CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESIS DE DOCTORADO

RECONOCIMIENTO DE ANIONES POR PILARARENOS Y FORMACIÓN DE SURFACTATES SUPRAMOLECULARES

Borja Gómez González

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2018

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

RECONOCIMIENTO DE ANIONES POR PILARARENOS Y FORMACIÓN DE SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES

D. Borja Gómez González

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.
4) Confirmo que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.

En Santiago de Compostela, Mayo de 2018.

Fdo. Borja Gómez González

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

RECONOCIMIENTO DE ANIONES POR PILARARENOS Y FORMACIÓN DE SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES

D. Luis García Río
D. Nuno Miguel Jesuíno Basílio

INFORMA/N:

Que la presente tesis se corresponde con el trabajo realizado por D. ***Borja Gómez González****, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de ésta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.*

En Santiago de Compostela, Mayo de 2018.

Fdo. Luis García Río

Fdo. Nuno Miguel Jesuíno Basílio

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Agradecimientos

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis, Luis García Río y Nuno Miguel Jesuíno Basílio, por animarme a iniciar esta aventura, por vuestra dedicación, confianza y orientación en el desarrollo de este trabajo.

También quiero dar las gracias a los profesores colaboradores del grupo, Pedro Rodríguez Dafonte y Mercedes Parajó Montes.

Gracias a todos mis compañeros de laboratorio, por toda vuestra ayuda prestada y por hacer mucho más llevaderas las horas pasadas en el laboratorio. A los que ya se han ido: Luz, Márcia, Miguel, Serxio, Silvia y especialmente a Vitor. Gracias por ayudarme a dar los primeros pasos en el laboratorio. Por supuesto a María y a Pepita, tantos años, tantas historias, que no las puedo poner aquí, gracias. A los que todavía están: Alba, Ángel, Álvaro, Bea, Mariña y Roberto, gracias tanto por lo que me enseñasteis como por los buenos momentos compartidos. Y gracias también a los que estuvieron sólo por un tiempo: Eduardo, Nitin y Lucía, espero volver a veros.

Me gustaría dar las gracias a la profesora María Rita Paleo Pillado y a toda la gente del grupo del profesor Francisco Javier Sardina López, por su trato y apoyo en toda la parte relacionada con la química orgánica sintética de este trabajo. Gracias a Fernando, Gustavo, Juan, Karen, Lucas, Silvia…

Gracias a Manuel, Mencha y Ramón, responsables de la unidad de RMN de la USC, por vuestra paciencia y por toda la ayuda prestada.

Gracias también a toda la gente que compone el CIQUS.

Gracias al profesor Rodrigo Montecinos Escobar, de la Pontífica Universidad Católica de Chile, por su colaboración con los experimentos de dinámica molecular.

Gracias a todos los amigos que conocí en esta bonita ciudad, en especial a Adam, Andrea, Camille, Fátima, Javichu, Miguel, Miriam… y a toda la gente con la que coincidí durante todos estos años.

Gracias a toda mi familia y amigos por estar siempre ahí, haciendo que todo sea más fácil. Gracias a Yoel, Aroa, Carla, Tania, Diego, Álex, Cristián, Luisito, Vane, Jose, Monchito, María, David, Olga, Manolo, Olalla….no puedo poneros a todos. Gracias de verdad.

Y, sobre todo, gracias a mis padres, a quien debo absolutamente todo. Gracias por vuestro cariño, por creer en mí, por valorar mi trabajo más que yo mismo y por enseñarme que, cuando parece que todo va mal, siempre habrá un lugar donde me reciban con los brazos abiertos. Sin vuestro incondicional apoyo este trabajo no sería posible.

A todos aquellos de los que me haya podido olvidar y que hayan sido importantes en esta etapa de mi vida, les pido disculpas y les doy las gracias de corazón.

Gracias.

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN
CTQ2014-55208-P
CTQ2017-84354-P

XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE CULTURA, EDUCACIÓN E ORDENACIÓN UNIVERSITARIA
GR 2007/085
IN607C 2016/03
ED431G/09
PROYECTO COFINANCIADO POR LA UNIÓN EUROPEA
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL

A mis padres,

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ÍNDICE

SINOPSIS ***1***

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES ***7***

1.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR 7

1.2 INTERACCIONES NO COVALENTES 10

1.3 COMPLEJOS DE INCLUSIÓN 13

1.4 AUTOENSAMBLAJE DE SURFACTANTES 16

1.4.1 MICELAS 21

1.4.2 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES 23

1.4.2.1 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES BASADOS EN INTERACCIONES *HOST-GUEST* 25

1.5 CALIXARENOS 27

1.5.1 SULFONATOCALIXARENOS 30

1.6 PILARARENOS 32

1.6.1 SÍNTESIS DE PILARARENOS 34

1.6.2 FUNCIONALIZACIÓN DE PILARARENOS 35

1.6.3 ESTRUCTURA DE LOS PILARARENOS 38

1.6.4 PROPIEDADES *HOST-GUEST* DE LOS PILARARENOS 40

1.7 BIBLIOGRAFÍA 44

2. QUÍMICA HOST-GUEST DE UN PILAR[5]ARENO SOLUBLE EN AGUA: EVIDENCIAS DE INTERCAMBIO IÓNICO Y DIFERENTES MODOS DE COMPLEJACIÓN ***55***

2.1 INTRODUCCIÓN 55

2.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 57

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 59

2.3.1 INTERACCIONES ENTRE H Y EL CONTRAIÓN 59

2.3.2 FORMACIÓN DE UN COMPLEJO DE INCLUSIÓN: H:G 63

2.3.2.1 ESTUDIO POR ^{1}H RMN 63

2.3.2.2 ESTUDIO POR ITC 65

2.3.2.3 INFLUENCIA DEL CONTRAIÓN 67

2.3.3 INTERCAMBIO DEL CONTRAIÓN: EVIDENCIAS DE OTRAS ESTEQUIOMETRÍAS 69

2.4 CONCLUSIONES 76

2.5 APÉNDICE 77

2.5.1 Síntesis y Caracterización de H 77

2.5.2 Espectro 2D COSY para muestra H:G (1:66) 88

2.5.3 Modelo de complejación 1:1 y 1:2 89

2.5.4 Espectros STDs saturando la señal Hb 90
2.6 BIBLIOGRAFÍA 91

3. FORMACIÓN DE COMPLEJOS INTERNOS Y EXTERNOS ENTRE UN PILAR[5]ARENO Y DIFERENTES GUESTS 95

3.1 INTRODUCCIÓN 95
3.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 97
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 99
3.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS POR RMN 99
3.3.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE ASOCIACIÓN Y LA ESTEQUIOMETRÍA POR ITC 104
3.3.3 SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR 107
3.4 CONCLUSIONES 109
3.5 APÉNDICE 110
3.5.1 Complejación con otros *guests* 110
3.5.1.1 Complejación con el 4-bifenilsulfonato sódico 110
3.5.1.2 Complejación con el 3-fenantrensulfonato potásico 112
3.5.1.3 Complejación con alcanosulfonatos lineales 113
3.6 BIBLIOGRAFÍA 119

4. RECONOCIMIENTO DE ANIONES POR PILAR[5]ARENOS CATIÓNICOS 125

4.1 INTRODUCCIÓN 125
4.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 127
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 129
4.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN BROMURO 129
4.3.2 ESPECIACIÓN DE LOS SITIOS DE RECONOCIMIENTO 132
4.3.3 RECONOCIMIENTO DE UN ANIÓN EXTERNO COMO UN PROCESO DE INTERCAMBIO IÓNICO 135
4.4 CONCLUSIONES 141
4.5 APÉNDICE 142
4.5.1 Calibración del ESI con NaBr 142
4.5.2 Cálculo de la concentración de bromuro libre 145
4.5.3 Derivación y ajuste de la ecuación para la complejación de hasta seis contraiones bromuro por el P5A 146
4.5.4 Uso de la lucigenina para verificar la complejación de los contraiones bromuro por el P5A 149
4.5.5 Derivación de los microestados 152
4.5.5.1 Relación entre las constantes microscópicas y macroscópicas 153
4.5.5.2 Derivación de la ecuación para la complejación de hasta 6 contraiones por las diferentes microespecies del P5A 155
4.5.6 Titulaciones ITC “one set of binding sites” entre el *p*-toluensulfonato sódico y el P5A (con tetrafluoroborato y con bromuro como contraiones) 157

4.5.7 Modelo de complejación y ajuste de las titulaciones ITC para altas concentraciones de P5A……. 158
4.5.8 Valoraciones ^{1}H RMN entre el P5A y el *p*-toluensulfonato sódico..... 160
4.5.9 Espectro de absorción UV-Vis del TS..... 160
4.5.10 Uso de la lucigenina para evidenciar la complejación y el intercambio con otros aniones inorgánicos …. 161
4.6 BIBLIOGRAFÍA..... 163

5. COMPARACIÓN DE PILAR[5]ARENOS Y CALIX[4]ARENOS PARA SU USO COMO RECEPTORES MOLECULARES DE ANIONES EN MEDIO ACUOSO 167

5.1 INTRODUCCIÓN..... 167
5.2 MÉTODO EXPERIMENTAL..... 169
5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 170
5.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN POR EL MACROCICLO 170
5.3.2 COMPLEJACIÓN CON EL *P*-TOLUENSULFONATO SÓDICO 173
5.3.3 COMPLEJACIÓN CON EL 4-HIDROXIBENZOATO..... 176
5.4 CONCLUSIONES..... 179
5.5 APÉNDICE..... 180
5.5.1 Síntesis y Caracterización de los macrociclos 180
5.5.1.1 Síntesis y Caracterización del TMAP5..... 180
5.5.1.2 Síntesis y Caracterización del IP5..... 181
5.5.2 Modelo Competitivo 182
5.6 BIBLIOGRAFÍA..... 184

6. UTILIZACIÓN DE UN PILAR[5]ARENO ZWITTERIÓNICO COMO RECEPTOR SOLUBLE EN AGUA 189

6.1 INTRODUCCIÓN..... 189
6.2 MÉTODO EXPERIMENTAL..... 190
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 192
6.3.1 AUTO-AGREGACIÓN..... 192
6.3.2 COMPLEJACIÓN CON ANIONES HIDROFÍLICOS Y CATIONES..... 192
6.3.3 COMPLEJACIÓN CON ANIONES HIDROFÓBICOS..... 194
6.3.4 COMPLEJACIÓN CON ZWITTERIONES 198
6.4 CONCLUSIONES..... 202
6.5 APÉNDICE..... 203
6.5.1 Síntesis y Caracterización del ZWP5 203
6.5.2 Síntesis y Caracterización del ZW3 215
6.5.3 Valoraciones ITC del ZWP5 con el *p*-toluensulfonato añadiendo una sal externa..... 218
6.5.4 Valoraciones ITC del pilarareno catiónico con el *p*-toluensulfonato añadiendo una sal externa……. 220
6.5.5 Espectros ^{1}H RMN del ZWP5 con el ZW2 222
6.5.6 Espectros 2D RMN del ZWP5 con el ZW3..... 222
6.5.7 Valoración ITC del ZWP5 con el ZW2..... 224

6.5.8 Valoración ITC del ZWP5 con el ZW3 añadiendo $NaBF_4$ al medio 225
6.6 BIBLIOGRAFÍA 226

7. ESTUDIO DEL SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR FORMADO ENTRE EL SULFONATOCALIX[6]ARENO METILADO Y EL BROMURO DE DODECILTRIMETILAMONIO 229

7.1 INTRODUCCIÓN 229
7.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 231
7.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 233
7.3.1 TENSIÓN SUPERFICIAL 233
7.3.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA 234
7.3.3 DIFUSIOMETRÍA DE RMN (DOSY) 235
7.3.4 NÚMEROS DE AGREGACIÓN 238
7.3.5 ESPECTROSCOPÍA ^{1}H RMN 241
7.3.6 FLUORESCENCIA 242
7.4 CONCLUSIONES 250
7.5 APÉNDICE 251
7.5.1 Síntesis y Caracterización del SC6HM 251
7.5.2 Influencia de la concentración de C_{12}TAB sobre la tensión superficial, en presencia y ausencia de SC6HM 254
7.5.3 Influencia de la concentración del C12TAB sobre la conductividad eléctrica, en presencia y ausencia de SC6HM 255
7.5.4 Estimación de la relación molar C_{12}TAB:SC6HM presente en las micelas a partir de los coeficientes de auto-difusión 255
7.5.4.1 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la concentración de monómeros de surfactante libre 257
7.5.4.2 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la concentración de surfactante micelizado 258
7.5.4.3 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la relación molar C_{12}TAB micelizado:SC6HM 259
7.6 BIBLIOGRAFÍA 261

8. SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES BASADOS EN UN CALIXARENO HIDROFÓBICO 267

8.1 INTRODUCCIÓN 267
8.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 268
8.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 269
8.3.1 DETERMINACIÓN DE LA CMC DEL SC4TP MEDIANTE CONDUCTIVIDAD 269
8.3.2 DETERMINACIÓN DE CMC´s MEDIANTE LA FLUORESCENCIA DE EMISIÓN DEL PIRENO 271
8.3.3 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES 272
8.3.3.1 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{12}TAB 273
8.3.3.2 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{18}TAB 277
8.3.3.3 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{16}TAB 277
8.3.3.4 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{14}TAB 278

8.3.3.5 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{10}TAB 279
8.3.3.6 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_8TAB 279
8.3.3.7 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_6TAB 281
8.4 CONCLUSIONES 282
8.5 APÉNDICE 283
8.5.1 Síntesis y caracterización del SC4TP 283
8.5.2 Espectro UV-Visible del SC4TP 288
8.5.3 Determinación de la CMC del C_{12}TAB por medidas de conductividad 288
8.5.4 Modelo de complejación 1:1 289
8.6 BIBLIOGRAFÍA 290

9. FORMACIÓN DE COMPLEJOS HOST-GUEST DERIVADOS DE UN PILAR[6]ARENO SOLUBLE EN AGUA 295

9.1 INTRODUCCIÓN 295
9.2 MÉTODO EXPERIMENTAL 297
9.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 299
9.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN 299
9.3.2 COMPLEJACIÓN CON G1 Y G2 302
9.3.3 COMPLEJACIÓN CON G3 306
9.3.4 COMPLEJACIÓN CON G4 308
9.3.5 COMPLEJACIÓN CON G5 Y G6 310
9.4 CONCLUSIONES 311
9.5 APÉNDICE 312
9.5.1 Síntesis y Caracterización de H 312
9.5.2 Valoración ^{1}H RMN entre H y G2 319
9.5.3 Ajustes de la valoración ITC entre H y G2 320
9.5.4 Ajuste 1:1 de la valoración ITC entre H y G4 321
9.5.5 Valoración ITC entre H y G5 321
9.6 BIBLIOGRAFÍA 322

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

SINOPSIS

La presente tesis se enmarca dentro de las dos líneas generales de la química supramolecular: la química *host-guest* (anfitrión-huésped) y la química de autoasociación molecular.

El trabajo pretende estudiar la influencia de las propiedades estructurales de diferentes moléculas receptoras solubles en agua, tales como la flexibilidad, el tamaño o la preorganización tanto para formar complejos de inclusión con pequeñas moléculas e iones como para inducir la formación de agregados coloidales.

Así, en el primer capítulo, a modo de introducción, se describen algunos de los conceptos básicos asociados a la formación de complejos de inclusión y de agregados coloidales, además de los principales aspectos relacionados con las propiedades de las moléculas receptoras empleadas en este trabajo: los pilararenos y los calixarenos.

En el capítulo 2 se muestra un profundo estudio sobre la complejación de un *guest* aniónico por un pilar[5]areno catiónico soluble en agua. Los resultados obtenidos evidenciaron la inclusión del *guest* dentro de la cavidad del pilarareno, con la constante de asociación y los parámetros termodinámicos altamente influenciados por el contraión del macrociclo. Experimentos de difusión mostraron que, aunque una fracción de los contraiones es expulsada de la cavidad del *host* por intercambio con el *guest*, se forma un complejo ternario con contraiones y el *guest* dentro del pilarareno. Además, los resultados obtenidos también mostraron por primera vez que, a altas concentraciones de *guest* en disolución, aparte de la inclusión de una molécula de *guest* en la cavidad, el pilarareno también puede formar un complejo externo con una segunda molécula de *guest*.

En el capítulo 3 se estudia el comportamiento complejante selectivo de un pilar[5]areno modificado con grupos trimetilamonio hacia diferentes *guests* en medio acuoso y bajo condiciones neutras. Aunque es bien conocida la capacidad de este macrociclo para formar complejos de inclusión, en este capítulo se enseña como la forma intrínseca de pilar del macrociclo, con dos portales cargados positivamente, permite una diversidad de los modos de enlace. Así, se reveló la capacidad del pilar[5]areno catiónico soluble en agua para complejar eficientemente dos moléculas de *guest*, una en cada portal, con dos diferentes estructuras para los complejos con estequiometría 1:1 y tres para los complejos 1:2. Además, se realizaron simulaciones de dinámica molecular para explorar las estructuras más probables de los complejos estudiados.

El capítulo 4 está dedicado al análisis cuantitativo de la complejación del contraión por un pilar[5]areno catiónico soluble en agua y el efecto que este fenómeno tiene sobre el proceso de reconocimiento de aniones orgánicos en medio acuoso. De esta forma, se muestra como el macrociclo tiene la capacidad de complejar hasta la mitad de sus contraiones, dando como resultado una familia de receptores con diferente fracción de carga neutralizada según cual sea la concentración del mismo en el medio. Una vez que se cuantifican las constantes de asociación entre el macrociclo y sus contraiones y,

conociendo las microespecies presentes en los experimentos de valoración con un *guest* externo, se proponen modelos de complejación que reflejan los equilibrios de intercambio iónico y que permiten obtener constantes de asociación reales e independientes de la concentración de macrociclo utilizada.

En el capítulo 5 se compara la capacidad de reconocimiento en medio acuoso de pilar[5]arenos y calix[4]arenos catiónicos. La complejación de aniones se evalúa tanto a partir de sus habilidades para complejar sus propios contraiones como para hacerlo con diferentes aniones orgánicos añadidos de manera externa. La complejación del contraión muestra una situación en la cual de cuatro a cinco cargas positivas del pilar[5]areno son neutralizadas, mientras que sólo una carga positiva del calix[4]areno se neutraliza para disoluciones de macrociclo de concentración igual a 1 mM. Independientemente de la menor carga neta positiva en el pilar[5]areno, su capacidad de complejación de aniones orgánicos (toluensulfonato o hidroxibenzoato) es mayor que la del calix[4]areno, permitiendo una mejor acomodación del *guest* en su cavidad. La mayor separación entre los grupos catiónicos del receptor y su región aromática rica en electrones mejora la capacidad de reconocimiento de aniones del pilarareno en comparación con el calixareno.

En el capítulo 6 se muestra la síntesis de un novedoso pilar[5]areno *zwitteriónico* soluble en agua así como su capacidad para complejar diferentes aniones orgánicos y otros *zwitteriones* mediante experimentos de RMN y de ITC. A diferencia de lo que sucede cuando se utilizan otros *hosts* iónicos, el pilarareno *zwitteriónico* no se asocia a iones inorgánicos, de tal forma que ninguna de las sales presentes en el medio afecta a los procesos de complejación entre el macrociclo y un determinado *guest*.

En el capítulo 7 se estudia en profundidad la formación de micelas mixtas compuestas por bromuro de dodeciltrimetilamonio y un sulfonatocalix[6]areno hexametilado. Por un lado se muestra como, por encima de la concentración de agregación crítica, las concentraciones de surfactante libre y micelizado están fuertemente relacionadas con la de calixareno. Mientras existe calixareno libre en la disolución, la adición de surfactante resulta principalmente en un incremento de la concentración de surfactante micelizado, pero, cuando todo el calixareno forma parte de los agregados, la adición de surfactante resulta en un aumento sustancial de la concentración de surfactante libre en disolución. Cuando la concentración de surfactante libre es igual a la concentración micelar crítica del tensioactivo puro, se observa un segundo proceso de agregación independiente. Por otro lado, también se muestra la formación de micelas a una concentración bien por debajo de la concentración micelar crítica del surfactante puro en presencia de concentraciones muy bajas de calixareno. Mientras que la concentración micelar crítica del sistema mixto resulta ser independiente de la concentración de calixareno, en el rango comprendido entre las concentraciones micelares críticas del sistema mixto y del surfactante puro, la concentración de agregados micelares mixtos sí es altamente dependiente de la concentración de macrociclo, y no tanto de la de surfactante convencional.

En el capítulo 8 se enseña la agregación de diferentes surfactantes supramoleculares basados en un sulfonatocalix[4]areno anfifílico. Los resultados evidencian la formación de un complejo de inclusión entre el calixareno y el surfactante, así como la excelente capacidad de este macrociclo para inducir la agregación de diferentes surfactantes catiónicos convencionales, llegando a obtener concentraciones micelares críticas de hasta más de 470 veces inferior a la del surfactante convencional. Un aspecto interesante del sistema mixto es el hecho de que su concentración micelar crítica es prácticamente independiente de la concentración de sulfonatocalixareno utilizada.

Finalmente, en el capítulo 9 se estudia la formación de complejos *host-guest* entre un pilar[6]areno catiónico soluble en agua y diferentes aniones orgánicos. Al igual que sucede con el pilar[5]areno análogo, el pilar[6]areno tiene la capacidad de asociarse hasta a la mitad de sus contraiones. Dicho efecto debería influir en los procesos de complejación con otros *guests* externos. El diferente tamaño de la cavidad de un pilar[6]areno y un pilar[5]areno es clave en el tipo de complejo a formarse con un determinado *guest*. Así, según cual sea el huésped aniónico, se pueden obtener complejos *host-guest* muy similares independientemente de que se utilice el macrociclo de 5 ó 6 unidades aromáticas, u otros bien diferentes, con estequiometrías de enlace superiores al utilizar el pilar[6]areno. Por otro lado, se muestra brevemente la formación de agregados supramoleculares entre el pilar[6]areno y un surfactante convencional.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 1

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

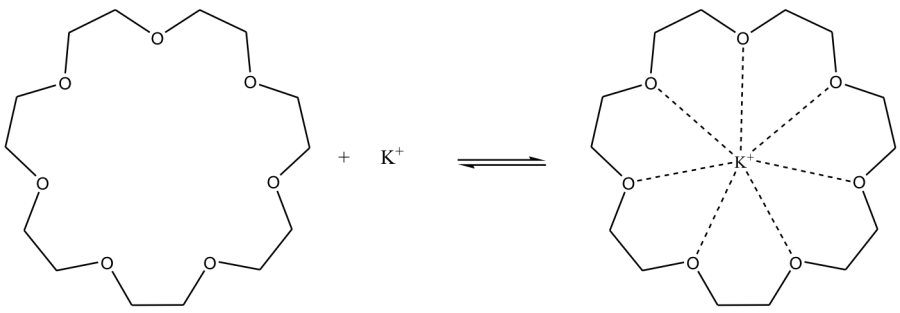
1.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

En el año 1987, Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn y Charles J. Pedersen fueron galardonados con el premio Nobel de Química "*por el desarrollo y uso de moléculas que presentan interacciones de estructura específica de alta selectividad*". Fue el comienzo y el reconocimiento de la comunidad científica a un nuevo campo emergente dentro de la química: la química supramolecular. Desde entonces, esta se ha convertido en una de las áreas más exploradas de la química experimental, atrayendo la atención de una amplia gama de científicos de otros campos tales como la física, las matemáticas o la biología, entre otros.

Conocida coloquialmente como la "química más allá de las moléculas" o como la "química del enlace no covalente",[1] la química supramolecular es la rama de la química que se dedica al estudio de entidades, complejas y organizadas, formadas por interacciones intermoleculares no covalentes de dos o más especies moleculares. Estas interacciones pueden ser de muy diversos tipos: hidrofóbicas, electrostáticas, de van der Waals, enlaces de hidrógeno, enlaces π-π…

Tradicionalmente, la química supramolecular se divide en dos campos: la química *host-guest* (anfitrión-huésped) y la química de autoasociación o autoensamblaje molecular.

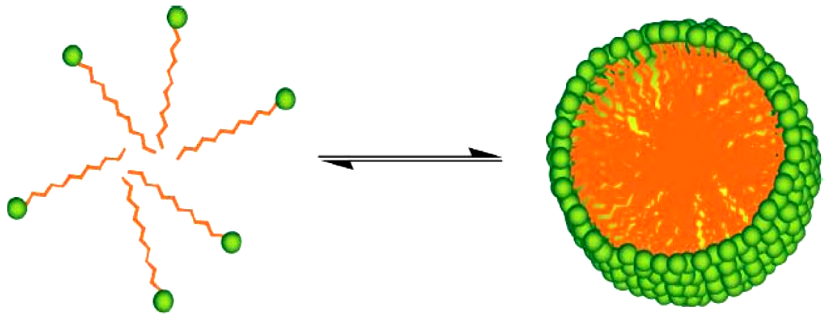
El campo de la química *host-guest* se encarga de realizar estudios sobre la complejación y el reconocimiento de moléculas o pequeños iones, que reciben el nombre de huéspedes, por parte de otras moléculas de tamaño significativamente mayor, denominadas anfitriones. Uno de los ejemplos más típicos de este tipo de sistemas es el que se forma en la complejación de éteres corona con diferentes cationes metálicos.



