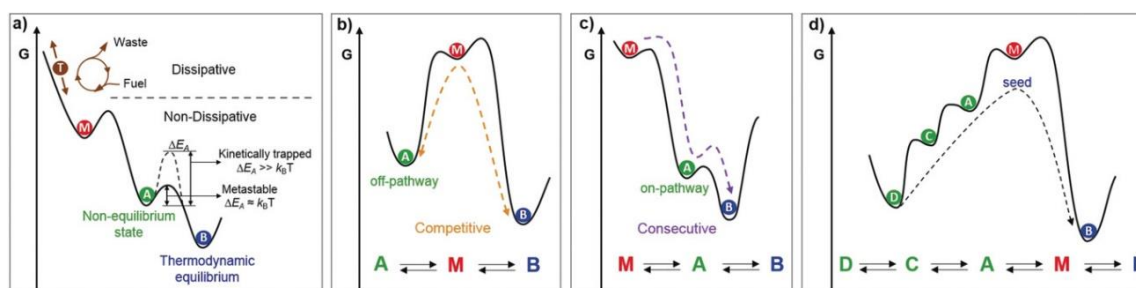


Figura 2. Diagramas de la distribución de energía; a) Disipativas vs no disipativas y equilibrio vs no equilibrio b) Vía competitiva c) Vía consecutiva d) Sistema de alta complejidad con comportamiento cinético jerárquico y con posibilidad de polimerización mediante semillas.^[20]

Como se muestra en la **Figura 2** (a), para un monómero con capacidad de autoensamblaje M , se distinguen dos estados en los que se puede encontrar el agregado. En el estado no disipativo, la especie generada es estable durante una escala de tiempo experimentalmente observable, es decir, existe una barrera energética lo suficientemente grande para que la especie no se transforme inmediatamente en otra menos energética (más estable). Por otra parte, que una especie esté en un estado disipativo o transitorio, es significativo de que dicha especie posee una barrera de activación energética muy baja (o

inexistente) siendo necesario la aplicación de la energía aportada por un estímulo externo para evitar la relajación a un estado menos energético.

Por otra parte, acorde a la **Figura 2** (a), se define equilibrio termodinámico, como el estado mínimo de energía que presenta un sistema. Para el caso de la formación de un complejo supramolecular, se dice que el sistema sigue siendo dinámico una vez alcanzado el equilibrio termodinámico, si los monómeros se intercambian continuamente entre la solución (monómeros libres) y el agregado, permaneciendo el sistema inalterado a lo largo del tiempo. De esta forma el producto obtenido una vez alcanzado el equilibrio será el más favorable termodinámicamente, mientras que las especies obtenidas fuera del estado de equilibrio serán productos cinéticos.

Que una especie tenga un comportamiento metaestable o cinéticamente *trapped* guarda relación con la energía de activación que posea dicha especie para superar su correspondiente barrera energética y dar paso a una especie más estable. Las especies metaestables se caracterizan por poseer E_a bajas (del orden de $k_B T$), por lo que la barrera energética puede ser superada a temperatura ambiente formando especies más estables (menos energéticas) en una escala de tiempo experimentalmente observable. En contraste, las especies cinéticamente “*trapped*” poseen altas E_a , por lo que únicamente podrán superar la barrera energética mediante la aplicación de estímulos externos que aporten energía al sistema.

A la hora de estudiar los perfiles de reacción **Figura 2** (b) y (c), es necesario tener en cuenta las diferentes vías por las que se forman los agregados. En primer lugar, en el caso de que dos o más especies autoensambladas compitan por el monómero solamente siendo posible la interconversión mediante el desensamblaje de las subunidades monoméricas (rotura del agregado), estaríamos ante un mecanismo de tipo competitivo (b). Por otra parte, si se da un reordenamiento estructural o la formación de ensamblados de mayor complejidad a los de partida (“*clustering*”), estaremos ante la vía consecutiva (c).

Para el modelo más sencillo de 3 estados energéticos representado en la **Figura 2** (b) y (c), la clasificación en especies consecutivas y competitivas, tiene su análogo en los conceptos de especies con perfiles *on-pathway* (especie termodinámica) y especie *off-pathway* (especie cinética), respectivamente.

Ambas vías pueden distinguirse mediante el tiempo de retraso (*lag time*), debido a que la interconversión de las especies es dependiente del tiempo. Si al aumentar la

concentración de monómero se consigue acelerar el autoensamblaje reduciendo así los tiempos de retraso hasta completar la agregación, estaremos ante especies consecutivas. En contraste, si al aumentar la concentración de monómero se desacelera el autoensamblaje, obteniendo tiempo de retraso más largos, se obtendrán especies competitivas.

En 2017 Ajayaghosh *et al.*^[21] estudiaron el mecanismo consecutivo de autoensamblaje de agregados con actividad quiral y óptica derivadas del OPE **6**. Estos derivados se autoensamblan formando hélices quirales las cuales invierten su sentido de giro al enrollarse formando estructuras superhelicoidales. Al aumentar la temperatura se recupera la conformación inicial (hélice *M*) lo que es indicativo de la interconversión consecutiva de las especies presentes.

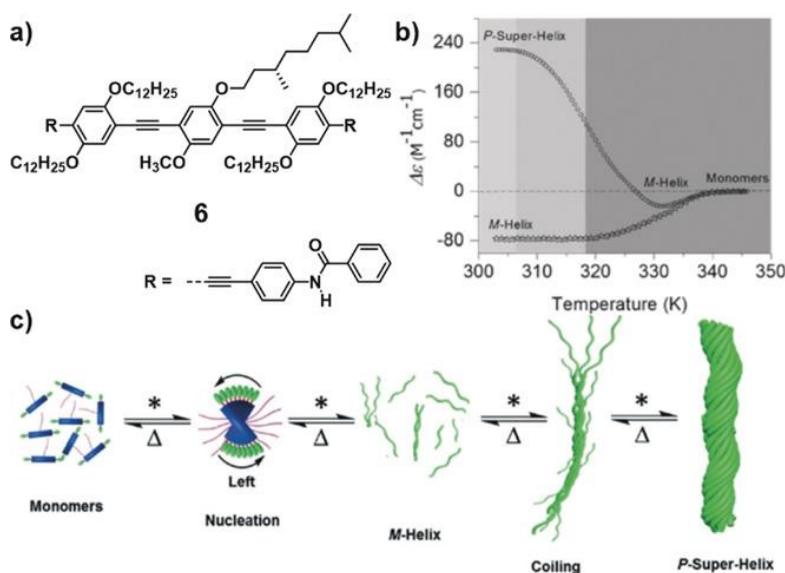


Figura 3. a) Estructura de la molécula OPE **6** b) Representación del incremento de ϵ frente a la temperatura c) Jerarquía del autoensamblaje.^[21]

En la **Figura 3** (c) se expone la jerarquía del autoensamblaje para la molécula OPE **6**. El concepto de jerarquía tiene su origen en cómo se pliegan las proteínas (estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria).

Este fenómeno ocurre en varias etapas las cuales se corresponden con cada uno de los niveles de la que jerarquía. A medida aumenta el nivel jerárquico, aumenta también la complejidad de la organización, mientras se mantienen inalteradas las subestructuras de los niveles anteriores. Un proceso jerárquico se ve fuertemente afectado por las fuerzas presentes en cada uno de sus niveles y está asociado a los perfiles consecutivos.

Por último, en la **Figura 2** (d), se muestra un ejemplo de sistema de alta complejidad con comportamiento cinético jerárquico y con posibilidad de polimerización mediante semillas. Este tipo de polimerización es utilizada como herramienta para mantener el control sobre el tamaño y la polidispersidad de los agregados supramoleculares generados. Mediante la adición de semillas (funcionan como estímulo) se consigue inducir el autoensamblaje espontáneo de las especies termodinámicas, mientras que las especies metaestables y cinéticamente *trapped* son transformadas en agregados poco energéticos.

d. Propiedades de los polímeros helicoidales supramoleculares

i. Helicidad Supramolecular y Quiralidad Axial

La quiralidad molecular, ampliamente estudiada, se caracteriza por la presencia de algún centro estereogénico (carbonos asimétricos) en la molécula de estudio, lo que hace que esta no sea superponible a su imagen especular (enantiómero). Por otra parte, la quiralidad axial, aplicable a agregados supramoleculares, depende de la presencia de algún elemento de asimetría en la macromolécula, como pueden ser un eje o un plano de quiralidad.

Modulando la quiralidad axial de los agregados helicoidales supramoleculares, puede favorecerse la obtención de un sentido de giro preferencial para la hélice. De esta forma, puede controlarse cuál de los isómeros *M* o *P* será predominante en disolución.

Por ejemplo, Radacki *et al.*^[22], partiendo de una mezcla de atropoisómeros *M* y *P* de *perylenebisimides* (PBIs) en equilibrio, bloquean la racemización al impedir la interacción π -*stacking* mediante el acoplamiento de un grupo oligoéter a una de las caras del PBI. De esta forma, se consigue el control sobre el ensamblaje del agregado, obteniendo una mezcla de partículas irregulares de diversos tamaños para el caso de la mezcla racémica (*M* y *P*) mientras que al bloquear la racemización se consigue aislar el isómero *P* (dímero homoquiral) obteniendo fibras helicoidales.

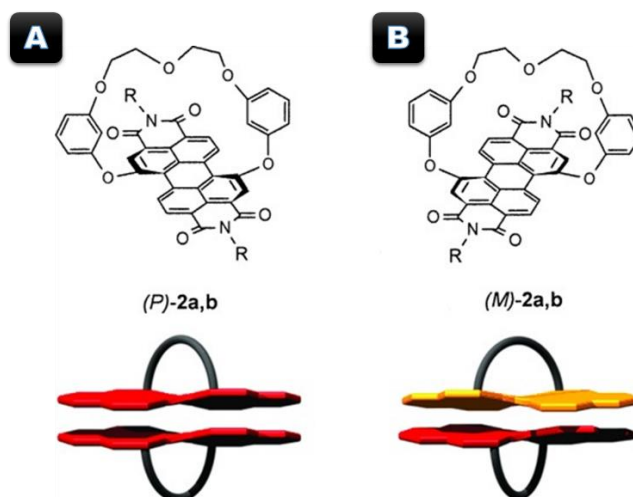


Figura 4: Estructuras de los atropisómeros *P* y *M*. Representación esquemática de los agregados; dímeros homocirales (A) y heterocirales (B).^[22]

ii. Amplificación de la Quiralidad

Existen dos tipos de mecanismos de amplificación de la quiralidad a nivel supramolecular basados en efectos cooperativos efectivos:

El efecto memoria basado en el fenómeno de reconocimiento Sargentos-Soldados se fundamenta en que la adición de un pequeño porcentaje de unidades quirales a un agregado supramolecular ópticamente inactivo, es capaz de organizar las subunidades acirales, evolucionando a un agregado supramolecular helicoidal ópticamente activo y con sentido de giro preferencial de la hélice.^[23]

El principio de *Majority Rules* (regla de la mayoría) implica que la presencia de un solo centro estereogénico en la estructura secundaria del agregado, contiene suficiente información quiral a nivel molecular para dar lugar a un estado quiral amplificado a nivel supramolecular.^[24]

iii. Inversión de la Helicidad

La helicidad de los agregados supramoleculares helicoidales puede ser modulada al ser sometidos a ciertos estímulos externos (pH, temperatura, radiación UV-Vis, metales, etc.) que provoca un cambio en el sentido de giro de la hélice del agregado (inversión de la helicidad).

Ejemplo de ello es la inversión de la helicidad en cristales líquidos mediante irradiación UV-Vis. Yan *et al.*^[25] consiguen aislar un cristal líquido (poly-72) que se caracteriza por, partiendo de una fase colestérica inicial consigue evolucionar a una fase

nemática con helicidad opuesta tras irradiar la muestra con radiación ultravioleta. El cristal líquido recupera la fase colestérica pasado el tiempo, recuperando así su helicidad original.

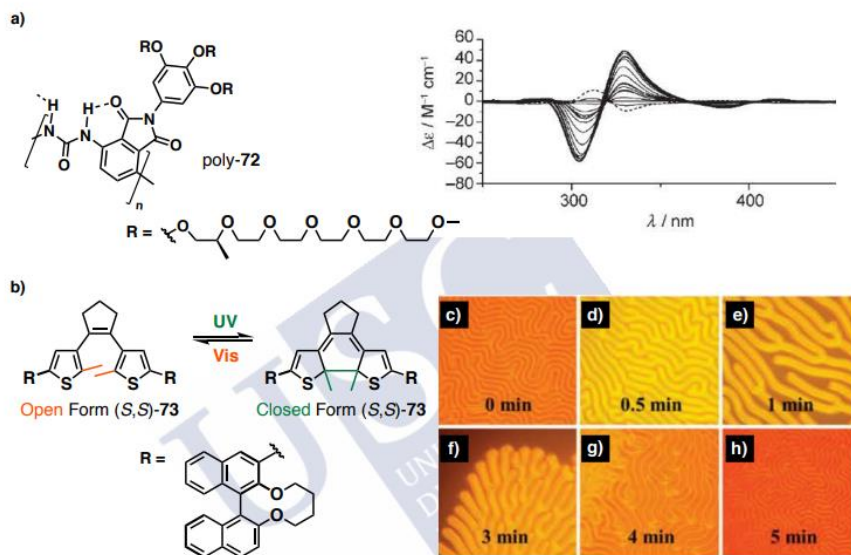


Figura 5: (a) Estructura del cristal fotónico poly-72 y su correspondiente espectro CD. (b) Representación del equilibrio entre la forma abierta-cerrada; y POM (microscopía de luz polarizada) de la organización interna del cristal tras sufrir la inversión de la helicidad al ser sometidos a radiación UV. (c) a (e) se pasa de una fase colestérica a nemática. (f) a (h) se pasa de una fase nemática a una colestérica.^[25]

Takeuchi *et al.*^[26] demostraron en 2012, que la helicidad de un agregado helicoidal supramolecular fotorreactivo puede invertirse al irradiarlo con radiación UV a la vez que se aplica calor al sistema. De esta forma, por la acción combinada de la luz y el calor puede modularse el sentido de giro del agregado helicoidal, independientemente de la quiralidad que presente a nivel molecular.

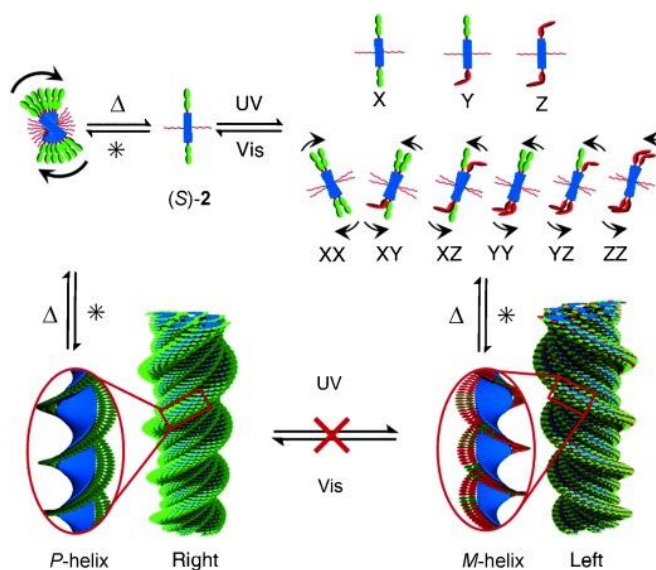


Figura 6: Representación esquemática de la inversión de la helicidad.^[26]

e. Determinación de la Helicidad en Polímeros Supramoleculares^[27]

Las principales técnicas quirópticas a la hora de determinar la helicidad en agregados helicoidales supramoleculares, son la Rotación Óptica Específica (α) y el Dicroísmo Circular (CD).

La Rotación Óptica Específica (α), mide la desviación que sufre un haz polarizado de radiación al interactuar con una solución quiral, debido a las diferencias de velocidad entre la luz circularmente polarizada en sentido levógiro y en sentido dextrógiro. Este parámetro puede ser determinado con un polarímetro. Se trata de una técnica fuertemente dependiente del disolvente utilizado, temperatura, concentración y tamaño de cubeta (paso óptico). Por lo tanto, presenta baja sensibilidad, siendo necesaria gran cantidad de muestra para alcanzar buenos resultados.

En el Dicroísmo Circular (CD), se registran las desviaciones en la trayectoria que sufre un haz de radiación circularmente polarizada al interactuar con una estructura quiral que presente grupos cromóforos (absorben radiación). Se mide la diferencia entre la absorción de radiación circularmente polarizada hacia la izquierda (*L-CPL*) y hacia la derecha (*R-CPL*). Esta técnica se utiliza para detectar la presencia de estructuras helicoidales con sentido de giro predominante en disolución. En el caso de los agregados voluminosos, la técnica de CD puede aportar información acerca del plegamiento de la estructura secundaria de estas macromoléculas (α -hélice, β -lámina, β -giro, etc.), aunque también puede utilizarse como técnica de control para la determinación de cambios conformacionales en el agregado al modificar las condiciones del medio o bien, al someterlo a estímulos externos (temperatura, pH, irradiación UV, etc.). La principal ventaja que presenta el CD frente a la determinación de α es que se necesita mucha menos cantidad de muestra.

Por otra parte, también es común utilizar técnicas como la Difracción de Rayos X (DRX), la cual permite estudiar la estructura secundaria del polímero, siendo capaz de determinar parámetros como la longitud, tamaño, anchura y *pitch* de la hélice. Esta técnica no es capaz de aportar información acerca del sentido de giro de la hélice, por lo que, si se desea determinar la helicidad de un agregado helicoidal supramolecular, la técnica que aportaría los resultados más fiables sería la de Microscopía de Fuerzas Atómicas (AFM), aunque hay que tener en consideración una serie de requisitos, como que es necesario que la muestra se deposite formando un cristal 2D dispuesto en una monocapa perfecta (alto grado de ordenamiento interno).

f. Sistemas π -conjugados (OPEs)

La estructura secundaria de los agregados helicoidales supramoleculares está íntimamente relacionada con las propiedades que estos presentan. Por ejemplo, los oligofeniletinilenos (OPEs) son ampliamente utilizados en química supramolecular debido a la rigidez que aportan al sistema y a su capacidad de generar interacciones π - π , lo que facilita el autoensamblaje del agregado supramolecular. Este se ve favorecido generalmente por la combinación con largas cadenas alquílicas que aseguran una buena solubilidad en disolventes poco polares. Las moléculas que presentan este tipo de subunidades OPE poseen estructuras de los más variados. Algunos ejemplos de arquitecturas moleculares OPE, se muestran en la **Figura 7**.

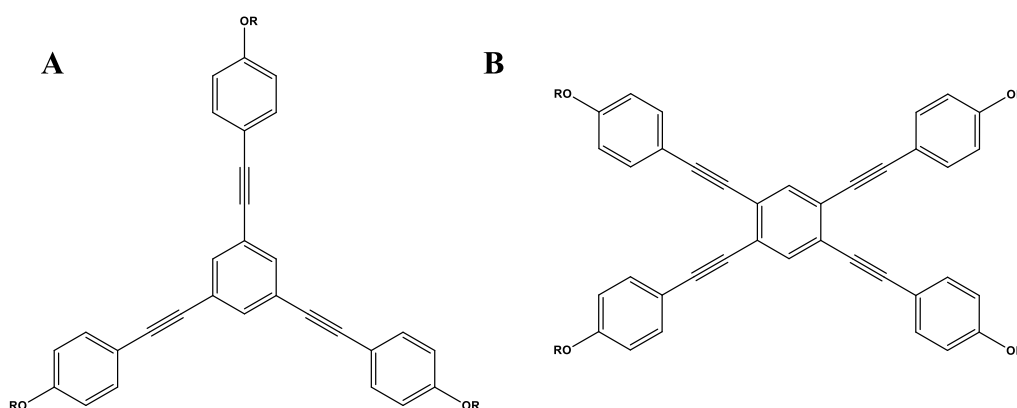


Figura 7: Estructura de dos derivados de la familia de los oligofeniletinilenos (OPEs). (A) OPE triangular y (B) OPE rectangular. Siendo (-R) un sustituyente alquílico.

Por otra parte, se puede combinar este “*building block*” con una subunidad que por ejemplo dote de quiralidad al monómero, como se muestra en la **Figura 7**.

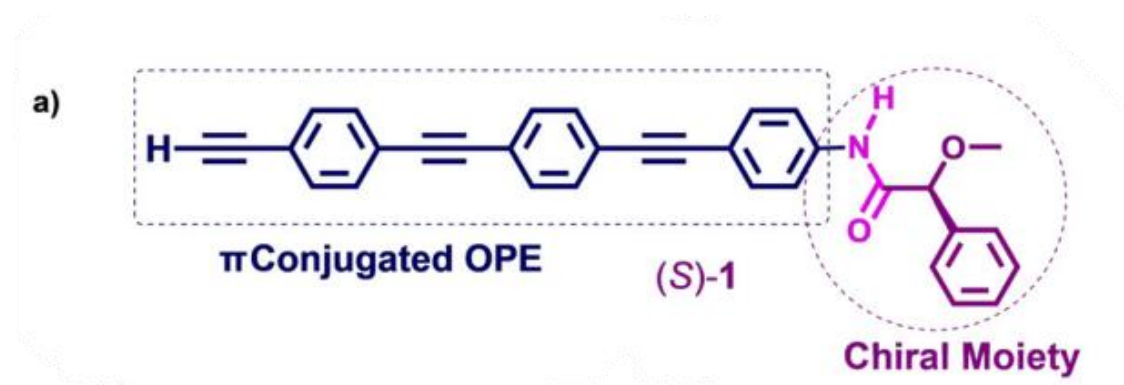


Figura 8. Estructura de un derivado del oligofeniletinileno OPE^{[19][28]}

En 2021, Fernández *et al.*^{[19][28]} demuestra que durante el autoensamblaje de un monómero formado por un sistema OPE π -conjugado lineal al que se asocia una pequeña subunidad quiral, mostrado en la **Figura 8**, se presenta como viable la obtención selectiva de una helicidad preferente para el agregado supramolecular resultante. De esta forma, se puede obtener el agregado termodinámico o el cinéticamente “trapped” modificando las condiciones de agregación.^[27]

Por otra parte, la relevancia de estos derivados de los OPE reside en sus propiedades optoelectrónicas (ópticas y electrónicas), lo que los convierte en compuestos muy prometedores para ser utilizados como dispositivos electrónicos moleculares.

g. Introducción de elementos modulables

En polímeros supramoleculares, la introducción de elementos modulables abre la posibilidad de controlar la forma en la que se autoensamblan estos agregados, permitiendo así modular el sentido de giro, la elongación o el tamaño de los polímeros helicoidales. Por ejemplo, la introducción de grupos azobenceno (Ph-N=N-Ph) supone la posibilidad de una modulación óptica del equilibrio *E/Z* de forma simple.

La principal característica que presentan estos azoderivados, es que absorben fuertemente la radiación en la región UV, presentando coloraciones amarillentas (azobenzenos) y anaranjadas (aminoazobenzenos). Por esta razón, estos compuestos fueron utilizados históricamente como colorantes industriales. Otra de las principales características que presentan estos compuestos es que sufren fotoisomerización *E/Z* al ser irradiados con luz ultravioleta. El isómero *Z* compacto (C_2 , angular) es el menos estable (metaestable), presenta una alta tensión debida al impedimento estérico causado por la proximidad de los grupos fenílicos, así como una distorsión configuracional provocada por la repulsión entre las nubes electrónicas de los anillos aromáticos. La interconversión entre ambos isómeros ocurre mediante modificaciones en los enlaces N-C, que cambian la disposición espacial de los grupos fenílicos. De esta forma se obtiene el isómero *E* extendido (C_{2h} , planar) (estable), en el cual las tensiones de enlace y distorsiones electrónicas se encuentran aliviadas.^[29] Ambos isómeros poseen propiedades físicas diferentes por lo que pueden ser diferenciados atendiendo al espectro de absorción o al momento dipolar de cada uno de ellos.

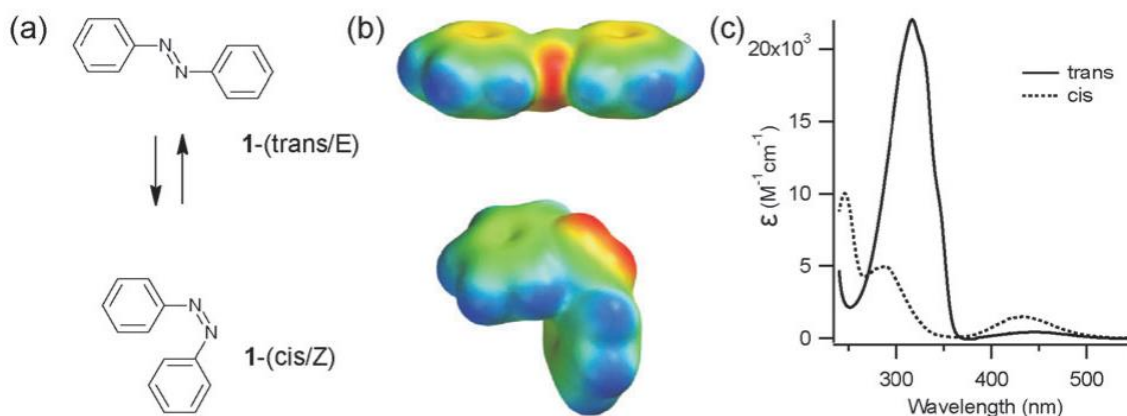


Figura 9. (a) esquema de la fotoisomerización E/Z del azobenzeno. (b) modelo de potencial electrostático para isómeros E/Z del azobenzeno. (c) espectro de absorción de los isómeros E/Z del azobenzeno en etanol.^[29]

La fotoisomerización E/Z para el azobenzeno está caracterizada por las siguientes transiciones electrónicas: Para el isómero E-azobenzeno aparece una banda $\pi-\pi^*$ fuerte ($\lambda \approx 320-350$ nm) que coincide con el máximo de absorción del isómero E y una banda $n-\pi^*$ débil ($\lambda \approx 450$ nm). Por otra parte, el isómero Z-azobenzeno presenta una banda $n-\pi^*$ fuerte ($\lambda \approx 450$ nm) la cuál coincide con el máximo de absorción para el isómero Z y otras bandas $\pi-\pi^*$ menos intensas a $\lambda \approx 250$ y 280 nm.^[29]

A pesar de que el isómero E-azobenzeno es el predominante en condiciones de equilibrio termodinámico, puede obtenerse el isómero Z-azobenzeno por fotoisomerización, al irradiar a las energías de transición descritas anteriormente. Esto acelera considerablemente el proceso de interconversión fotoquímico en comparación a la relajación E/Z térmica.

Esta reversibilidad convierte a los azoderivados en compuestos muy interesantes para ser utilizados como foto-interruptores en biomoléculas.^[30]

3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

Para este trabajo se pretende conseguir la síntesis y caracterización de un monómero objetivo el cual será estudiado en diferentes condiciones de agregación con el fin de generar un polímero helicoidal supramolecular estable con capacidad de respuesta fotoquímica. Para ello, el monómero precursor, será un compuesto quiral derivado de la *L*-Valina. A este centro quiral se ensamblarán por ambos extremos una subunidad OPE y un grupo azobenzeno. La subunidad π -conjugada OPE aportará rigidez al sistema, permitiendo el autoensamblaje por medio de interacciones “ π -stacking”, las cuales serán reforzadas por los enlaces de hidrógeno generados por las amidas que conectan ambas subunidades al centro quiral. Por otra parte, la incorporación del grupo azobenzeno proveerá al agregado de respuesta fotoquímica, modulando el equilibrio *E-Z*.

Finalmente, mediante la realización de los ensayos de agregación se busca alcanzar unas condiciones óptimas para que se produzca el autoensamblaje del agregado helicoidal y así poder estudiar tanto su mecanismo de ensamblaje como la respuesta que presenta ante estímulos externos, como la luz o la temperatura.

4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

En este apartado se recoge toda la información referente a la caracterización estructural y óptica tanto del monómero objetivo como del agregado helicoidal supramolecular obtenido, así como los resultados obtenidos en los ensayos fotoquímicos.

Todas las reacciones químicas llevadas a cabo en este trabajo se encuentran debidamente documentadas en la parte experimental del mismo. (véase apartado 7b.).

a. Análisis del Monómero objetivo

Atendiendo a la estructura de la molécula objetivo, **Figura 10**, esta se encuentra formada por un núcleo quiral constituido por la una molécula de *L*-Valina, centro inductor de la quiralidad y al mismo tiempo, fuente de enlaces de hidrógeno que favorezcan el autoensamblaje del agregado helicoidal. A este núcleo quiral se asocia, por un lado, un sistema rígido lineal π -conjugado oligo(fenilenoetnileno) (OPE), cuyo objetivo es favorecer el apilamiento de la unidad monomérica, principalmente gracias a interacciones " π -stacking". En el extremo opuesto se sitúa el grupo azo unido covalentemente al núcleo de *L*-Valina a través de una segunda amida. Este derivado azobenzénico dota al agregado helicoidal supramolecular de respuesta fotoquímica al ser irradiado en la región UV-Vis, desencadenando un cambio conformacional debido a la fotoisomerización, que permite la modulación óptica del equilibrio *E/Z* de forma simple.