Esquema 1.1

En el ejemplo del Esquema 1.1, el 21-corona-7 actúa como anfitrión, mientras que el catión potasio lo hace como huésped. La estabilidad de este complejo viene dada por interacciones intermoleculares tipo ion-dipolo entre la carga positiva del potasio y los pares electrónicos libres no enlazantes de los átomos de oxígeno que posee el macrociclo.

Otra de las áreas de investigación más activas en química supramolecular se basa en los denominados procesos de autoensamblaje, y constituye un método potente y altamente eficaz para la creación espontánea y programada de estructuras complejas, a partir de unidades moleculares más pequeñas y sencillas. Un proceso de autoensamblaje molecular puede definirse como "la unión espontánea de moléculas en forma de agregados perfectamente estructurados, estables y unidos de forma no covalente". La estructura y las propiedades se encontrarán determinadas por la naturaleza y posición de sus componentes. Uno de los ejemplos más típicos de un autoensamblaje molecular es la formación de micelas por agentes tensioactivos que tiene lugar cuando se sobrepasa la concentración micelar crítica (CMC), tal y como se representa en el Esquema 1.2



Esquema 1.2

La principal diferencia entre los complejos *host-guest* y los autoensamblajes moleculares reside en la geometría y el tamaño de las especies químicas que dan lugar a las supramoléculas, ya que en los procesos de autoensamblaje todas las especies químicas que originan el agregado supramolecular presentan tamaños y geometrías similares, por lo que no puede definirse una actuación como huésped o como anfitrión.

Otra diferencia importante entre ambos sistemas es el número de subunidades moleculares que intervienen en el proceso, ya que en la gran mayoría de ocasiones es elevado en los autoensamblajes moleculares, pero en los sistemas *host-guest* no suele ser superior a 2 ó 3.

En la naturaleza podemos encontrar diversos ejemplos de sistemas supramoleculares, ya que muchos de los procesos biológicos están controlados por la acción de interacciones no covalentes.

Por ejemplo, el ácido desoxirribonucleico (ADN) está compuesto por dos cadenas autoensambladas cuya estabilidad viene dada por el establecimiento de puentes de hidrógeno entre bases complementarias, así como por fuerzas de van der Waals entre las parejas de bases contiguas, para dar lugar a la célebre estructura de la doble hélice.

Otro ejemplo son las membranas celulares, formadas por el autoensamblaje de lípidos y proteínas. De esta forma, se pueden utilizar medios coloidales que permitan simular las estructuras presentes en los seres vivos, proporcionando un modelo de comportamiento de las membranas celulares.

Por último, cabría destacar las enzimas que catalizan reacciones químicas mediante la complejación o encapsulación de sustratos, intermedios y/o estados de transición de una forma altamente selectiva, en regiones próximas al centro catalítico.

Por todo ello, muchos sistemas son diseñados con la intención de mimetizar y comprender de una forma más exacta los procesos que tienen lugar en los sistemas biológicos.

Química Supramolecular en Agua

Debido a que regula y controla muchos procesos de la naturaleza y, además, proporciona el entorno para la vida, el agua es única. Como consecuencia de muchas de sus propiedades anómalas, la investigación en agua supone un camino de retos y oportunidades.[2–5] La química supramolecular en agua es un área de investigación en constante crecimiento debido a que el estudio de interacciones no covalentes en medios acuosos es clave para obtener una mejor comprensión y control de los principales procesos que tienen lugar en la naturaleza. En los últimos años, el agua se viene utilizando cada vez más como medio de reacción por tratarse de un disolvente económico, "verde" y cuyo uso tiene un impacto ecológico mínimo. Además, sus propiedades únicas catalizan y mejoran la selectividad de muchas reacciones orgánicas.[6]

Las moléculas de agua tienen la capacidad de formar una red dinámica infinita de enlaces de hidrógeno, fenómeno no sólo responsable de sus peculiares propiedades físicas, sino también del conocido como "efecto hidrofóbico" (moléculas apolares). Por otro lado, en medio acuoso, las moléculas polares experimentan una fuerte hidratación y participan en dicha red, influyendo en sus propiedades. Estas propiedades especiales suponen dos desafíos para la química supramolecular en medio acuoso: cómo obtener la solubilidad en agua de las especies y cómo explotar la fuerte implicación del agua en los procesos no covalentes.[7]

Uno de los grandes objetivos de la química supramolecular[8] es la creación de receptores sintéticos que posean alta afinidad y selectividad por *guests* solubles en agua.[9–11] Receptores naturales, como enzimas y anticuerpos, actúan mediante una fuerte y selectiva complejación *host-guest* mediante múltiples interacciones no covalentes entre los grupos funcionales de los diferentes sitios de unión. Estos sistemas proporcionan la inspiración para el diseño racional de nuevos receptores sintéticos que puedan usarse para obtener una mejor comprensión de las fuerzas de unión que contribuyen a la formación de dichos complejos.[12]

Aunque todos los procesos de reconocimiento de la naturaleza ocurren en medio acuoso, la mayoría de los receptores sintéticos se estudian en disolventes orgánicos, pues el diseño de receptores solubles en agua representa un desafío especial. En primer lugar, que el *host* tenga que ser soluble en agua implica una limitación severa en el tipo de "piezas" que pueden usarse para la construcción del mismo. Y, en segundo lugar, la funcionalización del mismo ha de realizarse de tal forma que las interacciones especiales puedan superar la influencia competitiva del agua. El hecho de que un receptor soluble en agua pueda encapsular varias y diferentes especies permite estudiar las interacciones moleculares en un espacio aislado y llevar a cabo reacciones químicas entre ellas en medio acuoso. Una cavidad puede catalizar y dirigir una síntesis a la vez que protege la

reacción del agua, de tal forma que ese espacio aislado controla estrictamente la inclusión y las posteriores transformaciones químicas mediante factores estéricos.[13]

1.2 INTERACCIONES NO COVALENTES

Como se comentó en el apartado anterior, las interacciones no covalentes son el tipo dominante de interacción en química supramolecular y su papel es crítico para la formación y estabilidad de complejos y agregados supramoleculares. En comparación con los enlaces covalentes, las principales ventajas de este tipo de interacciones tienen que ver con su débil fortaleza y su naturaleza reversible.[14,15] Dado que la mayoría de procesos biológicos tienen lugar en agua e implican interacciones reversibles y no covalentes entre las distintas especies moleculares, es de gran importancia comprender estas interacciones con el objetivo de crear nuevos sistemas supramoleculares.[7,16] Generalmente, la combinación de las interacciones intermoleculares descritas a continuación explican la formación de dichas supramoléculas.

Interacciones electrostáticas: son interacciones *coulombianas* que resultan de la atracción generada por dos moléculas cargadas opuestamente. Comúnmente pueden clasificarse como interacciones ion-ion, ion-dipolo, dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido. De todas ellas, las interacciones ion-ion son las interacciones no covalentes más fuertes, con energías de enlace que alcanzan hasta los 350 kJ/mol, situándose en valores que pueden ser comparables en resistencia a la unión covalente y, además, son independientes de la dirección, a diferencia de lo que ocurre en las interacciones ion-dipolo, en las que se necesita de una orientación en cierta dirección para poder conseguir la máxima resistencia.[1,17]

Por otro lado, las interacciones dipolo-dipolo implican interacciones entre moléculas con un dipolo permanente que, debido a la distribución asimétrica de los electrones, es parcialmente positivo en un extremo y parcialmente negativo en el otro. En cuanto a las interacciones dipolo-dipolo inducido, puede decirse que normalmente ocurren cuando una molécula con un dipolo permanente se acerca e interacciona con una molécula no polar.

La energía de interacción de estas interacciones electrostáticas está relacionada con la distancia, r, entre los dos átomos o moléculas. En el caso de las interacciones ion-dipolo, la energía de interacción disminuye en un factor de r^2 veces conforme la distancia entre las dos especies aumenta, y de r^3 y r^4 veces para las interacciones dipolo-dipolo e ion-dipolo inducido, respectivamente.[18] El factor de disminución más elevado tiene lugar para las interacciones dipolo-dipolo inducido, con r^6 veces.

Ejemplos clásicos de interacciones electrostáticas pueden encontrarse en la complejación de *guests* catiónicos por cucurbit[n]urilos, como consecuencia de las interacciones que tienen lugar con los carbonilos del *host* (ricos en electrones), o en la unión de diferentes cationes metálicos con éteres corona (Esquema 1.1).

Enlaces de hidrógeno: son interacciones dador-aceptor entre dos átomos para formar un tipo especial de atracción dipolo-dipolo. Así, mientras que un átomo A-H actúa como donador de protones, otro átomo B lo hace como aceptor de protones, generando el enlace de hidrógeno A-H···B.[19,20] Para que esto ocurra, el átomo A debe ser lo suficientemente electronegativo como para retirar la densidad electrónica del protón, de forma que el átomo B pueda donar parte de su densidad electrónica al mismo. Para actuar como aceptor, el átomo B debe tener un par de electrones libres o π polarizables.

La fortaleza de los enlaces de hidrógeno puede variar significativamente y según la misma suelen clasificarse en tres categorías: (i) energías de enlace fuertes, que alcanzan valores cercanos a los del enlace covalente, del orden de 60-120 kJ/mol, (ii) energías de enlace débiles, con valores similares a los obtenidos en las interacciones de van der Waals (inferiores a 20 kJ/mol) y (iii) energías de enlace moderadas, con valores que oscilan entre los 20 y los 60 kJ/mol, similares a los de algunas interacciones electrostáticas. Por otro lado, cabe destacar que la fuerza de interacción en un enlace del tipo A-H···B está influenciada principalmente por tres factores: (i) la distancia entre los átomos A y H, (ii) la distancia entre los átomos B y H y (iii) el ángulo de enlace entre los átomos A, H y B. Cuánto más corta sea la distancia entre el protón y los átomos A y B, más fuerte será el enlace de hidrógeno.

Los enlaces de hidrógeno son interacciones direccionales, y serán más fuertes cuando el ángulo de enlace A-H···B alcance los 175-180º, dando lugar así a un enlace más lineal. De esta forma, para enlaces de hidrógeno clasificados como moderados y débiles, dicho ángulo de unión cambia a valores de 130-180º y 90-150º, respectivamente.[1,9]

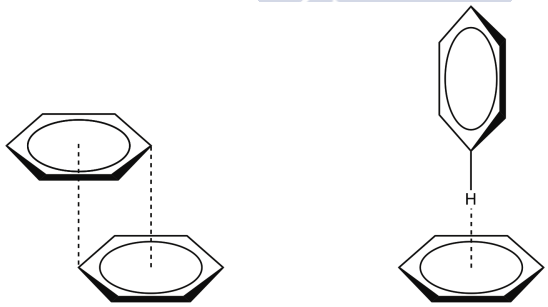
Interacciones hidrofóbicas: son interacciones relacionadas con la tendencia que tienen las sustancias no polares a agregarse en disolución acuosa, excluyendo las moléculas de agua de su estructura. Este importante fenómeno, también conocido como efecto hidrofóbico, sirve para explicar la formación de micelas, la pobre solubilidad de solutos no polares en agua e incluso el plegamiento de proteínas.[21,22]

Las moléculas de agua interaccionan fuertemente entre sí debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre ellas, sin embargo, dichas interacciones son interrumpidas cuando se añade un soluto hidrófobo. Con todo, el agua también puede interaccionar con solutos no polares a través de fuerzas de van de Waals y apilamientos π-π, que son interacciones generalmente más débiles que los enlaces de hidrógeno que las moléculas de agua forman entre sí.

Comúnmente, en química supramolecular las interacciones hidrofóbicas suelen clasificarse según la influencia en dos parámetros termodinámicos: la entalpía y la entropía. Las interacciones hidrofóbicas entrópicas surgen de la liberación al medio de las moléculas de agua situadas en el interior hidrófobo de las moléculas anfitrión cuando se compleja un huésped no polar (proceso favorable ya que resulta en un aumento de la entropía). Las interacciones hidrofóbicas entálpicas también pueden relacionarse con la liberación de moléculas de agua al medio, favoreciendo la formación de más enlaces de hidrógeno en el disolvente. Estas interacciones hidrofóbicas son la principal razón por la que anfitriones como ciclodextrinas o cucurbiturilos complejan multitud de moléculas huésped.[1,23]

Interacciones de van der Waals: en química supramolecular se refiere a interacciones entre moléculas que tienen un dipolo instantáneo y un dipolo inducido, dando lugar a una débil interacción electrostática, pero que se hace importante cuando tienen lugar entre un gran número de moléculas.[24] Este tipo de interacciones cobran importancia en la complejación de pequeños *guests* que apenas se incluyen en la cavidad del macrociclo.[25] Estas fuerzas, atractivas o repulsivas, dependen de la distancia, r, entre los átomos involucrados. Por ejemplo, las interacciones de dispersión de *London* son atractivas a cierta distancia y su fortaleza aumenta a medida que las moléculas se acercan, sin embargo, dichas interacciones se vuelven repulsivas cuando las moléculas están demasiado cerca, debido a las repulsiones entre las nubes electrónicas de ambas moléculas. En el caso de las fuerzas de dispersión, la energía de interacción decrece muy rápidamente con una dependencia de r^{-6} veces.

Interacciones de apilamiento π-π: son interacciones que ocurren entre anillos aromáticos, en las que una especie es relativamente rica en electrones y la otra pobre. Este fenómeno puede explicarse teniendo en cuenta la planaridad de los anillos, que contienen electrones π deslocalizados en ambas caras. La naturaleza polarizable de estos electrones permite que se produzcan interacciones de dispersión que pueden ser favorecidas con la presencia de núcleos más suaves y polarizables en los anillos. Además, el enlace C-H es ligeramente polar ($C^{\delta-}$–$H^{\delta+}$), de tal forma que los electrones π próximos a los átomos de carbono tienen una ligera carga negativa y los electrones más exteriores (cercanos a los átomos de hidrógeno) tienden a ser ligeramente electropositivos. De forma general, las interacciones de apilamiento aromáticas, π-π *stacking*, pueden considerarse como una combinación de interacciones electrostáticas y de dispersión.[26] La parte electrostática implica interacciones que dependen de la dirección, mientras que la parte de dispersión es considerada como una interacción no direccional. Aunque se conocen multitud de geometrías intermedias, las disposiciones comúnmente adoptadas entre anillos aromáticos que sufren interacciones π-π *stacking* son las representadas en el Esquema 1.3.[27]



Esquema 1.3

En la disposición *face-to-face*, los anillos aromáticos se colocan paralelamente entre sí pero de manera desplazada, de tal forma que las regiones de la molécula con carga opuesta se alineen entre sí. Mientras que la disposición *edge-to-face* se observa frecuentemente cuando un átomo de hidrógeno del sistema aromático, cargado

positivamente, apunta de forma perpendicular al centro del otro plano aromático (apilamiento en T).

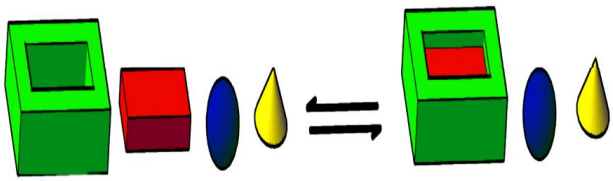
1.3 COMPLEJOS DE INCLUSIÓN

Uno de los procesos de ensamblaje más interesantes y estudiados en química supramolecular son los complejos de inclusión.[28] Los complejos de inclusión son especies en las cuales una molécula o ion (denominada huésped o *guest*) se incorpora y se aloja espacialmente en la estructura de otra molécula de mayor tamaño (denominada anfitrión o *host*) mediante el establecimiento de interacciones no covalentes.

La formación y estabilidad de un complejo de inclusión depende de diversos factores tales como el grado de complementariedad que vaya a existir entre anfitrión y huésped, la cooperatividad entre los grupos de unión, la posible preorganización de la conformación estructural del anfitrión, etc. Por esta razón existen anfitriones selectivos, ya que presentan mayor afinidad para unirse a determinados tipos de huéspedes. La constante de equilibrio para la reacción de formación de un complejo de este tipo sirve como una medida cuantitativa de la afinidad existente entre un anfitrión y un huésped determinados.

Las condiciones óptimas para que un complejo de inclusión sea estable y se forme de manera selectiva son que el huésped presente un tamaño, una geometría y unos grupos funcionales que sean complementarios y compatibles con el sitio de unión del anfitrión. Por ejemplo, una molécula anfitriona con átomos donadores de enlaces de hidrógeno tendrá mayor tendencia a formar complejos de inclusión con moléculas huésped aceptoras de este tipo de enlaces.

Sin embargo, la compatibilidad química, aunque necesaria, no es una condición suficiente y se necesita también que se cumplan unos requisitos geométricos, tales como las orientaciones espaciales y los tamaños de los huéspedes y de las cavidades de los anfitriones (Esquema 1.4).



Esquema 1.4

Debido a que, como se ha dicho, las interacciones que se producen son no covalentes (es decir, de carácter débil), los complejos de inclusión serán más estables cuantas más

interacciones existan, razón por la cual será favorable que existan múltiples sitios de unión.

También se obtendrán complejos de inclusión más estables si los anfitriones poseen múltiples sitios de unión que estén unidos entre sí a través de enlaces covalentes.

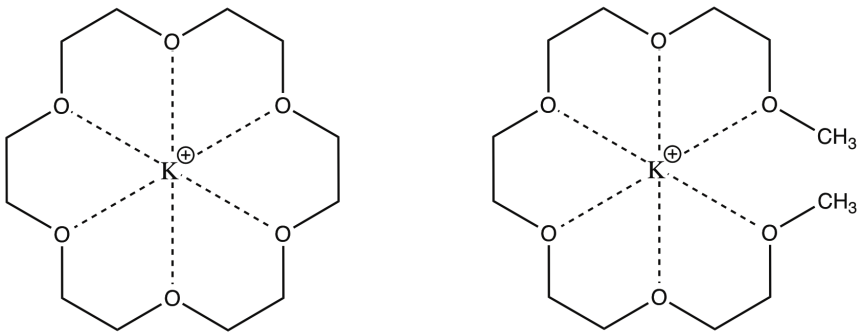
El origen termodinámico[29] de la estabilización extra de los complejos de inclusión es similar al "efecto quelato" que se da en la formación de complejos metálicos. El efecto quelato consiste en un aumento de la estabilidad de los complejos que contienen anillos quelato en comparación con la estabilidad de complejos que no tienen (o tienen menos) anillos quelato.

Aunque son muchos los factores entálpicos y entrópicos a tener en cuenta en la formación de un complejo metálico, cuando se sustituyen ligandos monodentados por ligandos bidentados es reseñable que tiene lugar un aumento de entropía del sistema, pues por cada ligando bidentado unido al metal se liberan dos monodentados. También hay que tener en cuenta un factor estadístico, pues para que un ligando bidentado se disocie, es necesario romper simultáneamente dos enlaces. Otros factores, que resultarán favorables o no, serán los impedimentos estéricos y electrostáticos.

El efecto quelato representa un ejemplo de cooperatividad entre sitios de unión individuales en la estructura de un ligando. La cooperatividad también es posible cuando un anfitrión compleja dos huéspedes. Este tipo de cooperatividad es positiva cuando la complejación de la primera especie incrementa la afinidad del receptor hacia la segunda especie, y negativa cuando ocurre lo opuesto. Cuando la complejación de la primera especie induce un cambio de conformación en un sitio remoto del receptor, afectando a la complejación de la segunda especie, el fenómeno se define como efecto alostérico,[30] en analogía a lo observado en los procesos de regulación enzimática.

Por último, otro aspecto importante a tener en cuenta para la formación y la estabilidad de los complejos de inclusión es la preorganización de la estructura del anfitrión (papel fundamental en los procesos de reconocimiento molecular) y que conduce a lo que se conoce como efecto macrocíclico.

Se denomina efecto macrocíclico al hecho de la mayor estabilidad de un complejo con un ligando macrocíclico con *n* sitios de unión en comparación con la de un complejo que contenga un ligando semejante, también con *n* sitios de unión, pero de cadena abierta.



Esquema 1.5

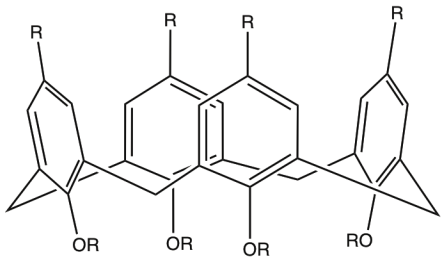
Son muy diversos los casos que ilustran de manera cuantitativa el efecto macrocíclico. Por ejemplo, la constante de estabilidad para la complejación del catión K^+ con el 18-

corona-6 es cerca de 4 órdenes de magnitud superior que para la complejación del mismo catión con el análogo de cadena abierta (Esquema 1.5).[31]

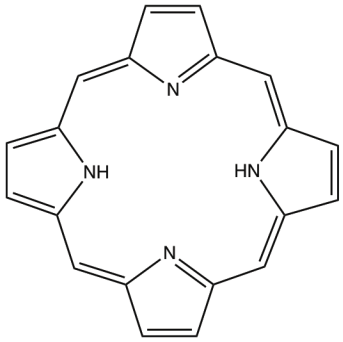
Un anfitrión preorganizado presentará una geometría bien definida con los sitios de unión en la disposición espacial adecuada para interaccionar con el huésped en su estructura,[1b] por lo que no necesita de una "energía de reorganización extra" para sufrir cambios conformacionales y que se lleve a cabo la complejación. Por lo tanto, entrópicamente el proceso va a ser favorable.

Esta preorganización puede conseguirse mediante la síntesis de moléculas anfitrión con estructuras rígidas, cavidades bien definidas y con un tamaño y sitios de unión adecuados para poder encapsular a una molécula huésped concreta.

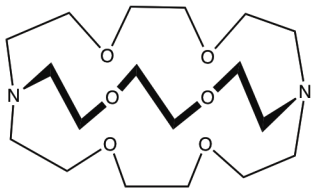
Desde el punto de vista entálpico, que el anfitrión esté preorganizado también va a ser un factor favorable. Un anfitrión flexible adopta conformaciones en las que la distancia entre grupos repulsivos sea máxima y cuando tenga lugar la complejación aparecerán fuerzas repulsivas que aumenten la entalpía y desfavorezcan el proceso. Sin embargo, si el anfitrión está preorganizado va a presentar una estructura rígida que obliga a esos grupos a interaccionar antes de la complejación, por lo que este factor no va a suponer un incremento importante de la entalpía.



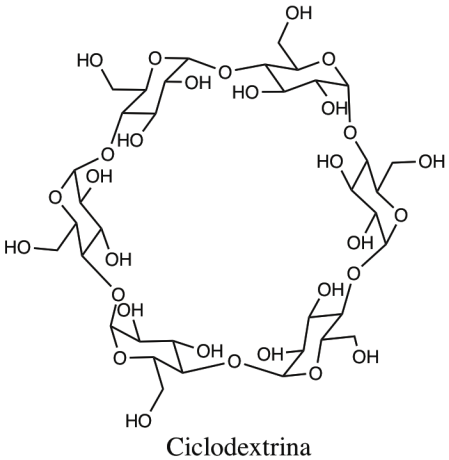
Calixareno



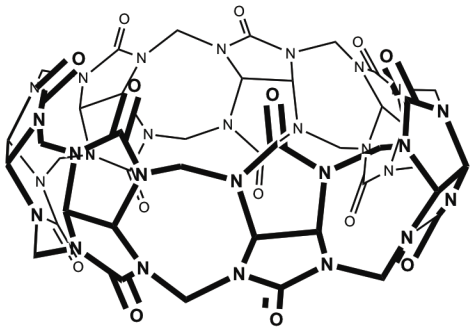
Porfirina



Criptando



Ciclodextrina



Cucurbiturilo

Esquema 1.6

La forma más utilizada para conseguir moléculas anfitrión que den lugar a complejos de inclusión estables, como los que se vienen comentando en este punto, es diseñar y sintetizar macrociclos. Cada macrociclo tendrá una afinidad mayor o menor frente a un determinado huésped, pero la ventaja que presentan es que la mayoría de ellos pueden funcionalizarse, lo que permite jugar con la selectividad del anfitrión hacia determinados huéspedes.

En el Esquema 1.6 se muestran algunos de los macrociclos más comunes y utilizados como son los calixarenos, los éteres corona, las ciclodextrinas, los criptandos, los cucurbiturilos o las porfirinas.

Debido a la importancia que viene adquiriendo la química supramolecular en los últimos años, ha surgido el interés por la preparación y diseño de nuevos macrociclos. No obstante, el descubrimiento y desarrollo de una nueva clase de macrociclos no es una tarea sencilla, pues presenta retos debido a la necesidad de crear rutas para una mayor funcionalización de estas moléculas que resulten en una buena complejación *host-guest*.