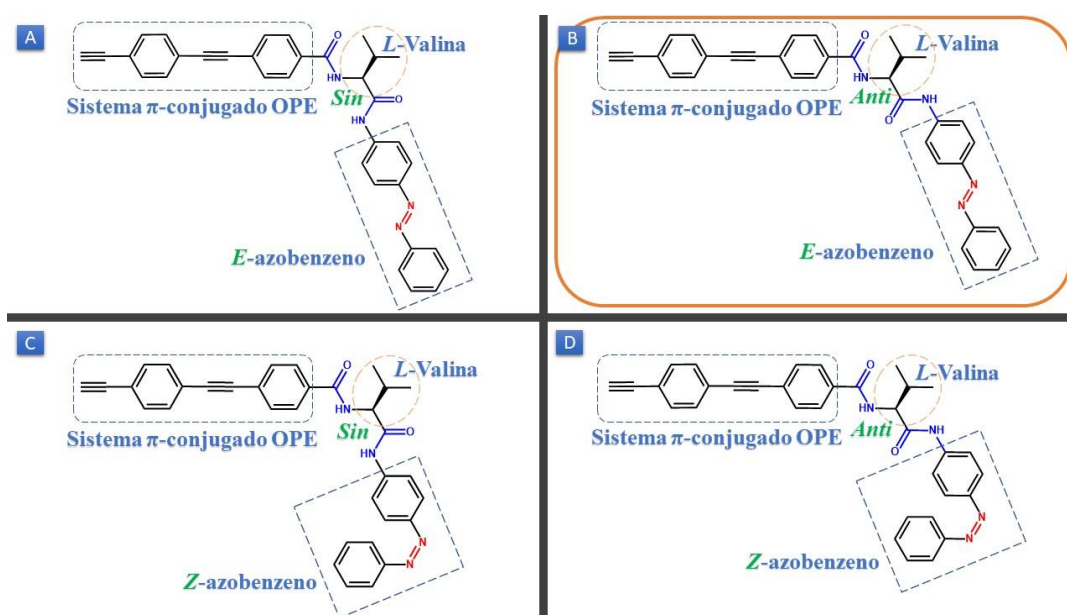


Figura 10: Representación de las posibles estructuras que puede adoptar el monómero objetivo, (*R,E*)-4-((4-etinilfenil)etnil)-*N*-(3-metil-1-oxo-1-((4-(fenildiazenil)fenil)amino)butan-2-il)benzamida, $C_{34}H_{28}N_4O_2$. (A) sinperiplanar y *E*-azobenzeno, (B) antiperiplanar y *E*-azobenzeno, (C) sinperiplanar y *Z*-azobenzeno, (D) antiperiplanar y *Z*-azobenzeno.

El monómero objetivo, puede adoptar cuatro conformaciones diferentes, pudiendo estar presente en cuatro formas diastoisoméricas distintas (**Figura 10. A, B, C y D**). Según se encuentren dispuestos los grupos carbonilos, estos pueden presentar una disposición *sinperiplanar* (*sin*) con los carbonilos orientados en la misma dirección o bien *antiperiplanar* (*anti*) donde se encuentran orientados en direcciones opuestas. Mientras que según se encuentren dispuestos los grupos fenílicos en la subunidad azobenzénica, el monómero podrá adoptar tanto la forma *E*-azobenzeno, en la que los grupos fenílicos se encuentran adoptando una disposición planar, como la forma *Z*-azobenzeno, donde los grupos fenílicos se encontraran en disposición angular.

El monómero objetivo es muy voluminoso ya que presenta una gran cantidad de anillos aromáticos, por lo que, en condiciones de control termodinámico se espera que la conformación predominante tienda a minimizar las tensiones de enlace, adquiriendo así una disposición *anti* (*ap*) para los carbonilos y *E* para los grupos fenílicos (**Figura 10.B**). Esta disposición supone la estructura más estable, la cual ya se ha reportado por difracción de rayos X (DRX) para sistemas similares. Además, mediante espectroscopía UV-Vis, se puede determinar fácilmente el isómero predominante del azobenzeno por las bandas de absorción características. En la **Figura 11** se representa el espectro de absorción UV-Vis para el monómero objetivo.

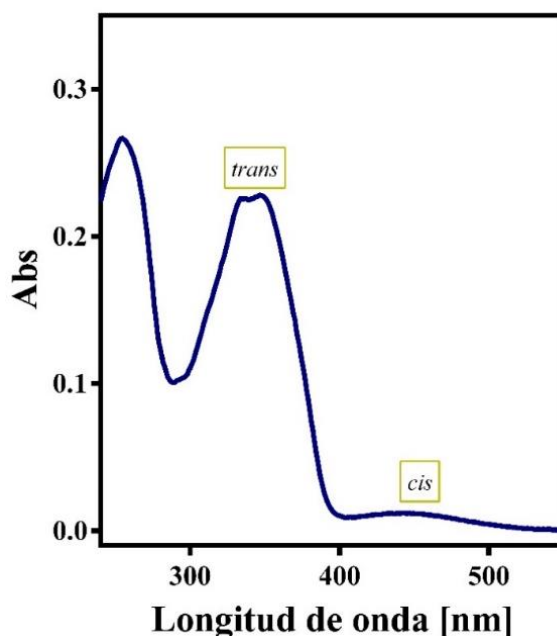


Figura 11: Espectro UV-Vis del monómero objetivo disuelto en MCH a una concentración de 0.1 mg/ml.

En este se aprecia una señal de un máximo de absorbancia a 350 nm, lo que indica la presencia mayoritaria del isómero *E*-azobenzeno en la disolución, de acuerdo con las

transiciones electrónicas explicadas en apartados anteriores. Por otra parte, en torno a 420 nm se aprecia una señal más tenue que se corresponde con el isómero *Z*-azobenceno. Ambos isómeros se encuentran presentes y en equilibrio en disolución, aunque en condiciones ambientales y en ausencia de estímulos externos (irradiación, temperatura, etc.) que aporten energía al sistema, el isómero predominante será el *E* (termodinámicamente favorable).

A continuación, se recogen las técnicas de caracterización con las que se confirma la obtención y pureza del monómero objetivo. Las condiciones de trabajo se encuentran debidamente documentadas en la parte experimental de la memoria (véase apartado 7a).

i. Resonancia Magnética Nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C)

Esta técnica de caracterización estructural se utiliza a modo de control para realizar el seguimiento del monómero objetivo en cada una de las etapas de su síntesis. Todos los espectros RMN de ^1H y ^{13}C se recogen en la parte experimental 7b.

ii. Polarimetría

Esta técnica permite cuantificar la rotación óptica específica que presenta la molécula estudiada. Para ello, se disuelve una porción del monómero a una concentración de 0.2 mg/mL utilizando metilciclohexano (MCH) como disolvente. Utilizando una cubeta con un camino óptico de 10 mm se obtiene una rotación óptica específica de $[\alpha]_{\text{D}} = -79.7500$ (0.2 mg/mL, MCH) con un coeficiente de variación (CV) de 12.7560.

iii. Espectrometría de Masas (ESI)

Mediante espectrometría de masas se comprueba si la masa exacta del producto obtenido experimentalmente coincide con la masa molecular esperada teóricamente. Los espectros de masas se incluyen en el apartado de Anexos.

MS (ESI): m/z calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2^+$ [M⁺]: 524.2276, obtenido: 525.2276.

iv. Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Esta técnica espectroscópica permite identificar los grupos funcionales presentes en la muestra, atendiendo a las vibraciones de enlace detectadas al irradiar en la región IR.

Aproximadamente a 1400 cm^{-1} se aprecia la presencia de una banda estrecha y poco intensa asociada a la vibración del enlace N=N en el grupo azo. Por otra parte, en torno a 1550 cm^{-1} se aprecia una señal intensa y estrecha asociada a la vibración de los enlaces C=C, que indica la presencia de los anillos aromáticos. Mientras, a 1625 cm^{-1} aparece tan solo una banda muy intensa y estrecha correspondientes a la vibración del enlace C=O, lo cual desafortunadamente no permite distinguir las vibraciones de ambos carbonilos a fin de estudiar las interacciones de cada uno de ellos.

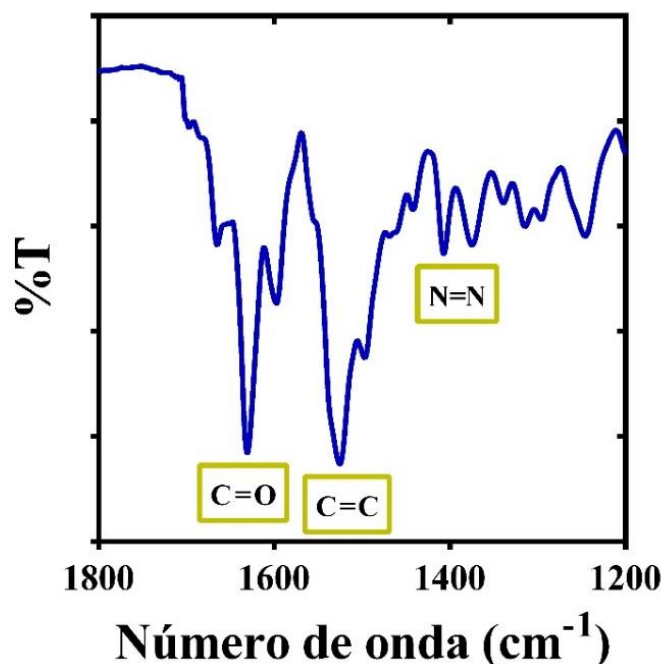


Figura 12: Espectro FT-IR para el monómero objetivo.

v. Espectroscopía RAMAN

Esta técnica espectroscópica permite detectar los modos de vibración característicos para el grupo azobenzeno. La señal obtenida a 1170 cm^{-1} se corresponde con los estiramientos del enlace C-N entre el anillo aromático y el correspondiente nitrógeno del grupo azo, mientras que a 1440 cm^{-1} aparecen tres señales correspondientes a los estiramientos de enlace entre ambos nitrógenos (N=N) en el grupo azo para la conformación *E*-azobenzeno, siendo este otro indicativo de que es la conformación más estable y por tanto la que adquiere el monómero objetivo en disolución bajo condiciones ambientales y ausencia de estímulos externos tal como se ha visto en los espectros de UV-Vis.

Para llevar a cabo las medidas espectroscópicas se disolvió el monómero objetivo (**Figura 10**) en cloroformo (CHCl_3) a una concentración 1 mg/mL y se depositó gota a gota en una placa de vidrio.

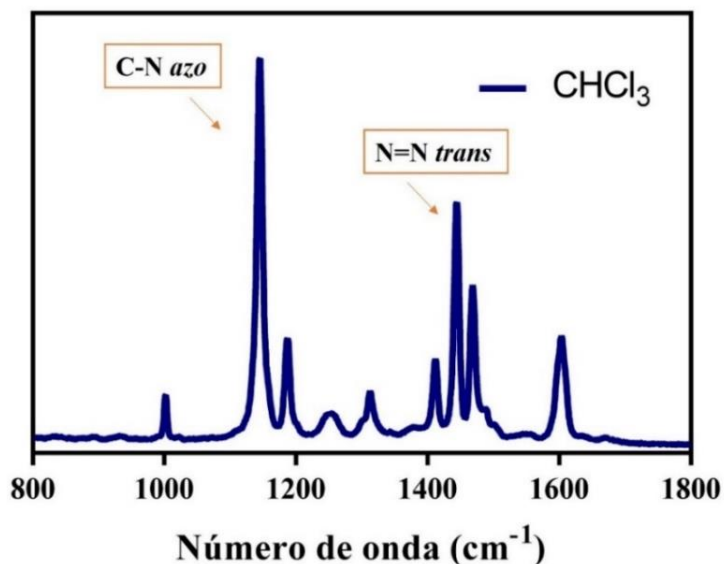


Figura 13: Espectro RAMAN del monómero objetivo disuelto en CHCl_3 .

b. Análisis del Agregado Helicoidal Supramolecular

Se busca que el polímero helicoidal supramolecular obtenido se mantenga estable en un intervalo de tiempo experimentalmente observable y que su síntesis sea reproducible. Por esta razón, en un primer momento es necesario llevar a cabo una serie de ensayos para estabilizar el agregado, atendiendo a factores como la polaridad del disolvente utilizado, la concentración de la disolución de estudio o la temperatura.

i. Ensayos (CD/UV-Vis)

i. Estabilización de Agregados

- Estudios de Polaridad Disolvente

A fin de obtener el agregado supramolecular el monómero debe solubilizarse, al menos parcialmente, en un disolvente que no compita por las interacciones supramoleculares durante el autoensamblaje (enlaces de hidrogeno y π -stacking), ya que supondría la solubilización completa de este y no se formaría el agregado. Sin embargo, el disolvente tampoco puede presentar muy poca afinidad por el monómero, puesto que, si la afinidad entre monómeros es mucho más elevada que la afinidad del monómero por el disolvente, este último terminaría por precipitar.

Se realizan los ensayos con una mezcla de disolventes cloroformo (CHCl_3) (polar) y metilciclohexano (MCH) (apolar), con la que se pretende optimizar las condiciones de polaridad que permitan el autoensamblaje del agregado. Se disuelve el monómero objetivo en una disolución madre de CHCl_3 a 1 mg/mL, a partir de la cual se toman 3 alícuotas a 10:90, 20:80 y 30:70 CHCl_3 :MCH respectivamente. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 14**.

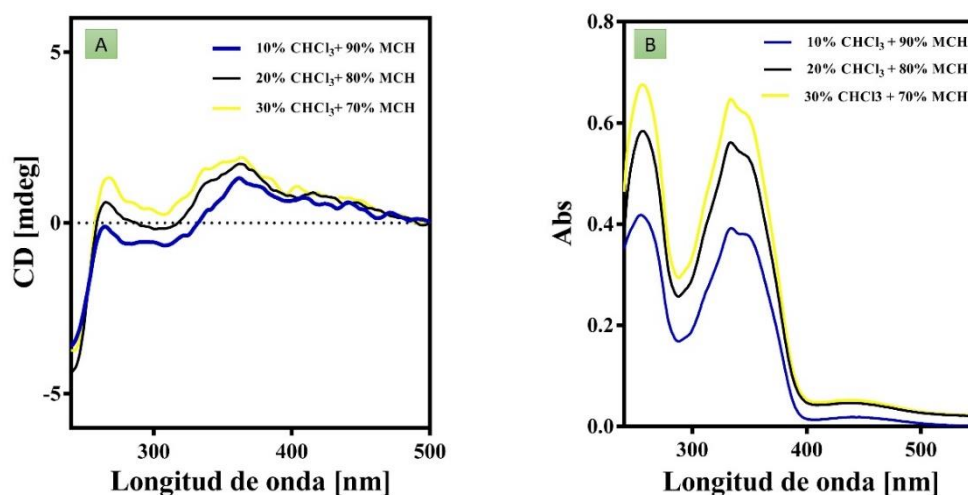


Figura 14: (A) espectros de CD y (B) espectros de UV-Vis, para el agregado helicoidal supramolecular obtenido variando la relación de los disolventes CHCl_3 :MCH.

En todos casos la elevada solubilidad de la molécula en CHCl_3 provoca que no sea posible la obtención de un agregado helicoidal como muestran los espectros de CD y UV-Vis. En estas condiciones, se valoró también la realización de rampas de enfriamiento con el mismo resultado.

A fin de promover la agregación supramolecular del monómero, se disminuyó aún más la polaridad del medio pasando al uso de MCH como único disolvente. En estas condiciones, a fin de disolver el compuesto es necesario calentar la disolución a 100 °C bajo agitación magnética. Los resultados se recogen en la **Figura 15**.