Actualmente, están empezando a cobrar especial importancia una nueva clase de macrociclos denominados pilararenos, los cuales poseen una composición similar a la de los calixarenos, pero diferentes características estructurales.[32]

1.4 AUTOENSAMBLAJE DE SURFACTANTES

Históricamente en química orgánica, el agua ha sido, por lo general, rechazada como medio de reacción debido principalmente a la baja solubilidad que presentan en ella la mayoría de los compuestos de interés. No obstante, el agua presenta propiedades únicas que la convierten en el medio idóneo para que ocurran todo tipo de procesos biológicos. Por otra parte, el hecho de que los medios acuosos no sean agresivos con el medio ambiente también ha promovido su uso a la hora de intentar llevar a cabo procesos químicos limpios.

Asimismo, se ha comprobado que reacciones como la Diels-Alder,[33,34] reagrupamientos tipo Claisen,[35] cicloadiciones 1,3 dipolares[36] y, por supuesto, reacciones de hidrólisis, ocurren de forma más rápida en medios acuosos que en medios orgánicos.[37]

La escasa solubilidad de sustratos orgánicos en agua se debe a la limitada habilidad del sustrato para acomodarse dentro de la red tridimensional que forman los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua. Aun así, el agua puede reagruparse para hidratar moléculas o grupos apolares, de forma que se establezca una hidratación hidrófoba.

El proceso de transferencia de moléculas apolares desde la fase gas a la fase acuosa es energéticamente desfavorable ($\Delta G > 0$), aun siendo favorable entálpicamente. En cambio, la contribución de la entropía es más desfavorable que la contribución de la entalpía a la variación de energía libre del proceso. Estos hechos se han relacionado con un fortalecimiento de la red tridimensional del agua respecto al agua pura. Este enfoque considera que la variación desfavorable de entropía se debe a la formación de agua más estructurada, con más enlaces de hidrógeno, o más fuertes, en la esfera de hidratación.[38]

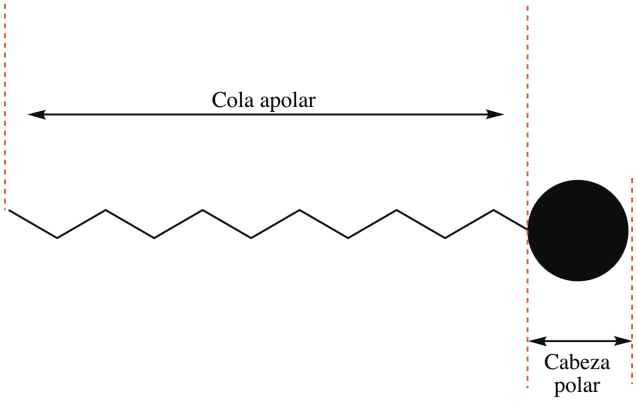
Posteriormente, diversas evidencias experimentales (dispersión de neutrones, RMN, simulaciones de dinámica molecular o estudios termodinámicos)[39] han puesto en duda la validez de este modelo.

Actualmente se acepta que las moléculas de agua que rodean a la sustancia apolar tienden a mantener su red tridimensional intacta, por lo que, en la esfera de hidratación hidrófoba, las moléculas de agua están orientadas de forma que se conserven el máximo número de enlaces de hidrógeno.[40]

Por ello, el sustrato orgánico está rodeado de moléculas de agua situadas tangencialmente respecto a la superficie del mismo, pero enlazadas por medio de enlaces de hidrógeno unas a otras. Esta orientación tangencial preferente explica la pérdida de entropía en el proceso de transferencia de moléculas apolares de la fase gas al agua.

Las interacciones hidrofóbicas son el resultado del reordenamiento de las moléculas de agua cuando dos sustratos no polares se acercan. La superposición de las esferas de hidratación asociadas provoca la expulsión al medio acuoso del agua que forma las esferas de hidratación. Además, hay que tener en cuenta las interacciones de dispersión de *London* que se establecen entre las moléculas apolares. Las interacciones hidrofóbicas pueden resultar en interacciones entre pares hidrófobos (agregados 1:1 de corto tiempo de vida y complejos de inclusión), interacciones de orden superior (pequeños agregados "unidades móviles" con número de agregación entre 3 y 10), o interacciones masivas (separación de fases y formación de micelas, vesículas, etc.). Estas últimas son las principales responsables del proceso de autoasociación de surfactantes[41] que tienen lugar en la formación de agregados con estructuras diversas.

Los agentes tensioactivos o surfactantes son compuestos que tienden a adsorberse en superficies e interfases. Son moléculas anfifílicas que se caracterizan por constar de una parte polar y otra no polar (Esquema 1.7). La parte polar, también denominada cabeza del surfactante, presenta afinidad por el agua y es, por lo tanto, hidrófila. La parte no polar o cola del surfactante, tiene poca afinidad por el agua, es decir, es hidrófoba.



Esquema 1.7

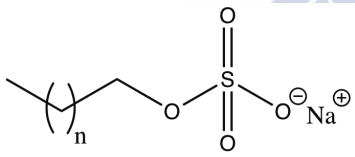
Como normalmente la cola apolar de un surfactante está constituida por una (o dos) cadenas hidrocarbonadas, los surfactantes suelen clasificarse en función de la naturaleza del grupo que forma la cabeza polar. Así, podemos distinguir entre surfactantes (Esquema 1.8):

a) Aniónicos: Son los más utilizados debido a su bajo coste de producción. La cabeza polar suele estar formada por grupos carboxilato, sulfato, sulfonato o fosfato. Los surfactantes aniónicos son muy sensibles a la concentración de sales en disolución y en general incompatibles con surfactantes catiónicos.

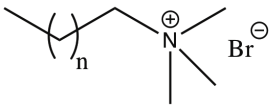
b) Catiónicos: La gran mayoría de los surfactantes catiónicos contienen un átomo de nitrógeno en el que se sitúa la carga positiva, es decir, son aminas protonadas y sales de amonio cuaternarias. Su producción es más costosa que para otro tipo de surfactantes, no son buenos detergentes y son incompatibles con surfactantes aniónicos. A pesar de ello, poseen propiedades particulares en las que se basan sus principales aplicaciones. Su tendencia a la adsorción sobre diversas superficies los hace adecuados como agentes anticorrosivos, antiestáticos, suavizantes, etc. Debido a sus propiedades bactericidas se usan como desinfectantes o esterilizantes.

c) *Zwitteriónicos*: El grupo de cabeza de este tipo de surfactantes contiene dos grupos cargados con cargas de diferente signo. Normalmente la carga positiva proviene de un grupo amonio mientras que el grupo cargado negativamente puede ser de diversa naturaleza. Son compatibles con los otros tipos de surfactantes y, aunque no son sensibles a la concentración salina, si lo son a las variaciones de pH.

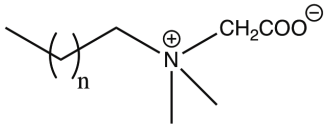
d) No iónicos: De forma general, los surfactantes no iónicos poseen un grupo polar de polihidroxilo o poliéter. Algunos ejemplos de surfactantes de tipo polihidroxilo son los basados en ésteres de sacarosa, de sorbitano o glucósidos de alquilo. Los ésteres de sorbitano son comestibles, por lo que son apropiados para su uso en la industria farmacéutica y alimentaria. El grupo más común en la industria son los poliéteres consistentes en varias unidades de polietilenglicol siendo, dentro de este grupo, los alcoholes grasos de etoxilatos los más utilizados tanto en detergentes como emulsionantes, etc. Los surfactantes no iónicos basados en ácidos grasos presentan baja toxicidad, pudiéndose utilizar también en la industria farmacéutica y cosmética. Este tipo de surfactantes es compatible con los otros tipos, lo que lo hace adecuado para formulaciones complejas. Además, no son sensibles a la adición de electrolitos, aunque sí presentan una alta sensibilidad a variaciones de la temperatura.



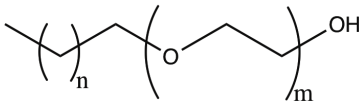
Aniónico



Catiónico



Zwitteriónico



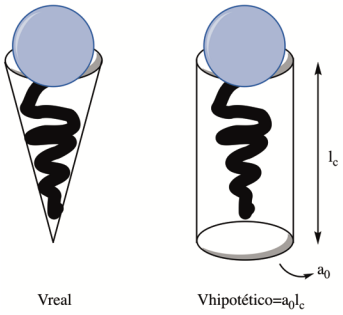
No iónico

Esquema 1.8

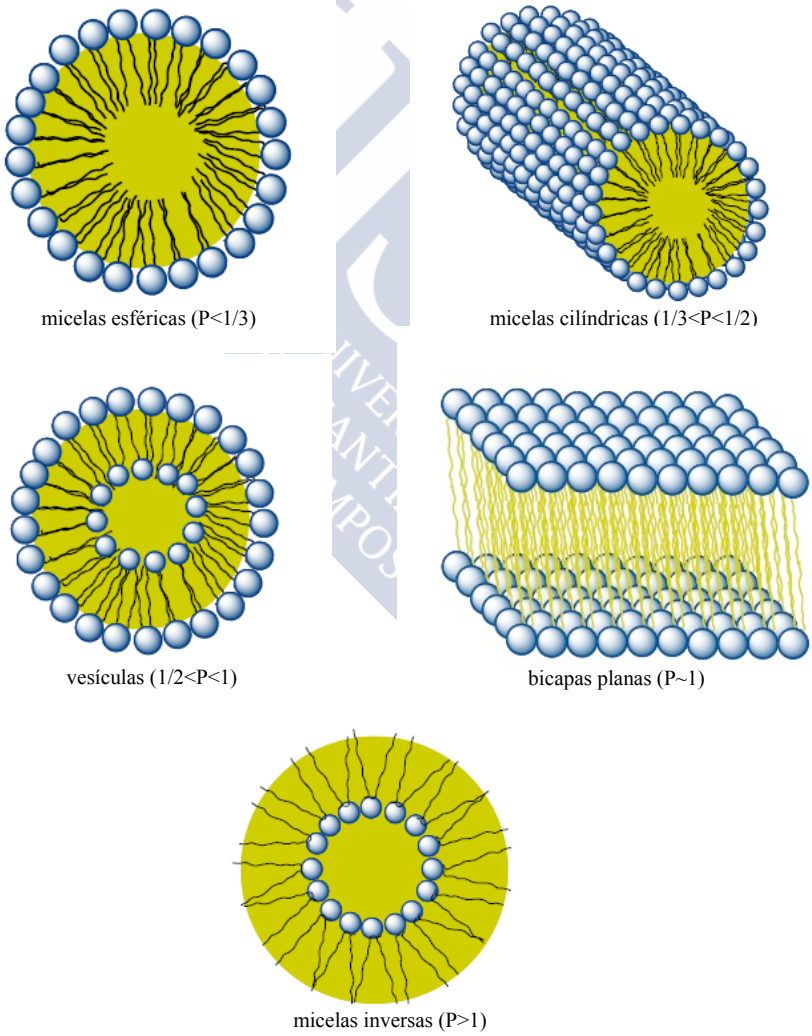
La solubilidad de los surfactantes depende fundamentalmente del balance entre las interacciones hidrófilas e hidrófobas, lo que limita la solubilidad del surfactante en su forma de monómeros. Una vez alcanzado el límite de solubilidad, tiene lugar la separación de fases, a nivel microscópico, mediante la formación de agregados, en los que las partes no polares se mantienen unidas y separadas del agua orientándose hacia el interior, mientras que las partes polares se sitúan hacia el exterior, en contacto con el agua. Estas nuevas estructuras se denominan micelas.

La estructura o geometría del agregado depende de varios factores en términos de energía libre: interacciones atractivas entre las cadenas hidrófobas de las moléculas

(contribución favorable), interacciones entre las cabezas, resultado de la repulsión electrostática, la hidratación y el impedimento estérico (contribución desfavorable) y, por último, también existe una contribución de empaquetamiento, que requiere la exclusión del agua y los grupos polares del interior hidrófobo (el empaquetamiento de las moléculas de tensioactivo será el que proporcione la situación más estable).



Esquema 1.9



Esquema 1.10

$$P = \frac{V}{a_0 l_c} \qquad (1.1)$$

Teniendo en cuenta todas las contribuciones, pueden predecirse las geometrías que adoptarán los agregados. Ninham *et al.*[42] han desarrollado un modelo que explica la morfología de los agregados teniendo en cuenta las posibilidades de empaquetamiento geométrico de las moléculas de surfactante, de forma que se define un parámetro P que proporciona la relación entre el volumen real ocupado por la cola del surfactante y el volumen hipotético de la cola si ésta fuese un cilindro de diámetro igual al diámetro de la cabeza polar (Esquema 1.9).