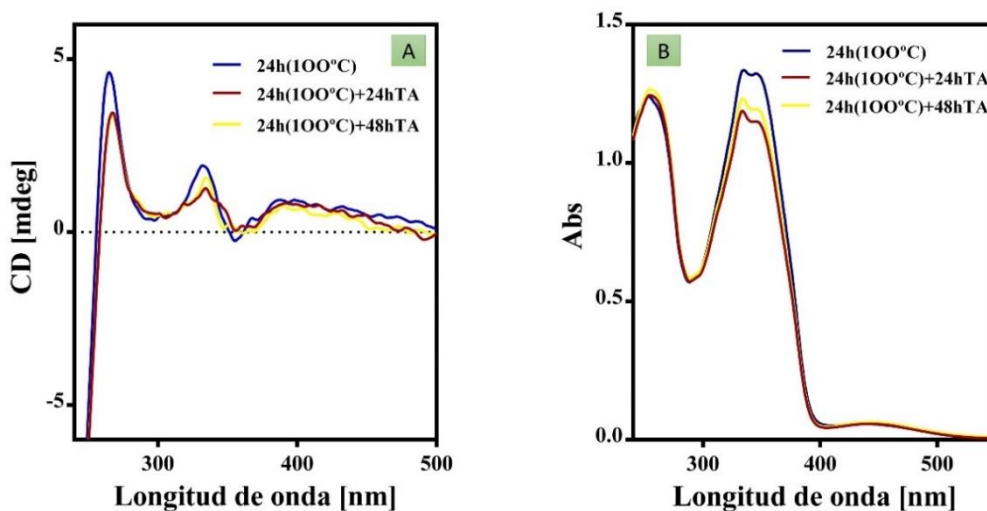


Figura 15: (A) espectros de CD y (B) espectros de UV-Vis, para el agregado helicoidal supramolecular obtenido utilizando como disolvente MCH (0.2 mg/mL).

En estas condiciones, el monómero es completamente estable una vez se ha logrado su solubilización, no hay disminución de la absorción tras 48 horas como muestra el espectro de UV-Vis. Por tanto, se escoge MCH puro como aquel disolvente que aporta las mejores condiciones continuar desarrollando los estudios de agregación.

• Estudios de Concentración

Utilizando como disolvente MCH, se realizan los estudios a tres concentraciones diferentes; 0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL y 0.3 mg/mL. Los resultados se recogen en la **Figura 16**. La disolución a 0.2 mg/mL es la que aporta mayor señal CD, manteniendo la presencia de las bandas características en el espectro UV-Vis.

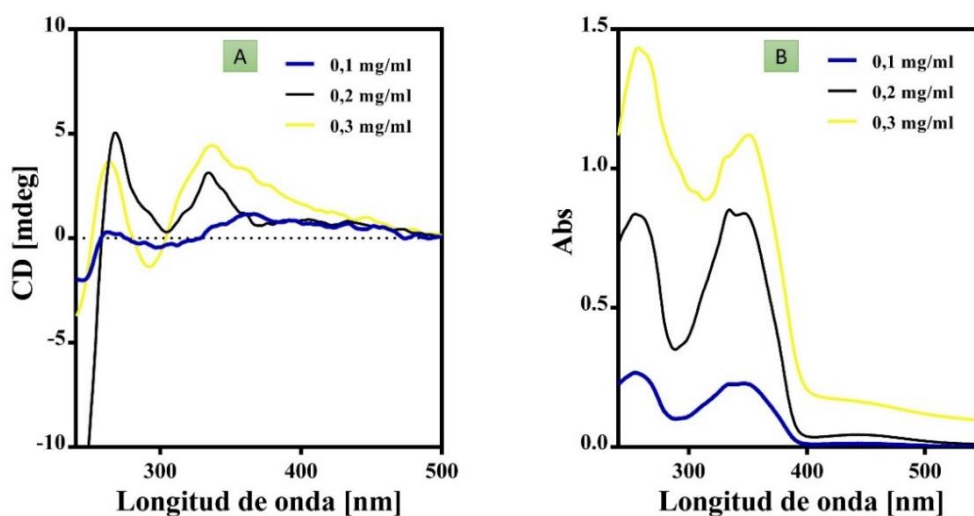


Figura 16: (A) espectro de CD y (B) espectro de UV-Vis para el agregado helicoidal supramolecular obtenido utilizando diferentes concentraciones 0.1/0.2/0.3 mg/mL MCH.

- Estudios de Temperatura

Debido a que se escoge un disolvente fuertemente apolar como el MCH, es necesario calentar la disolución con el monómero objetivo para poder disolverlo completamente. Tras seis horas calentando a 100 °C, se estudia la formación del agregado variando la temperatura de enfriamiento, obteniendo la mayor señal CD cuando se deja enfriar a temperatura ambiente la matriz con el agregado.

- ii. Rampas de Temperatura (CD/UV)

Las rampas de temperatura permiten monitorizar el comportamiento óptico (CD) del agregado helicoidal supramolecular al variar lentamente la temperatura. Un enfriamiento lento y prolongado permite que los cambios estructurales requeridos para una polimerización efectiva puedan llevarse a cabo y por tanto el agregado pueda ensamblarse. Prueba de ello, es el aumento de la señal en el espectro CD tras realizar una rampa de enfriamiento empezando a 80 °C y llegando a 0 °C bajo un gradiente de temperatura de 0.2 °C/min. Los resultados se recogen en la **Figura 17**.

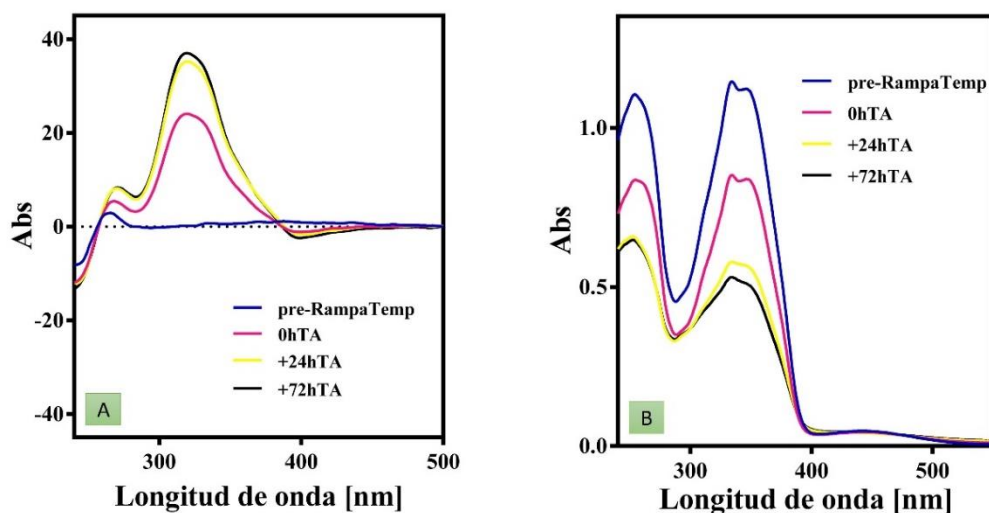


Figura 17: (A) Representación del espectro CD. (B) Representación espectro UV-Vis para el agregado helicoidal supramolecular obtenido tras someterlo a una rampa de enfriamiento de 80-0 °C (0.2 °C/min) y su evolución a lo largo de 72h.

Se aprecia como una vez formado el agregado (0hTA), tras someterlo a la rampa de enfriamiento, se produce un ligero aumento en su señal CD con el paso del tiempo (72h). Este se debe a que el agregado evoluciona y termina de apilarse. Pasado estas 72h el agregado se mantiene estable aportando una señal CD constante en el tiempo.

Mediante la técnica de Dicroísmo Circular de Temperatura Variable (VT-CD) se pretende estudiar el efecto de los gradientes térmicos y como afectan a la estabilidad del agregado helicoidal supramolecular. En la **Figura 18** se representan los espectros VT-CD y UV-Vis tanto para la curva de enfriamiento de 80°C a 0°C (**A** y **B**) como para la curva inversa de calentamiento de 0 °C a 80 °C (**C** y **D**) para la misma disolución a 0.2 mg/mL de monómero objetivo disuelta inicialmente a 100 °C. En todos los casos, se parte de disoluciones en las cuales ya se ha formado el agregado ya que, por sí solo, no es posible obtener el agregado desde el monómero libre mediante una rampa de temperatura sin realizar el procedimiento previamente descrito para forzar la interacción de las unidades monoméricas.

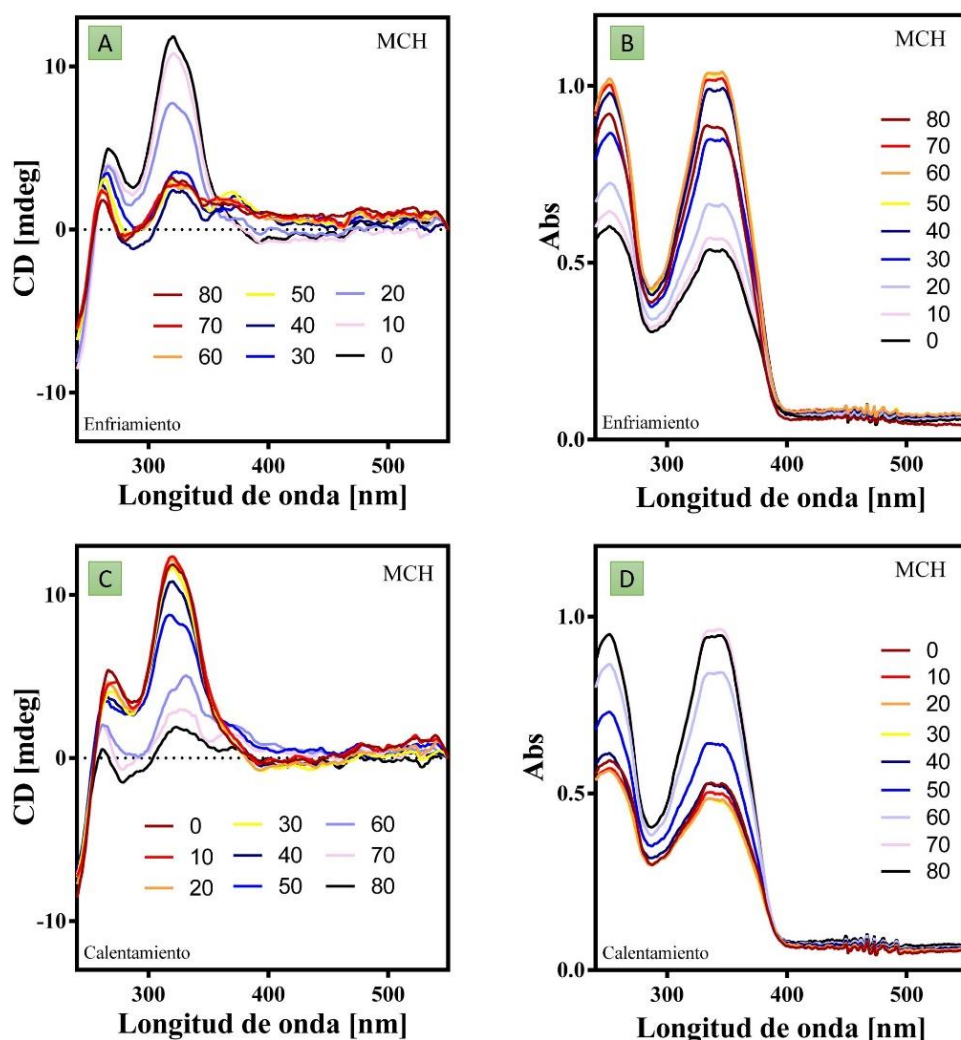


Figura 18: (A) Representación del espectro VT-CD, (B) Representación espectro UV-Vis; para el agregado helicoidal supramolecular obtenido en una rampa de enfriamiento 80-0 °C (0.2 °C/min). (C) Representación del espectro VT-CD, (B) Representación espectro UV-Vis; para el agregado helicoidal supramolecular obtenido en la rampa inversa de calentamiento 0-80 °C (0.2°C/min).

Se observa como al aumentar la temperatura el agregado se desensambla debido a la rotura de las interacciones supramoleculares débiles, principalmente enlaces de hidrógeno e interacciones π - π , lo que finalmente genera la obtención de un CD nulo.

Que las curvas de enfriamiento (ensamblaje) y calentamiento (desensamblaje) sigan rutas diferentes (**Figura 19.A**) es indicativo de la presencia de histéresis durante la agregación. Por tanto, la obtención de una especie competitiva “*on-pathway*” (termodinámica) o de una especie consecutiva “*off-pathway*” (cinética), depende fuertemente de la velocidad de enfriamiento durante el ensamblaje. Un enfriamiento rápido provoca la obtención de especies atrapadas cinéticamente mientras que un enfriamiento más lento y prolongado en el tiempo reduce la histéresis y favorece la obtención del agregado termodinámico. A pesar de esto, la forma del espectro CD obtenida para el agregado helicoidal supramolecular estudiado se mantiene inalterada para la totalidad de los ensayos, obteniendo un espectro CD positivo fuerte, indicativo de un agregado *P*. Por tanto, es de esperar que, aun existiendo histéresis, al no presentar una alta variación entre estados, se obtiene el agregado termodinámico casi exclusivamente.

Por otra parte, la representación del grado de agregación para el polímero (α) a 321 nm frente a la temperatura (**Figura 19.B**) revela que el agregado helicoidal supramolecular sigue un mecanismo de autoensamblaje isodésmico (modelo sigmoideal).

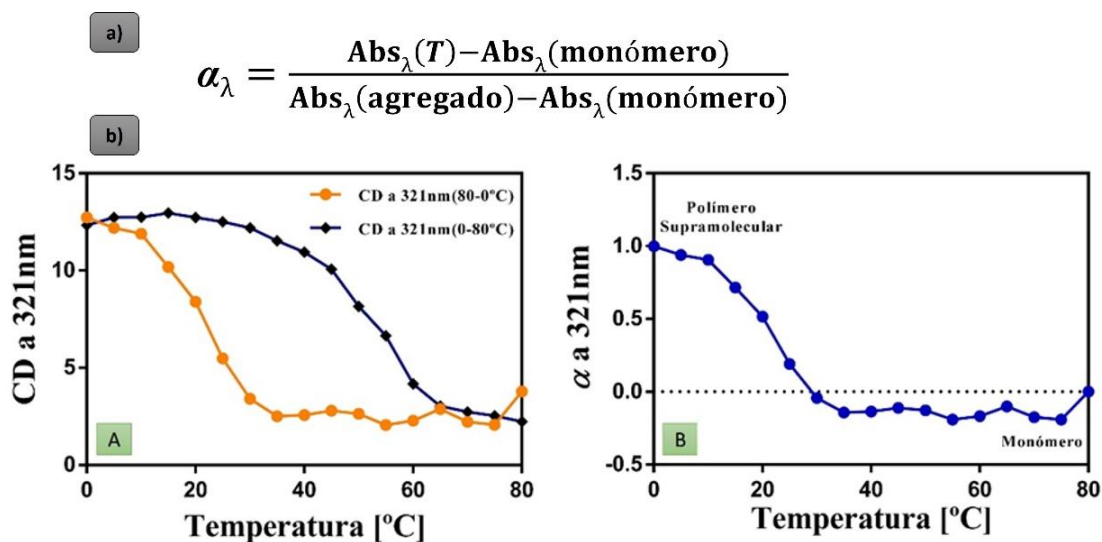


Figura 19: a) Ecuación matemática para obtener el grado de agregación para un polímero helicoidal durante su ensamblaje. b) (A) Representación de las curvas de enfriamiento y calentamiento para el agregado helicoidal supramolecular obtenido. (B) Representación del grado de agregación (α) en función de la temperatura para el polímero helicoidal supramolecular obtenido.

iii. Ensayos Fotoquímicos

Para determinar el comportamiento del grupo azo en el autoensamblaje del agregado helicoidal supramolecular se realiza un ensayo fotoquímico para monitorizar la fotoisomerización *E/Z*. Para ello, se toma una alícuota del agregado estabilizado en MCH, la cual se irradia en la región UV-Vis. En un primer momento se irradia a 350 nm durante 20 minutos consiguiendo obtener la forma *Z* en el azobenzeno, lo cual se demuestra por la disminución de señal de absorbancia a 320-350 nm en el espectro UV-Vis y la aparición de una banda en torno a 420-450 nm. Inmediatamente después de realizar la determinación se irradia a 420 nm durante 20 minutos con lo que el azobenzeno regresa a su forma original *E*, pudiéndose comprobar en el espectro UV-Vis mediante la aparición de nuevo de una señal a 320-350 nm y una disminución en la señal a 420-450 nm. Los resultados obtenidos por ambas técnicas espectroscópicas se recogen en la **Figura 20**.

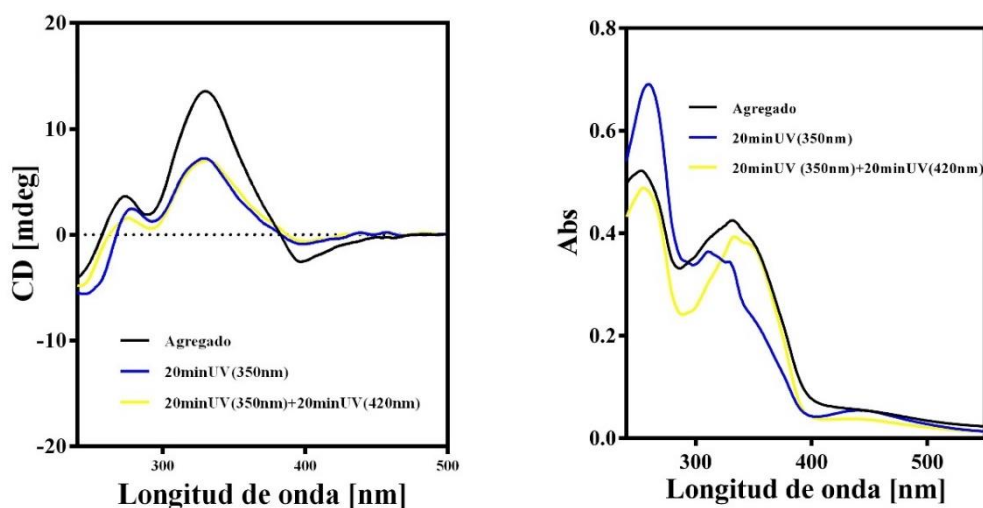


Figura 20: (A) Representación espectro CD, (B) Representación espectro UV-Vis para el polímero helicoidal supramolecular obtenido, al irradiar en la región UV-Vis el grupo azobenzeno.

Atendiendo a los resultados obtenidos en el espectro CD, el agregado ensambla principalmente gracias a las interacciones π - π que se dan entre las subunidades OPE y los enlaces de H. Mientras los grupos fenílicos del azobenzeno tienen una contribución menor en el ensamblaje. Ya que, si bien se produce una disminución de la señal obtenida tanto para el isómero *E*-azobenzeno como para el isómero *Z*-azobenzeno, esta es el resultado de los cambios conformacionales necesarios para acomodar inicialmente el isómero *Z*. No se produce además una rotura total del ensamblaje, prueba de la buena estabilidad del sistema, y una vez acomodada la forma *Z*, el espectro no sufre variaciones con sucesivas isomerizaciones.

ii. Polarimetría

Tras formarse el agregado, se toma una alícuota a una concentración de 0.2 mg/mL utilizando metilciclohexano (MCH) como disolvente. Usando una cubeta con un camino óptico de 10 mm se obtiene una rotación óptica específica de $[\alpha]_D = 1661.3000$ (0.2 mg/mL, MCH) con un coeficiente de variación (CV) de 46.3268.

El resultado obtenido es mucho mayor que para el caso del monómero libre, confirmando que se produce un cambio en la rotación óptica específica debido a la polimerización supramolecular.

iii. Espectrometría de Masas (MALDI, ESI)

Se realizan estudios de espectrometría de masas, tanto por la técnica MALDI como para la técnica ESI dónde se comparan los resultados obtenidos para el polímero helicoidal una vez agrega y para el monómero precursor libre. Los resultados obtenidos por ESI para el monómero libre muestran una señal correspondiente a la masa exacta de la molécula objetivo (+1, 525.2276 m/z), mientras que esta señal no aparece para el espectro ESI del agregado. Esta ausencia se debe a que en el agregado los fragmentos del monómero vuelan como múltiplos, los cuales se han tratado de detectar mediante MALDI. Mediante esta técnica, y solo para el espectro del agregado helicoidal, se ha podido se obtiene una señal de 1130.883 m/z. Esta señal es resultado de la unión supramolecular de dos veces la molécula precursora (524.2212 m/z) y la presencia de MCH^+ (82.4406 m/z) en la estructura interna del agregado, perdiendo el fragmento $-\text{CH}_3$.

A la vista de los resultados obtenidos, se confirma que el monómero libre se autoensambla formando el agregado helicoidal supramolecular y que el disolvente (MCH) se encontraría formando parte de la estructura del agregado. Los espectros de masas realizados para ambas técnicas se recogen en el apartado de Anexos.

iv. Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Se pretende comprobar si las vibraciones de enlace en la región IR obtenidas para el caso del monómero libre coinciden con las que se encuentran presentes para el agregado helicoidal supramolecular obtenido. Ampliando el espectro en la región $1800\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ se aprecia una intensificación de las bandas correspondientes a la vibración de enlace $\text{C}=\text{C}$ (1550 cm^{-1}) y a la vibración de enlace $\text{N}=\text{N}$ (1400 cm^{-1}), indicadas en la **Figura 22.B**.

La deposición de la muestra se realiza gota a gota sobre una placa de vidrio, para que una vez evaporado el disolvente pueda realizarse el análisis por FT-IR en fase sólida.

La principal diferencia que se observa frente al análisis del monómero libre es que para el caso del agregado se aprecia claramente la presencia de varias señales debidas al MCH, las cuales tras secar la muestra a alto vacío y repetir la determinación permanecen inalteradas. Esto confirma los resultados obtenidos por espectrometría de masas MALDI, por lo que el MCH forma parte de la estructura interna del agregado. El espectro FT-IR del agregado supramolecular se recoge en la **Figura 22**.

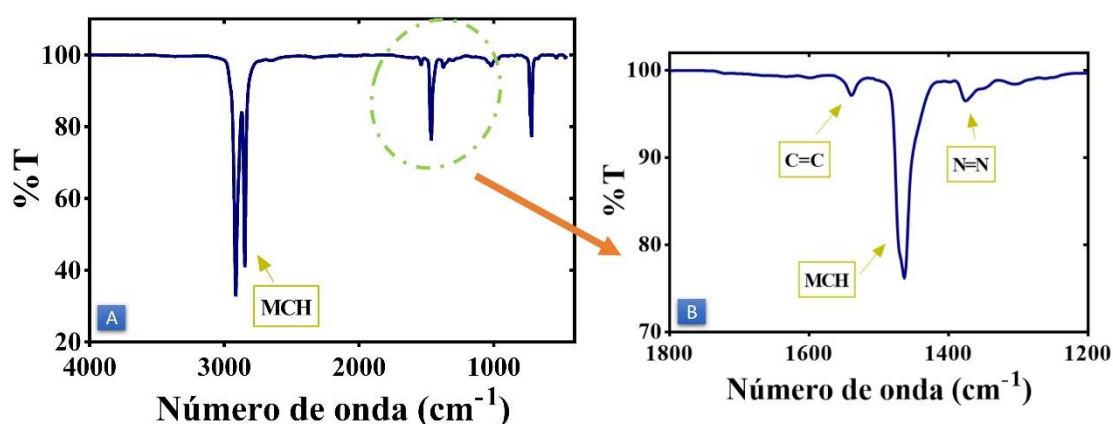


Figura 22: (A) Representación espectro FT-IR para el agregado helicoidal supramolecular obtenido. (B) Representación espectro FT-IR para el agregado helicoidal supramolecular obtenido ampliando la región comprendida entre 1800-1200 cm^{-1} .

v. Estudio Morfológico (DLS)

Para determinar la morfología que presenta el agregado helicoidal supramolecular obtenido y cuál es la disposición espacial adoptada por este, se utilizan las técnicas de Dispersión Dinámica de la Luz (DLS). En un primer momento, se realiza un análisis en DLS obteniendo un índice de polidispersidad (PDI) muy elevado, lo que confirma que el agregado helicoidal estudiado no se adapta a un modelo de esferas, sino que presenta gran polidispersidad en los tamaños de partícula presentes. A la vista de los resultados obtenidos por DLS, cabe esperar que el agregado adquiera una disposición fibrilar al ensamblarse, formando fibras de diversos tamaños.

5. CONCLUSION

The development of a new type of optically active supramolecular helical polymer, which exhibits a strong positive CD signal, has been explored. This helical aggregate exhibits photochemical properties due to the incorporation of an azobenzene subunit, which brings reversibility to the *E/Z* equilibrium upon irradiation in the UV-Vis region. This photoisomerisation between the *E* and *Z* form has been shown to only slightly modify the aggregate morphology to accommodate both isomers. Proof of the high stability of the aggregates obtained, and at the same time indicative that the system is stabilised mainly by the π -stacking interactions generated between OPE subunits and the possible H-bonds between amides.

On the other hand, the temperature ramps results obtained for the synthesised supramolecular helical polymer reflect its dependence on the cooling rate during assembly, indicating the presence of slow conformational changes during stacking. The studies also demonstrate the presence of hysteresis by comparing the cooling and heating curves obtained for the aggregate, which exhibits an isodesis mechanism during self-assembly.

Finally, in view of the results obtained by mass spectroscopy, it is confirmed that MCH is part of the internal structure of the aggregate and that it actively participates in the assembly of the supramolecular helical polymer.

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] Brunsveld, L., Folmer, B. J. B., Meijer, E. W., & Sijbesma, R. P. (2001). Supramolecular Polymers. *Chemical Reviews*, 101(12), 4071–4098.

<https://doi.org/10.1021/cr990125q>

[2] R. Mülhaupt, *Angew Chem*, 2004, 43, 9, pp. 1054-1063. Mülhaupt, R. (2004). Hermann Staudinger and the Origin of Macromolecular Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(9), 1054–1063.

<https://doi.org/10.1002/anie.200330070>

[3] Hanes, C. S. (1937). The action of amylases in relation to the structure of starch and its metabolism in the plant. Parts IV-VII. *New Phytologist*, 36(3), 189–239.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1937.tb06913.x>

[4] Pauling, L., Corey, R. B., & Branson, H. R. (1951). The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37(4), 205–211.

<https://doi.org/10.1073/pnas.37.4.205>

[5] Watson, J. D., & Crick, F. H. C. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171(4356), 737–738.

<https://doi.org/10.1038/171737a0>

[6] Natta, G., Pino, P., Corradini, P., Danusso, F., Mantica, E., Mazzanti, G., & Moraglio, G. (1955). CRYSTALLINE HIGH POLYMERS OF α -OLEFINS. *Journal of the American Chemical Society*, 77(6), 1708–1710.

<https://doi.org/10.1021/ja01611a109>

[7] Okamoto, Y., Suzuki, K., Ohta, K., Hatada, K., & Yuki, H. (1979). Optically active poly(triphenylmethyl methacrylate) with one-handed helical conformation. *Journal of the American Chemical Society*, 101(16), 4763–4765.

<https://doi.org/10.1021/ja00510a072>

[8] Green, M. M., Andreola, C., Munoz, B., Reidy, M. P., & Zero, K. (1988). Macromolecular stereochemistry: a cooperative deuterium isotope effect leading to a large optical rotation. *Journal of the American Chemical Society*, 110(12), 4063–4065.

<https://doi.org/10.1021/ja00220a070>

[9] Bouman, M. M., & Meijer, E. W. (1995). Stereomutation in optically active regioregular polythiophenes. *Advanced Materials*, 7(4), 385–387.

<https://doi.org/10.1002/adma.19950070408>

[10] Ryu, J. H., & Lee, M. (2005). Transformation of Isotropic Fluid to Nematic Gel Triggered by Dynamic Bridging of Supramolecular Nanocylinders. *Journal of the American Chemical Society*, 127(41), 14170–14171.

<https://doi.org/10.1021/ja055583x>

[11] Tidhar, Y., Weissman, H., Wolf, S. G., Gulino, A., & Rybtchinski, B. (2011). Pathway-Dependent Self-Assembly of Perylene Diimide/Peptide Conjugates in Aqueous Medium. *Chemistry – A European Journal*, 17(22), 6068–6075.

<https://doi.org/10.1002/chem.201003419>

[12] de Greef, T. F. A., Smulders, M. M. J., Wolffs, M., Schenning, A. P. H. J., Sijbesma, R. P., & Meijer, E. W. (2009). Supramolecular Polymerization. *Chemical Reviews*, 109(11), 5687–5754.

<https://doi.org/10.1021/cr900181u>

[13] Ercolani, G., Mandolini, L., Mencarelli, P., & Roelens, S. (1993). Macrocyclization under thermodynamic control. A theoretical study and its application to the equilibrium cyclooligomerization of β -propiolactone. *Journal of the American Chemical Society*, 115(10), 3901–3908.

<https://doi.org/10.1021/ja00063a008>

[14] Ferrone, F. (1999). Analysis of protein aggregation kinetics. *Methods in Enzymology*, 256–274.

[https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)09019-9](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)09019-9)

[15] Sorrenti, A., Leira-Iglesias, J., Markvoort, A. J., de Greef, T. F. A., & Hermans, T. M. (2017). Non-equilibrium supramolecular polymerization. *Chemical Society Reviews*, 46(18), 5476–5490.

<https://doi.org/10.1039/c7cs00121e>

[16] Powers, E. T., & Powers, D. L. (2006). The Kinetics of Nucleated Polymerizations at High Concentrations: Amyloid Fibril Formation Near and Above the “Supercritical Concentration”. *Biophysical Journal*, 91(1), 122–132.

<https://doi.org/10.1529/biophysj.105.073767>

[17] Jonkheijm, P., van der Schoot, P., Schenning, A. P. H. J., & Meijer, E. W. (2006). Probing the Solvent-Assisted Nucleation Pathway in Chemical Self-Assembly. *Science*, 313(5783), 80–83.

<https://doi.org/10.1126/science.1127884>

[18] Kulkarni, C., Meijer, E. W., & Palmans, A. R. A. (2017). Cooperativity Scale: A Structure–Mechanism Correlation in the Self-Assembly of Benzene-1,3,5-tricarboxamides. *Accounts of Chemical Research*, 50(8), 1928–1936.

<https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00176>

[19] Fernández Villar, Z. (2021). Covalent and Supramolecular Helical Polymers: The Dawn of Matryoshka Materials [Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela]. Repositorio de tesis Minerva (USC).