El tipo de agregados que va a formar un surfactante dependerá del parámetro de empaquetamiento crítico, P. En la ecuación (1.1), V es el volumen de la parte hidrófoba asumiendo que es fluida e incompresible, a_0 el área efectiva del grupo de cabeza y l_c la longitud efectiva máxima de la cadena hidrocarbonada. El parámetro l_c es un parámetro semiempírico que se puede aproximar a la longitud máxima de la cadena. De acuerdo con el parámetro P, podemos clasificar las estructuras de los agregados en 5 grupos (Esquema 1.10).[43]

Los surfactantes con $P<1/3$, como pueden ser surfactantes iónicos o no iónicos con grupos de cabeza grandes, tienen forma cónica, y dan lugar a micelas esféricas. Los valores de P comprendidos entre 1/3 y 1/2 se obtienen para surfactantes con forma de cono truncado que dan lugar a micelas cilíndricas o micelas alargadas, que son características de surfactantes iónicos en presencia de electrolitos o surfactantes no iónicos con grupos de cabeza de un tamaño intermedio. Para valores de P entre 1/2 y 1, la forma del surfactante es la de algo intermedio entre un cono truncado y un cilindro. En el caso de surfactantes con tamaños de cabeza y cola similares ($P\simeq1$, forma de cilindro), se forman bicapas planas. Los valores de P mayores que 1 son característicos de surfactantes con doble cola o de surfactantes no iónicos con grupos de cabeza cortos, y dan lugar a estructuras conocidas como micelas inversas.

El parámetro de empaquetamiento de un determinado surfactante puede variar dependiendo de diversos factores.

La concentración de sales en el medio provoca, principalmente para surfactantes iónicos, la reducción de las interacciones repulsivas entre los grupos de cabeza y, consecuentemente, la reducción del área efectiva de ésta. Por otra parte, el aumento de la asociación de contraiones al grupo de cabeza reduce el parámetro de empaquetamiento crítico.

La temperatura también puede afectar, siendo mucho más importante en el caso de surfactantes no iónicos. A medida que aumenta la temperatura se reduce el área del grupo polar de cabeza debido a que, a altas temperaturas, el empaquetamiento de estos grupos es más compacto. Por ejemplo, para surfactantes de base polioxietileno, esta variación se atribuye a que a altas temperaturas las distintas conformaciones que puede adoptar la cadena del grupo de cabeza hacen que este sea progresivamente menos polar y, por lo tanto, posea más tendencia a empaquetarse de una forma compacta para reducir las interacciones con el agua.

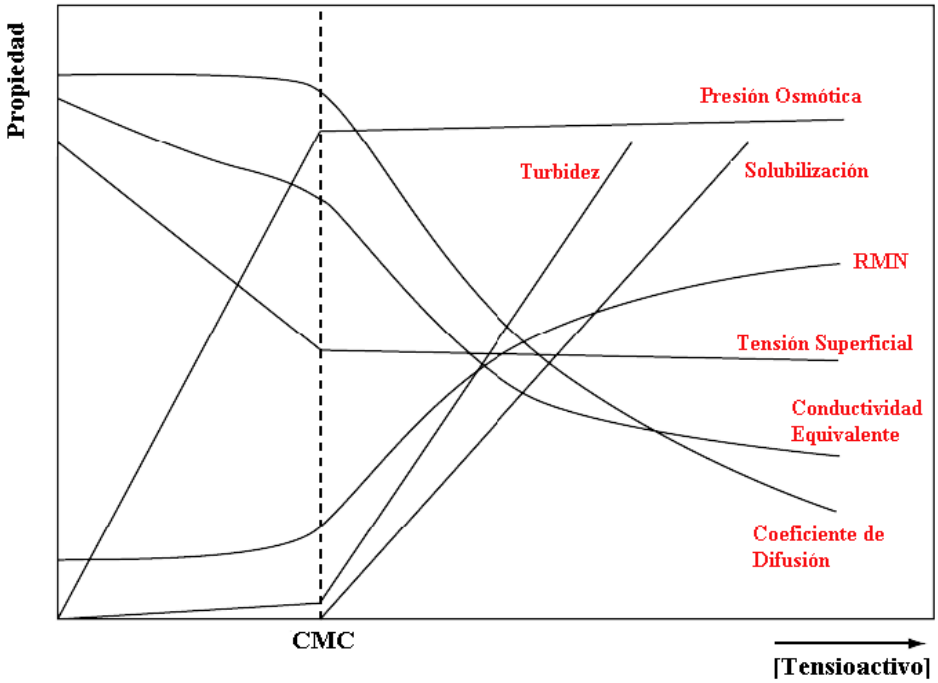
La adición de moléculas orgánicas (como alcanos o alcanodioles de bajo peso molecular) en las zonas hidrófobas puede provocar un aumento de V, con el consecuente aumento de P, facilitando la formación de micelas inversas. Cuando un agregado está formado por mezclas de surfactantes, su comportamiento se desvía de la idealidad y debe tratarse como una molécula con un empaquetamiento crítico intermedio en función del P individual de cada componente. De esta forma, para un agregado concreto, la estructura puede ser modificada por la adición de un cosurfactante.

1.4.1 MICELAS

Una micela es un agregado coloidal formado, principalmente, por surfactantes que tienen una sola cola hidrófoba. Las propiedades de las disoluciones de surfactantes son semejantes a las de los electrolitos comunes (en el caso de los surfactantes iónicos) o a la de las moléculas orgánicas (para los surfactantes no iónicos) cuando las moléculas de surfactante se encuentran como monómeros, esto es, a concentraciones bajas. Sin embargo, cuando la concentración de surfactante aumenta, los monómeros se agregan para formar micelas más o menos esféricas. La estructura formada orienta los grupos de la cabeza polares hacia el medio acuoso, protegiendo en el interior las cadenas hidrocarbonadas hidrófobas de las interacciones desfavorables con el agua.

La concentración a la cual comienzan a formarse estos agregados se denomina concentración micelar crítica (CMC). Debido a que el paso de monómeros libres a micelas lleva consigo cambios en las propiedades de la disolución, la determinación de esta concentración crítica se realiza mediante el seguimiento de una determinada propiedad del sistema, como por ejemplo la conductividad, la tensión superficial o la turbidez, en función de la concentración de surfactante.[44]

Normalmente, las propiedades físicas de una disolución cambian bruscamente (Esquema 1.11) cuando se alcanza la CMC, por lo que puede observarse fácilmente haciendo representaciones gráficas frente a la concentración de tensioactivo.[45]



Esquema 1.11

Basándonos en el modelo de separación de fases, la disolución micelar se compone de agregados micelares en equilibrio con monómeros de surfactante cuya concentración es igual a la CMC. Posteriores adiciones de surfactante modifican la concentración de micelas, pero no la concentración de monómeros libres en disolución.

La CMC de un surfactante depende principalmente de su estructura. La CMC disminuye con la longitud de la cadena hidocarbonada del surfactante, existiendo una relación lineal entre el logaritmo de la CMC y el número de átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada (cuánto más larga sea la cadena, mayor será el carácter apolar).

La CMC de surfactantes no iónicos es mucho menor que la correspondiente a los iónicos debido a la ausencia de repulsiones electrostáticas, pero dentro del mismo tipo de surfactante no existe una gran influencia de la naturaleza de la cabeza polar sobre la CMC. La naturaleza, inorgánica u orgánica, y la valencia del contraión, afectan a la CMC. La modificación de la cadena hidrocarbonada por incorporación de dobles enlaces, grupos aromáticos o polares también produce cambios significativos en la CMC.

Otros factores que afectan a la CMC son la temperatura y la adición de cosolutos. La temperatura afecta principalmente a surfactantes no iónicos, disminuyendo la CMC a medida que aumenta la temperatura, pudiéndose llegar a producir la separación de fases. La adición de electrolitos inertes afecta principalmente a surfactantes iónicos aumentando o disminuyendo la CMC dependiendo del sistema, mientras que la CMC de tensioactivos no iónicos permanece prácticamente inalterada. La CMC de surfactantes iónicos disminuye tras la adición de electrolitos siendo más pronunciada para surfactantes de cadena larga. Otro tipo de aditivos varían la CMC de diversas formas dependiendo de la polaridad del aditivo, por ejemplo, la adición de solutos no cargados como alcoholes provoca su disminución.

Las micelas son estructuras dinámicas con un tiempo de vida media de milisegundos, pero el intercambio entre los monómeros que forman el agregado y los monómeros libres en el seno de la disolución se produce en una escala de tiempo mucho menor, del orden de microsegundos.

A modo de ejemplo, en la Tabla 1.1 se muestran los valores de la CMC (en agua a 20-25 ºC) de alguno de los surfactantes de uso más común:

Tabla 1.1. Clasificación de algunos surfactantes comunes y sus CMC´s.

Surfactante	**Tipo**	**CMC / mM**
n-dodecil-β-D-maltósido	No Iónico	0.15
Decil-β-D-1-tiomaltopiranósido	No Iónico	0.9
Dodecil Sulfato Sódico	Aniónico	7-10
N-laurilsarcosina	Aniónico	14.6
Bromuro de hexadeciltrimetilamonio	Catiónico	1
Bromuro de trimetil(tetradecil)amonio	Catiónico	4-5
Amidosulfobetaína-14	Zwitteriónico	435
Amidosulfobetaína-16	Zwitteriónico	463

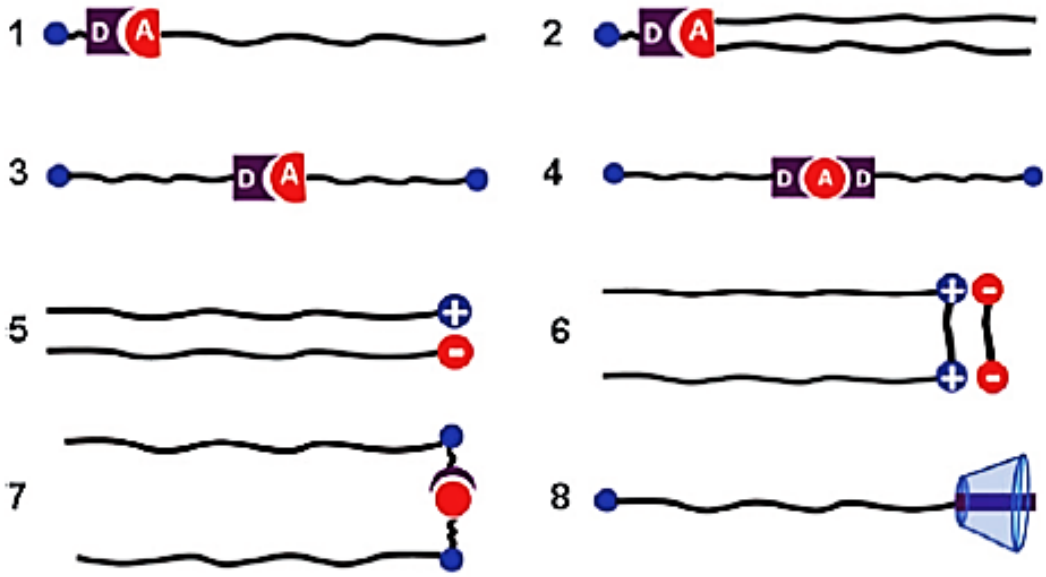
1.4.2 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES

Convencionalmente, una molécula anfifílica o surfactante se refiere a una molécula que contiene una parte hidrofílica y una parte hidrofóbica unidas mediante un enlace covalente, con la capacidad para autoensamblarse en las interfases aire-líquido y líquido-líquido para dar lugar a ensamblajes moleculares organizados como micelas, vesículas o emulsiones.

Al contrario que los surfactantes convencionales (anfífilos moleculares), los surfactantes supramoleculares (anfífilos supramoleculares) son compuestos anfifílicos que se encuentran formados por interacciones no covalentes[46,47] tales como, por ejemplo, enlaces de hidrógeno, interacciones de transferencia de carga, electrostáticas o interacciones *host-guest*. Comparado con los surfactantes convencionales, esta aproximación no covalente supone una simplificación en la fabricación de surfactantes supramoleculares.

La riqueza estructural de los surfactantes supramoleculares se muestra en el Esquema 1.12. Por ejemplo, una construcción de bloque hidrofóbica que tiene un donador de hidrógeno, puede interaccionar con un aceptor de hidrógeno hidrofílico formando una única cadena (un surfactante supramolecular) sobre la base de un enlace de hidrógeno (1). De la misma forma se puede fabricar un surfactante supramolecular de doble cadena (2).