<http://hdl.handle.net/10347/24661>

[20] Matern, J., Dorca, Y., Sánchez, L., & Fernández, G. (2019). Revising Complex Supramolecular Polymerization under Kinetic and Thermodynamic Control. *Angewandte Chemie International Edition*, 58(47), 16730–16740.

<https://doi.org/10.1002/anie.201905724>

[21] Hifsudheen, M., Mishra, R. K., Vedhanarayanan, B., Praveen, V. K., & Ajayaghosh, A. (2017). The Helix to Super-Helix Transition in the Self-Assembly of π -Systems: Superseding of Molecular Chirality at Hierarchical Level. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(41), 12634–12638.

<https://doi.org/10.1002/anie.201707392>

[22] Safont-Sempere, M., Osswald, P., Radacki, K., & Würthner, F. (2010). Chiral Self-Recognition and Self-Discrimination of Strapped Perylene Bisimides by π -Stacking Dimerization. *Chemistry - A European Journal*, 16(25), 7380–7384.

<https://doi.org/10.1002/chem.201001137>

[23] Palmans, A. R. A., Vekemans, J. A. J. M., Havinga, E. E., & Meijer, E. W. (1997). Sergeants-and-Soldiers Principle in Chiral Columnar Stacks of Disc-Shaped Molecules with C₃ Symmetry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36(23), 2648–2651.

<https://doi.org/10.1002/anie.199726481>

[24] Smulders, M. M. J., Stals, P. J. M., Mes, T., Paffen, T. F. E., Schenning, A. P. H. J., Palmans, A. R. A., & Meijer, E. W. (2009). Probing the Limits of the Majority-Rules Principle in a Dynamic Supramolecular Polymer. *Journal of the American Chemical Society*, 132(2), 620–626.

<https://doi.org/10.1021/ja9080875>

[25] Wang, L., Dong, H., Li, Y., Liu, R., Wang, Y. F., Bisoyi, H. K., Sun, L. D., Yan, C. H., & Li, Q. (2015). Luminescence-Driven Reversible Handedness Inversion of Self-Organized Helical Superstructures Enabled by a Novel Near-Infrared Light Nanotransducer. *Advanced Materials*, 27(12), 2065–2069.

<https://doi.org/10.1002/adma.201405690>

[26] Gopal, A., Hifsudheen, M., Furumi, S., Takeuchi, M., & Ajayaghosh, A. (2012). Thermally Assisted Photonic Inversion of Supramolecular Handedness. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(42), 10505–10509.

<https://doi.org/10.1002/anie.201205332>

[27] Fernández, B., Rodríguez, R., Quiñoá, E., Riguera, R., & Freire, F. (2019). Decoding the ECD Spectra of Poly(phenylacetylene)s: Structural Significance. *ACS Omega*, 4(3), 5233–5240.

<https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00122>

[28] Fernández, Z., Fernández, B., Quiñoá, E., & Freire, F. (2021). The Competitive Aggregation Pathway of an Asymmetric Chiral Oligo(p-phenyleneethynylene) Towards the Formation of Individual P and M Supramolecular Helical Polymers. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(18), 9919–9924.

<https://doi.org/10.1002/anie.202100162>

[29] Beharry, A. A., & Woolley, G. A. (2011). Azobenzene photoswitches for biomolecules. *Chemical Society Reviews*, 40(8), 4422.

<https://doi.org/10.1039/c1cs15023e>

[30] Henzl, J., Mehlhorn, M., Gawronski, H., Rieder, K. H., & Morgenstern, K. (2006). Reversible cis-trans Isomerization of a Single Azobenzene Molecule. *Angewandte Chemie International Edition*, 45(4), 603–606.

<https://doi.org/10.1002/anie.200502229>

7. EXPERIMENTAL

a. Condiciones de Trabajo

Todas las reacciones se llevaron a cabo bajo atmosfera inerte (Ar), a fin de evitar así pérdidas en el rendimiento provocadas por la presencia de moléculas de agua, por lo que los matraces de reacción fueron purgados previamente a su utilización. Se emplearon disolventes de alta calidad secados mediante destilación sobre un agente desecante adecuado.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se realizaron en un espectrómetro Varian Mercury 300, utilizando como disolvente CDCl_3 y DMSO. En los desplazamientos químicos se referencia la señal del TMS (0 ppm).

Las medidas de polarimetría se llevaron a cabo en un Jasco P-2000 a 20 °C.

Los espectros de CD se registraron en un espectropolarímetro Jasco 720 con un intervalo de longitud de onda entre 240 y 500 nm. Las muestras utilizadas para estos experimentos se disolvieron en CHCl_3 y MCH a concentraciones comprendidas entre 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL. Para la realización de las rampas de temperatura se utilizó un equipo CD de temperatura variable (VT-CD) Jasco 1100 con un intervalo de longitud de onda entre 240 y 500 nm.

Los espectros de UV-Vis se registraron en un espectrofotómetro Jasco V-750 con un intervalo de longitud de onda entre 240 y 550 nm. Las muestras utilizadas para estos experimentos se disolvieron en CHCl_3 y MCH a concentraciones comprendidas entre 0.1 mg/mL y 0.3 mg/mL.

El estudio fotoquímico se realizó utilizando una lámpara de Xenón (MAX-303, Asahi Spectra) utilizando filtros a 350 nm y 420 nm.

Los espectros de Raman se realizaron en un espectrómetro Invia Reflex, equipado con dos láseres (laser de diodo de 785 nm y laser de Ar de 514 nm).

Los espectros de FT-IR se obtuvieron con un espectrómetro PerkinElmer Spectrum Two en un intervalo de numero de onda entre 400 y 4000 cm^{-1} . Se registraron muestras sólidas mediante *drop casting*.

Los estudios de DLS se realizaron en un equipo Malvern Nano ZS de Malvern Instruments.

Los espectros de Masas (ESI Y MALDI) al igual que los análisis de Microscopía electrónica de Barrido (SEM) fueron realizados en el servicio externo CACTUS.

b. Síntesis del Monómero Objetivo

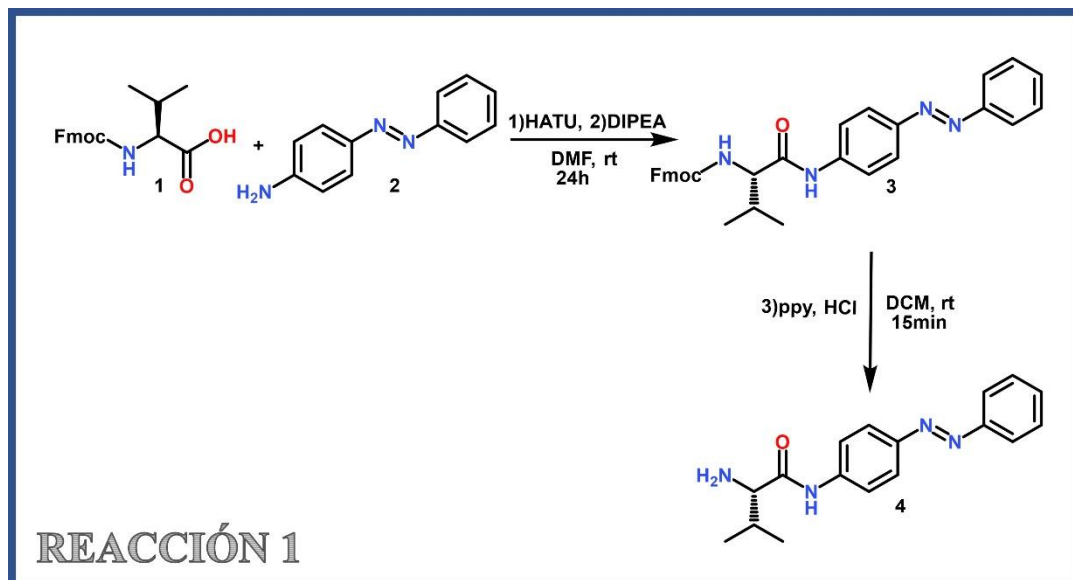


Figura 24: Reacción de formación del grupo amida precursor del monómero objetivo, a partir de una amina primaria y un ácido carboxílico activado, seguido de la desprotección del grupo FMoc con ppy.

Tras disolver la N-Fmoc-L-Valina (**1**) (1.00 g, 1.00 equiv) en 22.5 mL de DMF (seco) bajo agitación magnética, se adiciona a la mezcla hexafluorofosfato de 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU, 1.29 g, 1.15 equiv) y diisopropiletilamina (DIPEA, 0.59 mL, 1.15 equiv). Tras dejar la disolución en agitación durante 10 minutos, para completar la activación del ácido, se adiciona 4-aminoazobenceno (**2**) (0.67 g, 1.15 equiv) y se deja la mezcla en agitación y bajo Ar “*overnight*” (24h). Pasado este tiempo, se comprueba que ha finalizado la reacción mediante la técnica de cromatografía en capa fina (TLC), utilizando una mezcla de eluyentes Hexano:AcOEt (1:1). Una vez confirmado el fin de la reacción, se concentra la disolución obteniendo un producto viscoso de coloración rojiza. El crudo de reacción se disuelve en DCM y se adicionan 10 mL de piperidina (ppy) al 20 % en volumen. Tras dejar la mezcla en agitación durante 10 minutos, se comprueba por TLC (7:3, Hexano:AcOEt) que la reacción ha finalizado. El compuesto se purifica en columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice (40-63) y como fase móvil una mezcla de eluyentes Hexano:AcOEt en gradiente de polaridades. Finalizada la purificación, se recogen los tubos correspondientes al producto y se concentran a sequedad. Se obtienen 398.7 mg de producto de reacción (**4**) (46% de rendimiento).

Una vez secado a alto vacío, se prepara un tubo con una porción de producto para ser analizado por Resonancia Magnética Nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C), utilizando como disolvente CDCl_3 y TMS como patrón interno.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 9.78 (s, 1H; H3), 7.99 – 7.71 (m, 6H), 7.47 (dd, 5H), 3.40-3.34 (d, 1H; H2), 2.54 – 2.41 (m, 1H; H9), 1.07-1.04 (d, 3H; H10), 0.90-0.87 (d, 3H; H10).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 173.2, 153.0, 149.2, 140.7, 131.0, 129.4, 124.3, 123.0, 119.7, 60.8, 31.1, 20.1, 16.3.

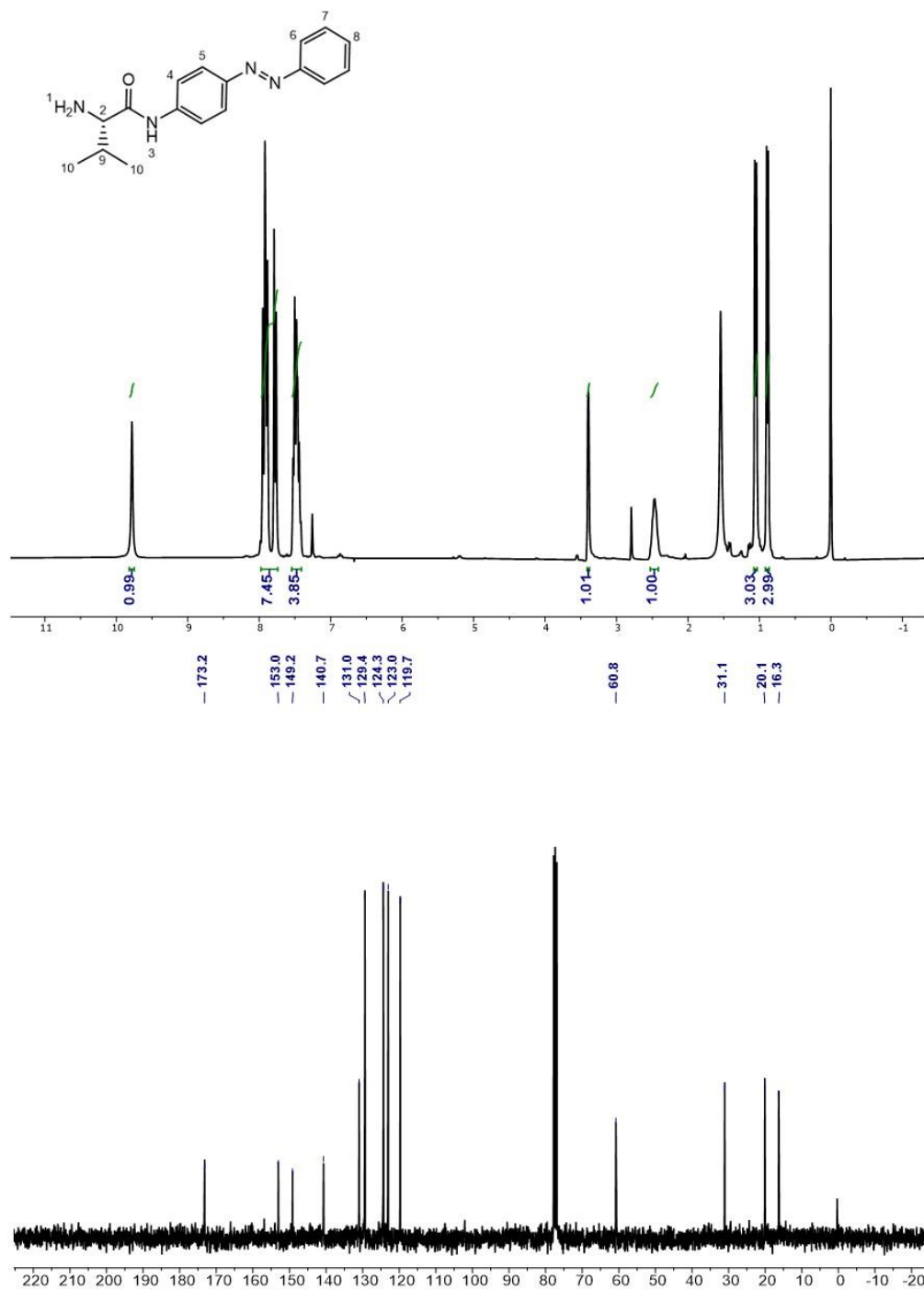


Figura 25: Espectro RMN ^1H y ^{13}C , respectivamente para el producto 4.

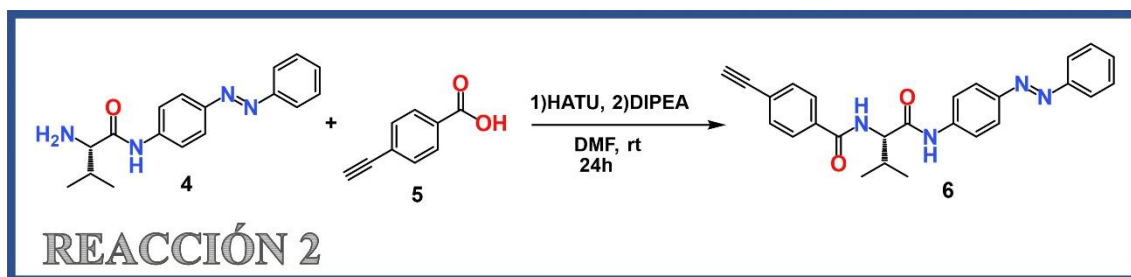


Figura 26. Reacción de formación de una segunda amida, a partir de una amina primaria y un derivado del ácido benzoico activado.

Tras disolver el ácido 4-etinilbenzoico (**5**) (0.73 g, 1.6 equiv) en 15 mL de DMF (seco) se adiciona hexafluorofosfato de 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU, 0.82 g, 1.6 equiv) e inmediatamente después diisopropiletilamina (DIPEA, 0.38 mL, 1.6 equiv), activando así el ácido. Tras dejar la mezcla en agitación durante 10 minutos, se adiciona al matraz de reacción el (2*S*)-2-amino-3-metil-N-[4-[(*E*)-2-phenyldiazen-1-yl]phenyl]butanamide (**4**) (0.40 g, 1 equiv) obtenido en la etapa anterior. Se deja la mezcla en agitación magnética y bajo atmosfera de Ar “*overnight*” (24h). Pasado este tiempo, se comprueba que ha finalizado la reacción mediante la técnica de cromatografía en capa fina (TLC), utilizando una mezcla de disolventes Hexano:AcOEt (1:1). Una vez confirmado el fin de la reacción, se concentra la disolución a sequedad.

A continuación, el crudo se disuelve en DCM y se extrae tres veces con HCl (1M) y NaHCO₃ (saturado). Seguidamente, se recoge la fase orgánica, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se filtra por gravedad. La disolución obtenida se concentra a sequedad para purificarse mediante cromatografía en columna. Para ello, se utiliza como fase estacionaria gel de sílice (40-63) y como fase móvil una mezcla de eluyentes Hexano:AcOEt en gradiente de polaridades. Se controla el avance del proceso mediante TLC 1:1 (Hexano:AcOEt). Finalmente, el producto recogido se concentra a sequedad, obteniendo 334.8 mg producto de reacción (**6**) (59% de rendimiento).

Una vez secado a alto vacío, se prepara un tubo con una porción de producto para ser analizado por Resonancia Magnética Nuclear (RMN de ¹H y ¹³C), utilizando como disolvente CDCl₃ y TMS como patrón interno.

$$[\alpha]_D^{20} = +3.42 \text{ (1 mg/mL, CHCl}_3\text{)}$$

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ_H (ppm): 10.56 (s, 1H; H6), 8.68 (d, 1H; H4), 7.98 – 7.82 (m, 8H), 7.58 (dd, 5H), 4.44 (t, 1H; H5), 4.38 (s, 1H; H1), 2.23 (dt, 1H; H12), 1.01 (t, 6H; H13).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ_C (ppm): 171.4, 166.5, 152.4, 148.1, 142.3, 134.5, 132.0, 131.5, 129.8, 128.4, 125.0, 124.2, 122.8, 120.0, 83.3, 83.2, 60.9, 30.4, 19.7.

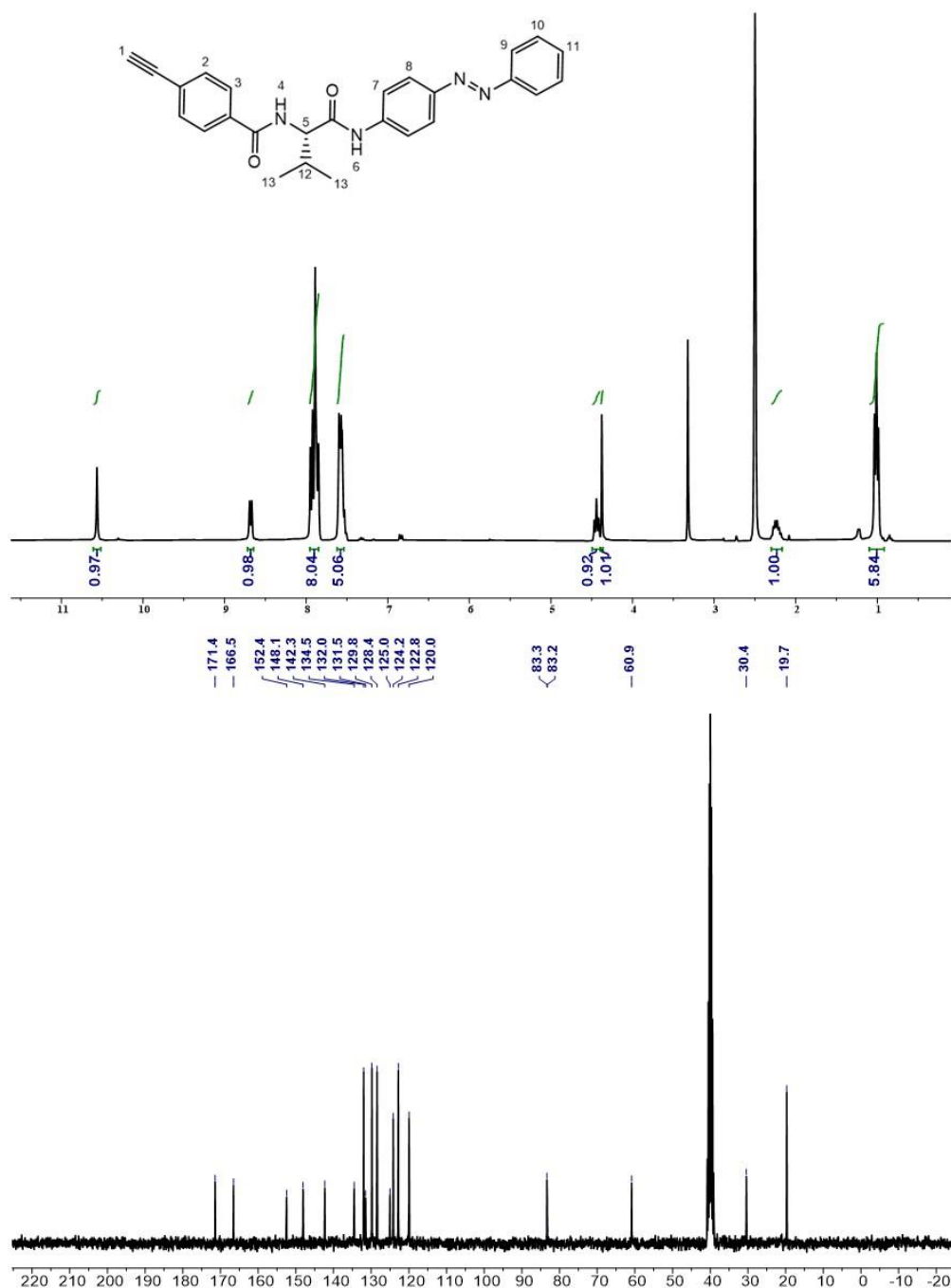


Figura 27: Espectro RMN ¹H y ¹³C, respectivamente para el producto 6.

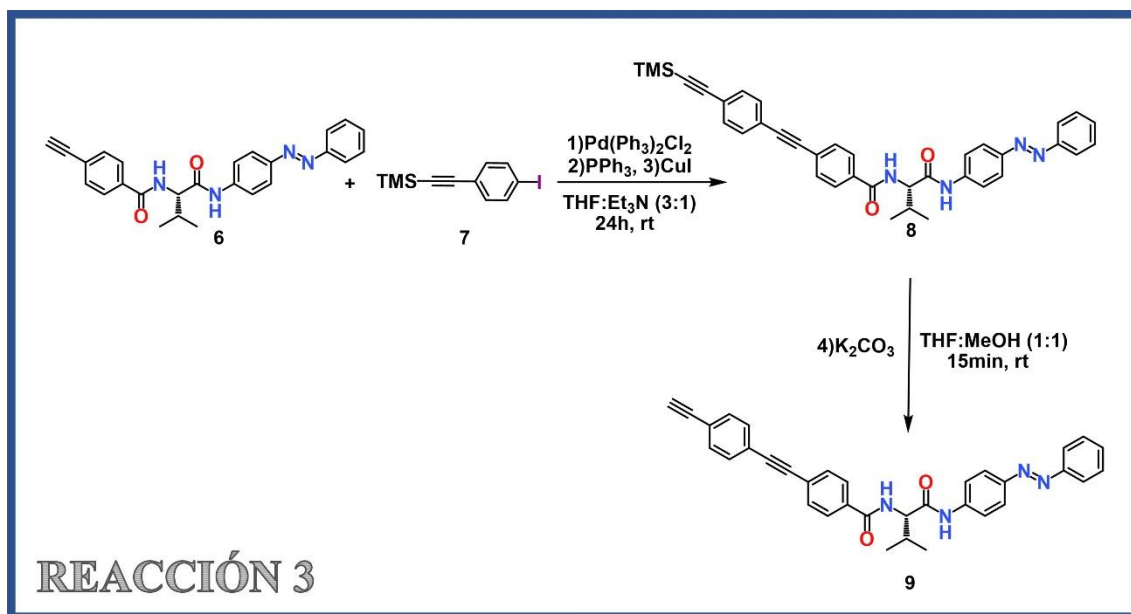


Figura 28: Reacción de Sonogashira. Se produce el acoplamiento entre un grupo acetileno terminal (compuesto 6) y un haluro de arilo (compuesto 7), seguido de la desprotección del grupo TMS con K_2CO_3 .

Bajo atmósfera de Ar, se adicionan al matraz de reacción, tanto el [(4-iodophenyl)methylidyne]trimethylsilane (**7**) (0.34 g, 1.5 equiv) como el catalizador $Pd(Ph_3)_2Cl_2$ (0.022 g, 0.004 equiv). A continuación, se adiciona PPh_3 (0.033 g, 0.016 equiv) y finalmente CuI (0.036 g, 0.024 equiv). Se disuelven los reactivos en una mezcla de THF (seco): Et_3N (3:1). Por último, se adiciona el (2*S*)-2-[(4-ethynylphenyl)amino]-3-methyl-N-{4-[(*E*)-2-phenyldiazen-1-yl]phenyl}butanamide (**6**) (0.34 g, 1.00 equiv) obtenido en la reacción anterior, manteniendo agitación magnética “overnight” (24h). Pasado este tiempo, se comprueba mediante TLC que la reacción ha concluido utilizando como eluyente una mezcla de disolventes 1:1 (Hexano:AcOEt). El producto de reacción (**8**) se concentra a sequedad y se disuelve en una mezcla de THF:MeOH 1:1. Una vez disuelto, bajo agitación magnética se adiciona K_2CO_3 (0.27 g, 2.50 equiv). Pasados 15 minutos se controla el avance de la reacción mediante TLC usando como eluyente una mezcla de disolventes 1:1 (Hexano:AcOEt).

Una vez finalizada la reacción, se concentra la disolución obtenida a sequedad. El producto obtenido se purifica en columna cromatográfica, utilizando gel de sílice (40-63) como fase estacionaria y una mezcla de disolventes 8:2 (Hexano:AcOEt) como fase móvil. Obteniéndose así 144.6 mg (37% de rendimiento).

Una vez secado a alto vacío, se prepara un tubo con una porción del producto para ser analizado por Resonancia Magnética Nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C), utilizando como disolvente DMSO y TMS como patrón interno.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ_{H} (ppm): 10.58 (s, 1H; H8), 8.69 (d, 1H; H6), 7.99 – 7.82 (m, 9H), 7.57 (m, 6H), 4.48 (t, 1H; H7), 4.36 (s, 1H; H1), 2.26 (m, 1H; H14), 1.02 (t, 6H; H15).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ_{C} (ppm): 176.2, 171.3, 157.2, 152.9, 147.1, 139.3, 137.3, 136.9, 136.8, 136.5, 136.2, 134.6, 133.3, 133.2, 129.8, 128.9, 127.6, 124.8, 88.1, 88.0, 65.6, 35.2, 24.4.

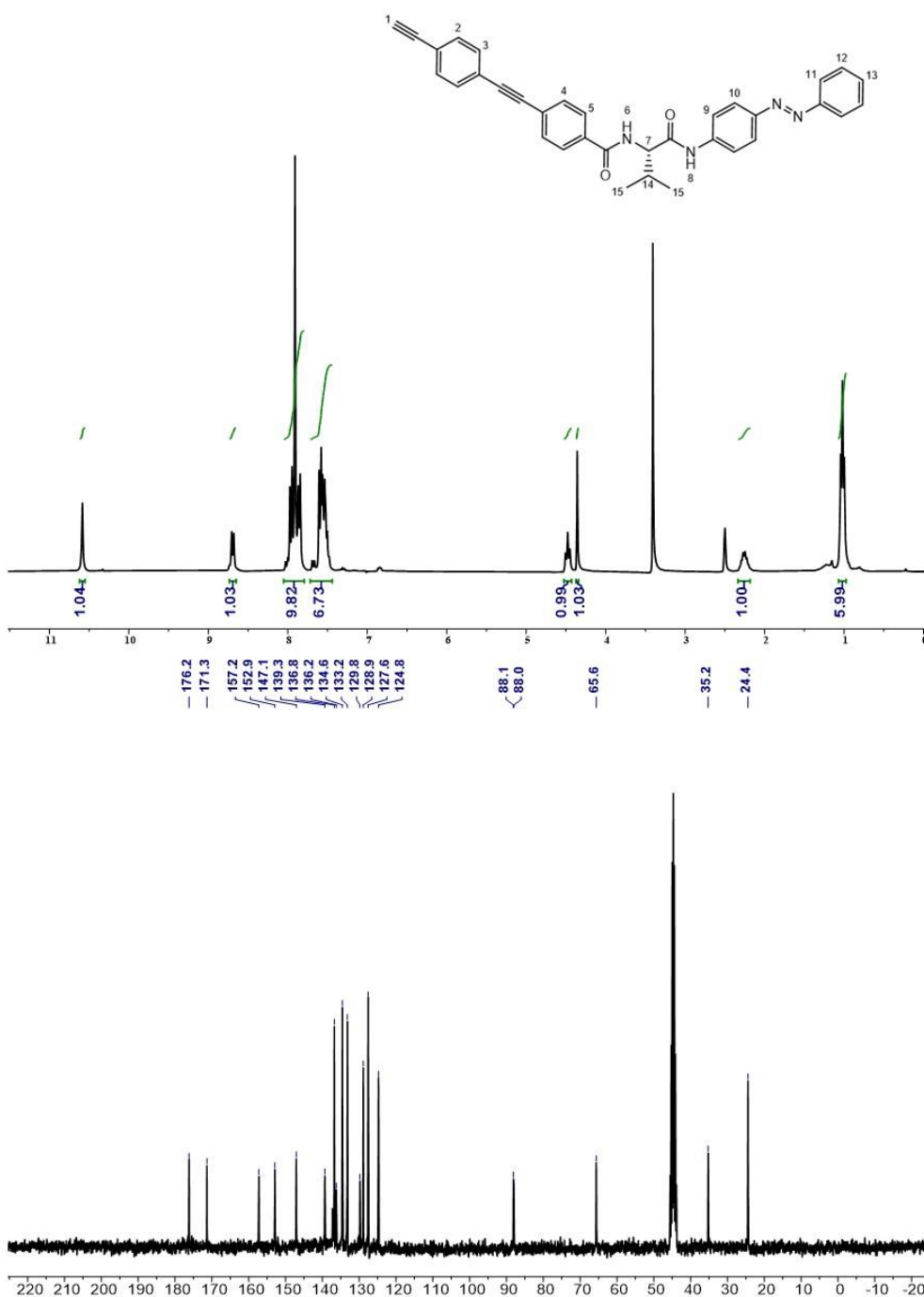
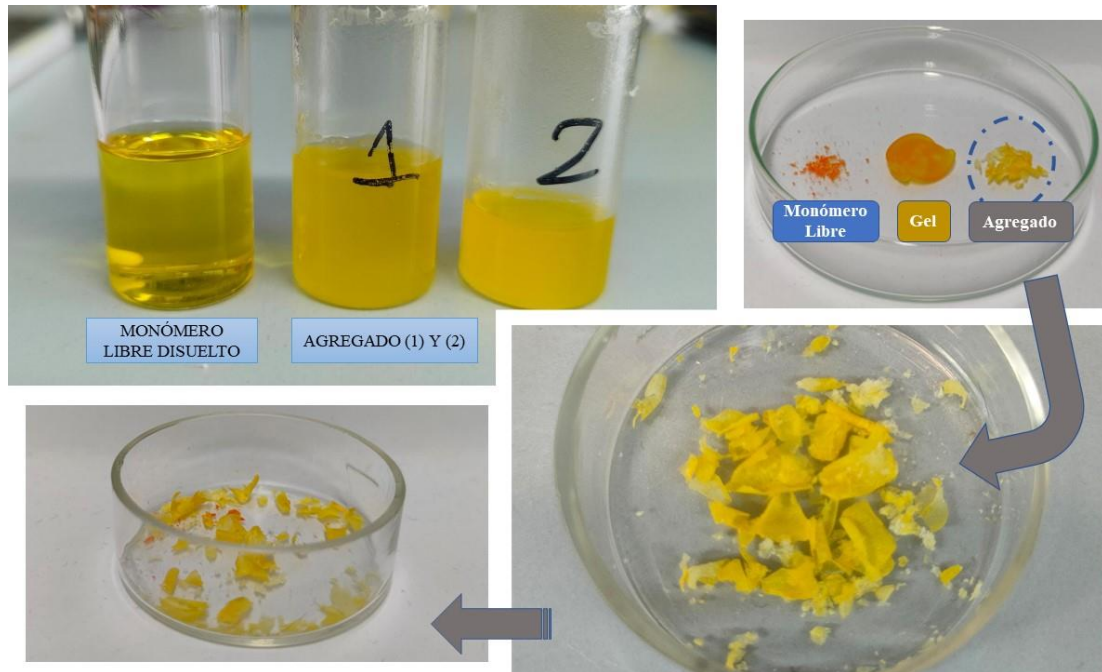