Se pueden visualizar dos rutas para la construcción de un surfactante supramolecular tipo "*bolaform*", que son aquellos formados por 2 cabezas hidrofílicas unidas por una o varias cadenas hidrofóbicas. Una de las rutas consiste en mantener dos construcciones de bloque junto a dos grupos interaccionantes complementarios utilizando, bien enlaces de hidrógeno o bien coordinación metálica (3). La otra ruta consiste en introducir un grupo bi-funcional para unir los dos bloques de construcción (4).



Esquema 1.12 (Reprinted with permission from Ref. 47)

Basándose en atracciones electrostáticas, los surfactantes cataniónicos también se pueden clasificar como un tipo de surfactantes supramoleculares (5).

Un surfactante *gemini*[48] es un surfactante dimérico con dos colas hidrofóbicas y dos grupos iónicos unidos por un espaciador (rígido o flexible). Se ha demostrado que los *gemini* poseen propiedades únicas en química de superficies y de agregación, siendo compuestos de gran utilidad como potenciales vehículos para el transporte de moléculas bioactivas. En (6), un surfactante *gemini* interacciona con un contraión orgánico adecuado, conduciendo así a la formación de un surfactante supramolecular tipo *gemini*.

En realidad, la construcción de bloques con moléculas diseñadas adecuadamente se puede usar para fabricar surfactantes supramoleculares tipo *gemini* de diferentes estructuras sobre la base de interacciones no covalentes (7).

Los sistemas supramoleculares anfitrión-huésped pueden ser considerados también como otro tipo de surfactantes supramoleculares, debido a la hidrofilicidad opuesta del anfitrión y del huésped (8).

Finalmente, también cabría destacar la formación de anfífilos supramoleculares poliméricos, obtenidos por la unión no covalente de segmentos poliméricos hidrofóbicos e hidrofílicos.

En general, las diferentes formas de los compuestos anfifílicos enlazados covalentemente (surfactantes convencionales), sirven como base para generar surfactantes supramoleculares. Además, con los surfactantes supramoleculares pueden construírse topologías muy diversas, no disponibles para los convencionales.

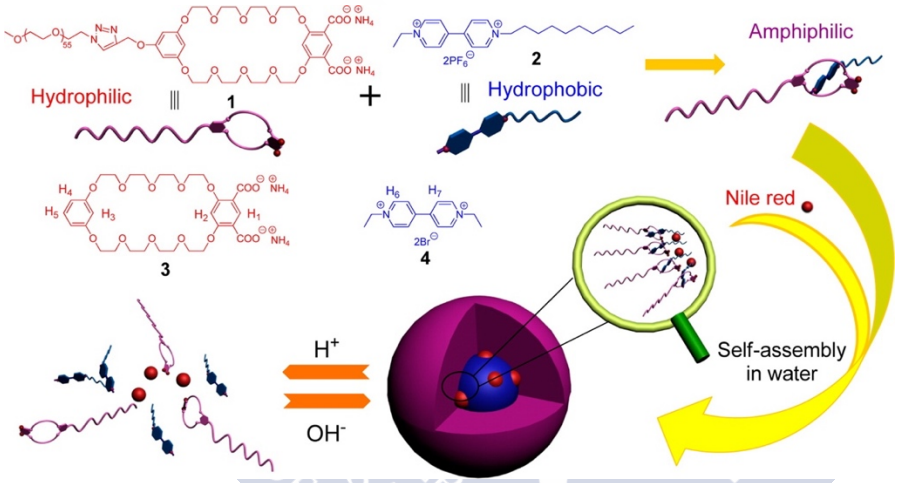
La síntesis no covalente se considera una clase de método de autoensamblaje muy útil en la construcción de estructuras químicas con un alto grado de complejidad estructural.[49] Una de las ventajas de la síntesis no covalente es la de evitar la tediosa tarea de los procedimientos de síntesis covalente.

Se pueden usar varias interacciones no covalentes para preparar surfactantes supramoleculares, y debería tenerse en cuenta que en la mayor parte de los casos la formación de surfactantes supramoleculares no conduce a una única clase de interacción, sino más bien a interacciones combinadas de diferentes fuerzas, aunque una de las fuerzas impulsoras juegue un papel fundamental. Este papel fundamental puede ser un puente de hidrógeno,[50] un reconocimiento anfitrión-huésped por parte del macrocilo,[51] enlaces de coordinación metal-ligando[52] o atracciones electrostáticas[53] e interacciones de transferencia de carga entre los donadores y los aceptores electrónicos.[54]

El interés cada vez mayor en los surfactantes supramoleculares se puede comprender teniendo en cuenta varios aspectos. El primer punto interesante se refiere al autoensamblaje controlado, para el cual la química básica es anfifílica. Se pueden preparar fácilmente surfactantes supramoleculares enlazados no covalentemente que se pueden agregar/desagregar con rapidez, permitiendo el ajuste del carácter anfifílico. Como resultado, se puede facilitar el autoensamblaje controlado. Otros aspectos importantes son los que tienen en cuenta el uso de surfactantes supramoleculares para aplicaciones potenciales ya que, dependiendo de la naturaleza de los bloques de construcción y de sus fuerzas impulsoras, los surfactantes supramoleculares pueden responder a varios estímulos, incluyendo la irradiación de luz, el pH, la temperatura, la oxidación/reducción, etc.

1.4.2.1 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES BASADOS EN INTERACCIONES *HOST-GUEST*

El estudio de las interacciones *host-guest* está inspirado por los procesos de reconocimiento molecular que tienen lugar en la biología. En organismos vivos, existen moléculas y otras especies que pueden reconocer de manera selectiva y enlazarse no covalentemente a otras si ambas son complementarias en forma e interacciones, de tal forma que, por ejemplo, la asociación específica de enzimas y sustratos o de antígenos y anticuerpos pueden describirse como una forma de reconocimiento molecular. Las interacciones *host-guest* muestran una buena selectividad, fuerza de unión y capacidad de respuesta a estímulos, lo que las convierten en una fuerza motriz importante en la construcción de sistemas supramoleculares funcionales. Varios tipos de macrociclos sintéticos, como éteres corona, ciclodextrinas, calixarenos, pilararenos y cucurbiturilos, han sido desarrollados como *hosts* para construir surfactantes supramoleculares.



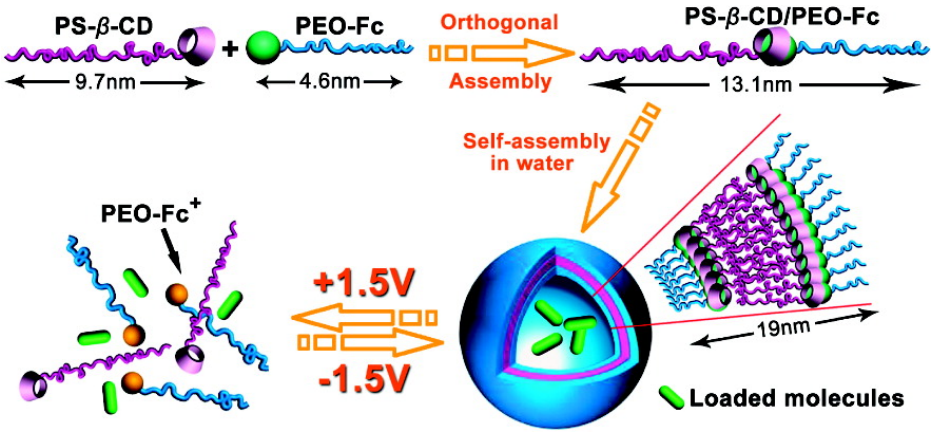
Esquema 1.13 (Reprinted with permission from Ref. 55)

Aunque fueron la primera generación de receptores macrocíclicos, son escasos los ejemplos en los que se describa la construcción de surfactantes supramoleculares basados en éteres corona, probablemente debido a la limitación que existe para escoger moléculas *guest* que puedan complejarse lo suficientemente fuerte con los mismos. Huang *et al.* fabricaron un surfactante supramolecular utilizando un éter corona modificado con una cadena de polietilenglicol (PEG) y dos grupos carboxilato junto con un derivado de viológeno con una larga cadena hidrofóbica con capacidad para formar micelas sensibles al pH (Esquema 1.13).[55]

Existen diferentes grupos sensibles a estímulos que pueden ser utilizados para formar surfactantes supramoleculares basados en ciclodextrinas. Yuan *et al.* prepararon un surfactante supramolecular formado por β-ciclodextrina y ferroceno modificado con PEG que se agrega en forma de vesículas, las cuales pueden romperse en pequeños fragmentos tras la aplicación de cierto voltaje (Esquema 1.14).[56]

Debido a que el estudio de los surfactantes supramoleculares se realiza normalmente en medio acuoso, los calixarenos solubles en agua son de los macrociclos más utilizados para la fabricación de supra-anfífilos. Al igual que sucede con los supra-anfífilos basados en ciclodextrinas, la agregación/desagregación controlada de supra-anfífilos basados en

calixarenos o pilararenos también puede conseguirse mediante la introducción de un *guest* con propiedades sensibles a estímulos como la temperatura, el pH o la luz.[57–59]



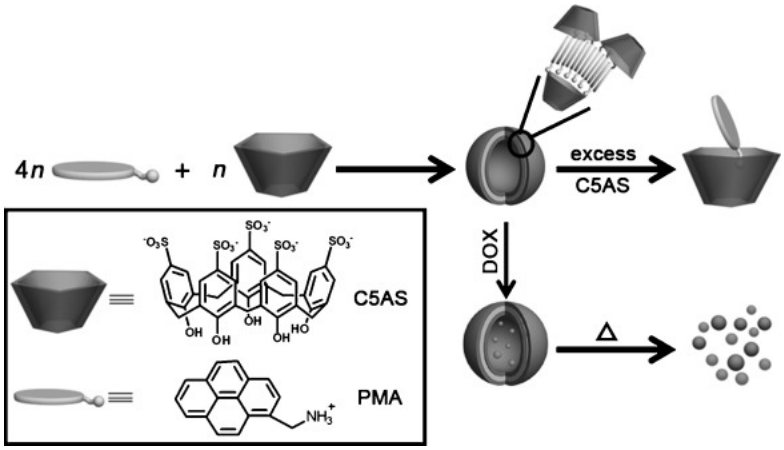
Esquema 1.14 (Reprinted with permission from Ref. 56)

En los últimos años, han aparecido en la bibliografía algunos trabajos que describen la agregación de surfactantes en presencia de calixarenos no anfifílicos. En todos estos trabajos se ha observado que cuando el macrociclo está presente en disolución, los surfactantes se agregan a concentraciones inferiores a las observadas en ausencia de calixareno. El primer trabajo en este campo fue publicado por el grupo de investigación *Reactividade e Catálise*,[60] en el que se demostró que las sales de alquiltrimetilamonio se agregan a concentraciones muy inferiores a la CMC en presencia de p-sulfonatocalix[6]areno hexametilado. Además, se comprobó que independientemente de las fracciones molares del surfactante y del calixareno, solo se observa la formación de micelas. En la continuación de esta investigación,[61] se observó que en presencia del *p*-sulfonatocalix[4]areno no metilado el mismo tipo de surfactante catiónico convencional se agrega para formar vesículas unilamelares.

Paralelamente a estos trabajos, Blanzat *et al.*[62] estudiaron la formación espontánea de vesículas combinando el aminocalix[6]areno (insoluble en agua) con surfactantes derivados de azúcares, mediante una reacción ácido-base para obtener una asociación catiónica.

Liu *et al.*[63] fabricaron un supra-anfífilo con un sulfonatocalix[4]areno y una enzima natural derivada de la miristoilcolina como *guest* que puede ser hidrolizada a ácido miristico y colina bajo catálisis con butirilcolinesterasa y que se agrega en forma de vesículas binarias.

Finalmente, Liu *et al.*[64] también han publicado los resultados de un estudio que describe la formación espontánea de vesículas, a partir del p-sulfonatocalix[5]areno (**SC5**) y de un derivado del pireno (Esquema 1.15). Según los autores, la agregación es inducida por la formación de un complejo con estequiometría superior a 1:1 (probablemente 1:4), por lo que cuando el **SC5** está en defecto, la formación de agregados es favorable y cuando el **SC5** se encuentra en exceso, el complejo de inclusión con estequiometria 1:1 predomina, rompiéndose el agregado. Además, estas vesículas presentan reversibilidad térmica, observándose la desagregación cuando la temperatura se incrementa hasta 35-40 ºC, lo que convierte a estas vesículas en un potencial modelo para la liberación controlada de fármacos.