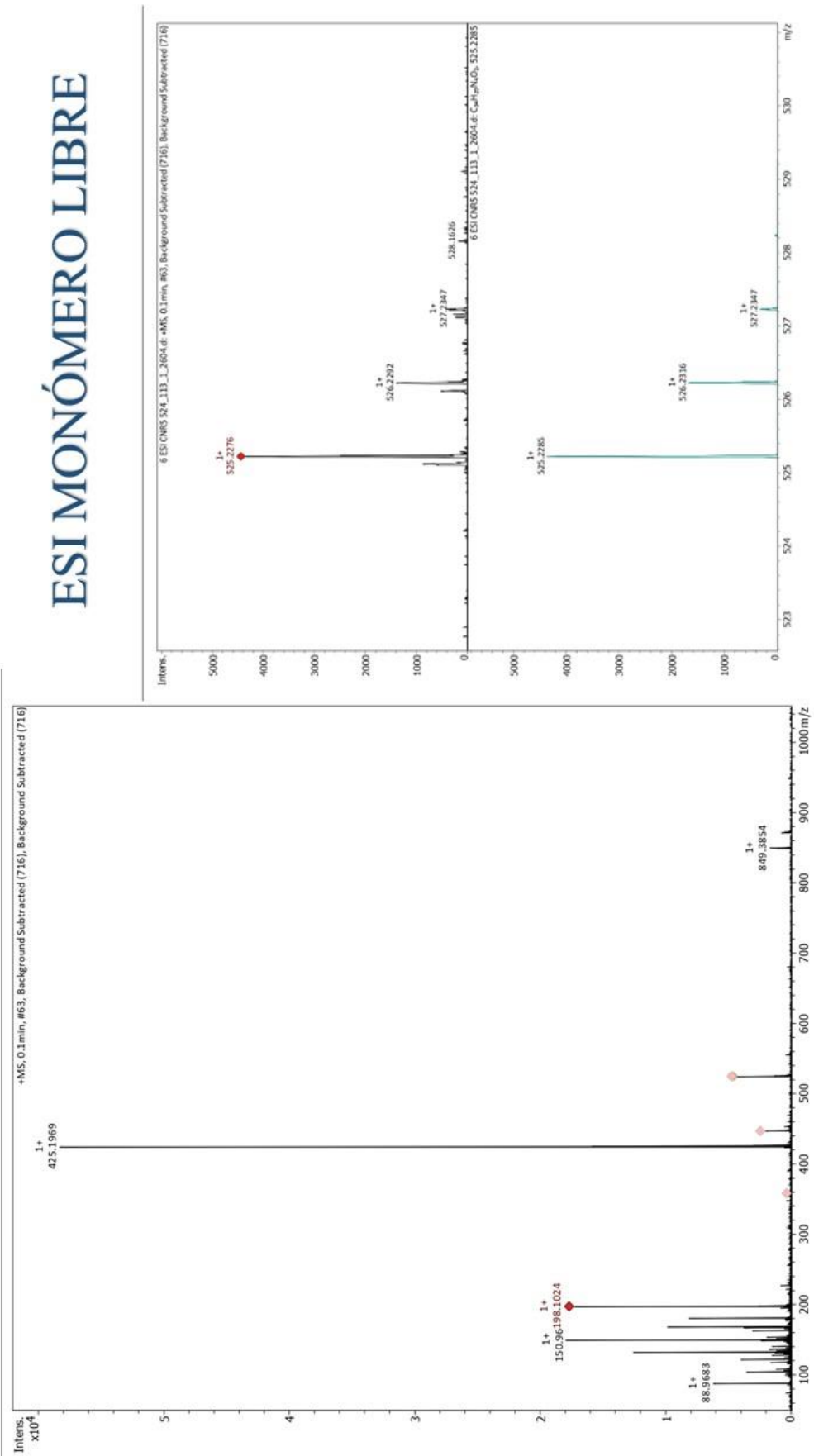
Figura 29: Espectro RMN ^1H y ^{13}C , respectivamente para el producto 9, monómero objetivo.

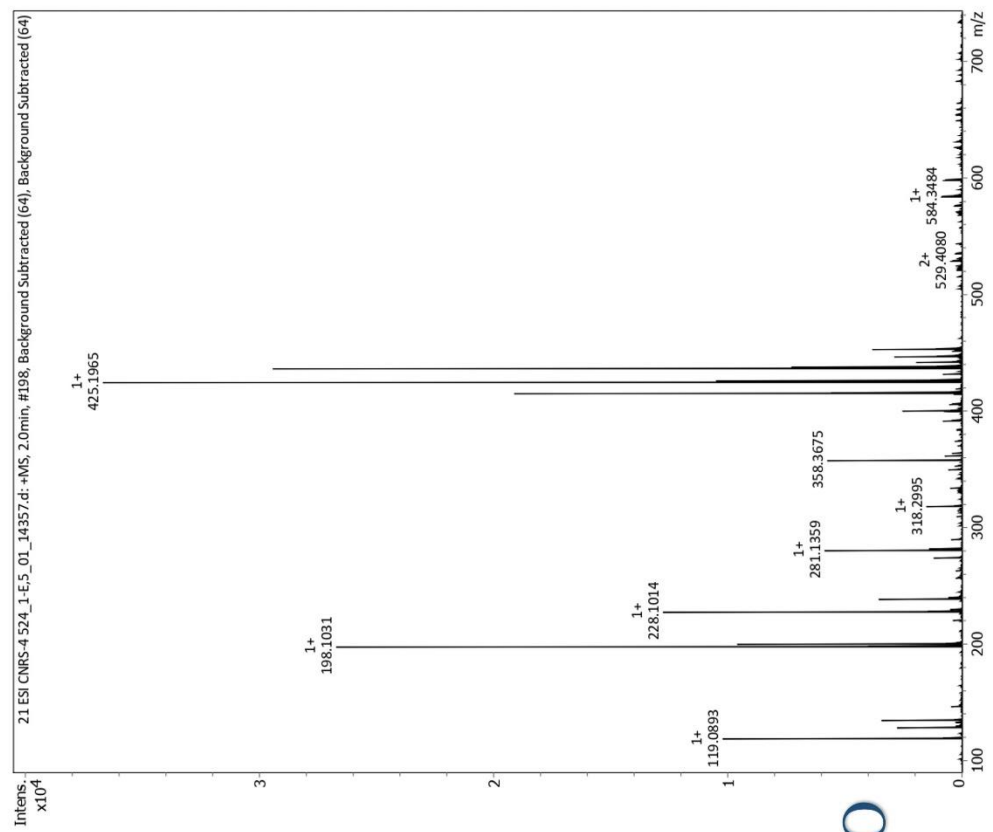
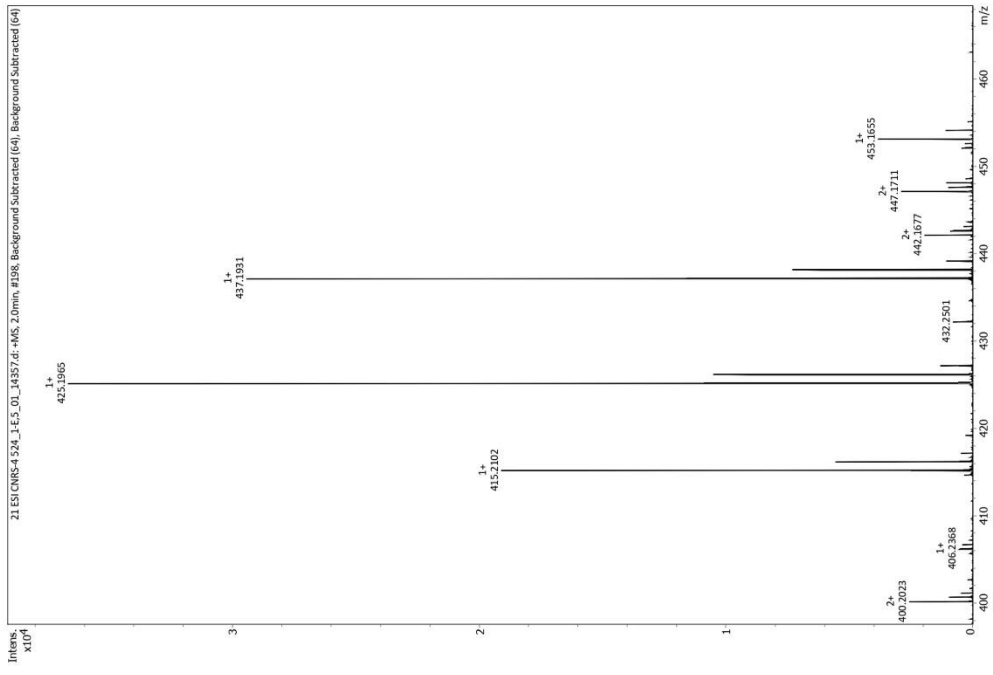
8. ANEXOS

a. Imágenes Ensayos



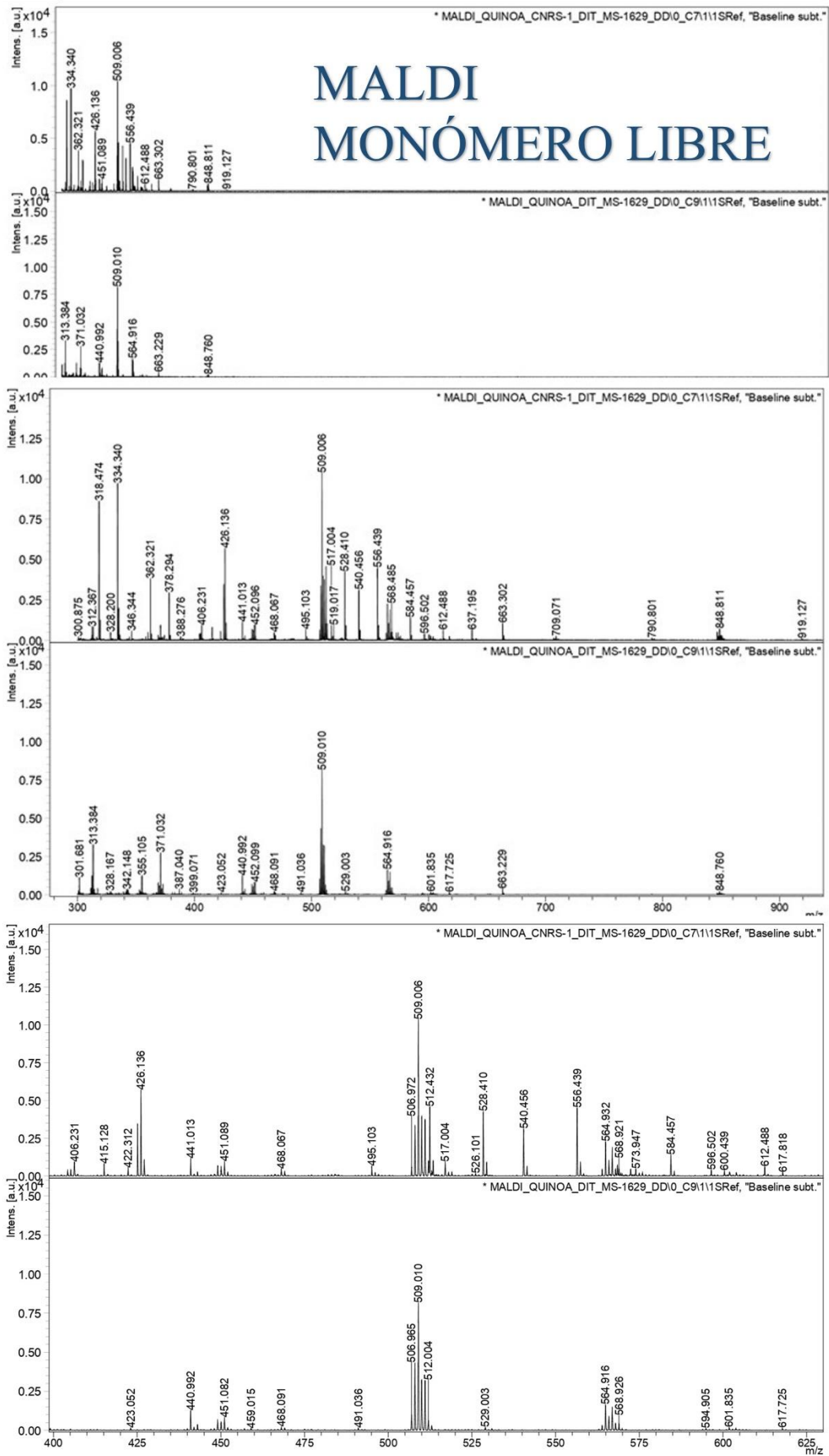
b. Espectros de Masas





ESI
AGREGADO

MALDI MONÓMERO LIBRE



MALDI AGREGADO