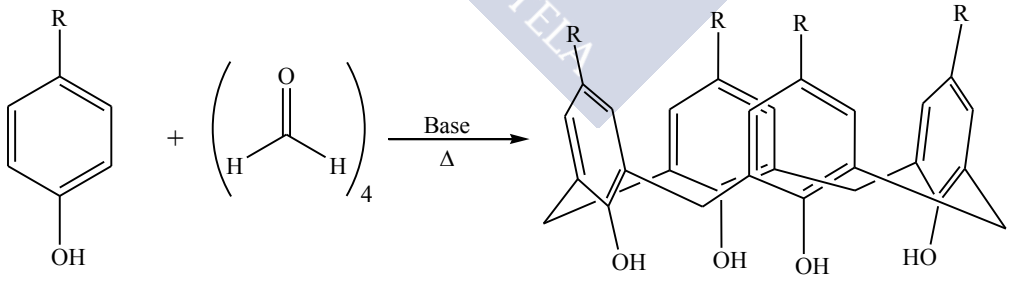


Esquema 1.15 (Reprinted with permission from Ref. 64)

Además del auto-ensamblaje y la liberación controlada, los surfactantes supramoleculares también pueden usarse para dispersar nanomateriales de carbono. Huang *et al.* construyeron un surfactante supramolecular formado por un pilar[6]areno modificado con grupos carboxilato y un derivado del pireno que a pH>7 evita que nanotubos de carbono se agreguen, mientras que a pH<7 sí tiene lugar la agregación y precipitación de los mismos.[65]

1.5 CALIXARENOS

Los calix[*n*]arenos[66] son compuestos macrocíclicos formados por *n* unidades fenólicas conectadas en posición *orto* a través de grupos metileno. Se obtienen a partir de la condensación de fenoles sustituidos en posición *para* con formaldehido en medio básico (Esquema 1.16).[67] Modificando las condiciones de la reacción pueden obtenerse calixarenos con un número determinado de unidades fenólicas de manera más o menos selectiva.



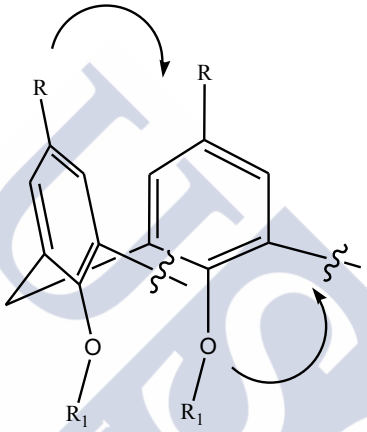
Esquema 1.16

Aunque se han obtenido calixarenos de hasta 20 unidades fenólicas,[68] los más comunes y utilizados en química supramolecular son los constituidos por 4, 6 y 8 unidades aromáticas.

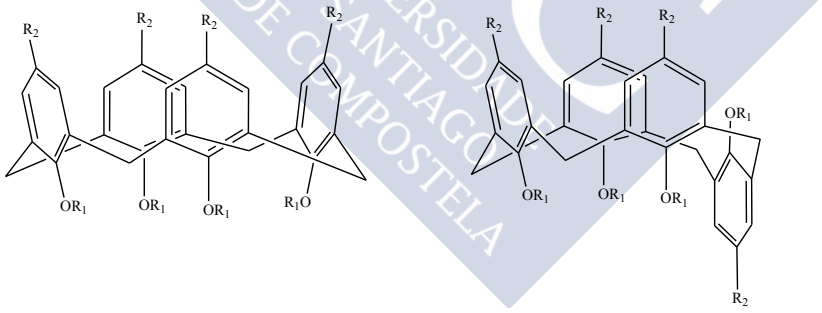
En los últimos años los calixarenos se han convertido en una de las clases de moléculas receptoras más importantes en los estudios de sistemas anfitrión-huésped. Tienen especial interés los calixarenos solubles en agua ya que la mayoría de los procesos biológicos ocurren en medio acuoso, y además permite aprovecharse del efecto hidrofóbico para

formar complejos de inclusión encapsulando multitud de moléculas orgánicas. Las primeras evidencias sobre la formación de este tipo de complejos en disolución ocurrieron en 1984 y fueron llevadas a cabo por Shinkai *et al.*[69] utilizando *p*-sulfonatocalix[*n*]arenos (SC*n*) en medio acuoso.

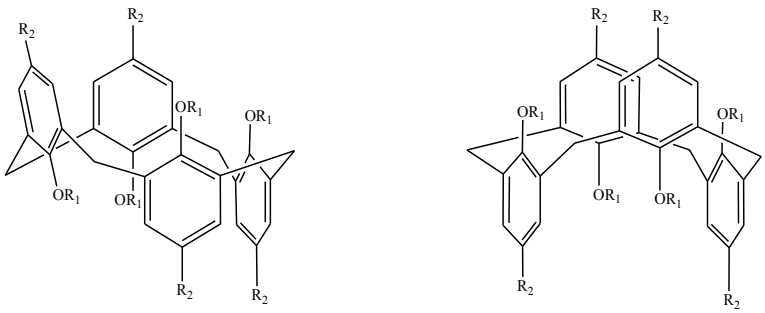
Una de las ventajas que poseen los calix[*n*]arenos con respecto a otros compuestos macrocíclicos es que pueden modificarse químicamente con relativa sencillez.[70] Por este motivo, algunas propiedades como la solubilidad, la flexibilidad conformacional o la propia selectividad para formar complejos de inclusión con moléculas o iones pueden ser optimizadas si se introducen en la estructura de la molécula grupos funcionales específicos y adecuados. Además, esta modificación química no requiere el uso de metodologías sintéticas excesivamente complejas.



Esquema 1.17



"Cono" "Cono Parcial"



"1,2-Alternada" "1,3-Alternada"

Esquema 1.18

Por ello, los calix[*n*]arenos se utilizan en la construcción de anfitriones selectivos que pueden ser utilizados como modelo para el estudio de interacciones intermoleculares o también como catalizadores y sensores. Estos macrociclos se han convertido en uno de los materiales de elección en el diseño y construcción de sistemas supramoleculares más complejos y sofisticados como el autoensamblaje en monocapas[71] y en nanopartículas,[72] la obtención de materiales porosos para el almacenaje de gases,[73] la formación de rotaxanos y máquinas moleculares,[74] etc.

La posibilidad de que un calixareno pueda adoptar diferentes configuraciones conformacionales es otra ventaja, pues enriquece su versatilidad en cuanto a términos estructurales. La variedad conformacional que pueden sufrir estos compuestos se debe a que poseen dos posibles modos de rotación (Esquema 1.17) de las unidades fenólicas a través del anillo: la rotación del oxígeno y la del sustituyente en posición *para* (aunque esta última no es posible para el calix[4]areno).

Para el calix[4]areno, la rotación de la unidades fenólicas permiten que la molécula pueda adoptar cuatro conformaciones estructurales diferentes: "cono", "cono parcial", "1,2-alternada" y "1,3-alternada" tal y como se muestra en el Esquema 1.18:

Como se ha dicho anteriormente, la rotación del sustituyente en posición *para* no se da en el calix[4]areno, por lo que ese intercambio conformacional puede bloquearse a través de una alquilación del hidroxilo con grupos *n*-propílicos o más voluminosos. De esta forma es posible el aislamiento de los cuatro confórmeros como isómeros estables bajo ciertas condiciones específicas.

Haciendo uso de espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Protón (^{1}H-RMN) se obtiene información útil para conocer la disposición estructural que adopta el macrociclo.[70] La multiplicidad de las señales que aparecen en el espectro de los calix[4]arenos bloqueados para los protones del puente metileno que une dos anillos aromáticos (Ar-CH_2-Ar) son:

- Un par de dobletes en la conformación "cono".
- Dos pares de dobletes (o un par de dobletes y un singlete) en la "cono parcial".
- Un singlete y dos dobletes en la "1,2-alternada".
- Un singlete en la "1,3-alternada".

Para calixarenos de mayor tamaño, como el calix[6]areno o el calix[8]areno, generalmente es necesario recurrir a técnicas más sofisticadas como RMN bidimensional, pues son mucho más flexibles y pueden adoptar hasta ocho[75] y dieciséis[76] conformaciones distintas, respectivamente.

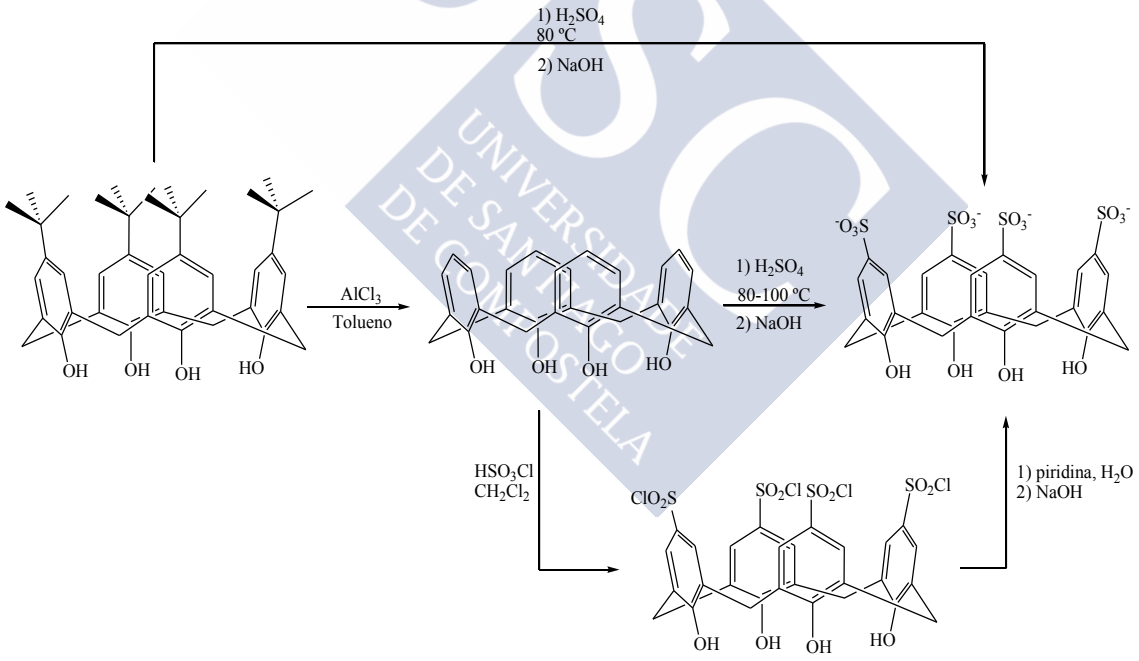
Debido a que la gran mayoría de los procesos biológicos ocurren en medios acuosos, para poder utilizar modelos que mimeticen procesos naturales, tendrán un mayor interés los receptores sintéticos que sean solubles en agua, ya sea para llevar a cabo el reconocimiento molecular o reacciones químicas catalizadas por enzimas. Sin embargo, la solubilidad de los calixarenos en agua es pequeña. Para aumentar esa solubilidad se introducen en la molécula grupos funcionales altamente hidrofílicos que pueden ser

iónicos (catiónicos, como por ejemplo aminas cuaternarias; o aniónicos, como pueden ser grupos sulfonato) o neutros (por ejemplo, aminas terciarias).

El hecho de llevar a cabo procesos de reconocimiento molecular con calixarenos solubles en agua abrió un nuevo campo de investigación para este tipo de compuestos, pues se produce un ambiente hidrofóbico en el interior del macrociclo que permite la formación de complejos de inclusión entre los calixarenos, que actúan como anfitriones, y moléculas apolares (cationes, aniones o moléculas neutras) que actúan como huéspedes. Los calixarenos solubles en agua de mayor interés, y que han sido objeto de estudio en esta investigación, son los *p*-sulfonatocalix[*n*]arenos.

1.5.1 SULFONATOCALIXARENOS

La primera síntesis de *p*-sulfonatocalix[*n*]arenos (**SCn**) fue llevada a cabo por Shinkai *et al*[69]. mediante la sulfonación de calix[*n*]arenos. Existen dos alternativas sintéticas al método de Shinkai (Esquema 1.19): la forma más directa y económica es someter a *p*-*tert*-butilcalix[*n*]arenos[77] a un proceso de *ipso*-sulfonación; otra opción, menos utilizada, consiste en la clorosulfonación[78] de calix[*n*]arenos no sustituidos.



Esquema 1.19

Los *p*-sulfonatocalix[*n*]arenos presentan en su estructura ácidos fuertes y ácidos débiles. Los grupos sulfonato son ácidos fuertes y en disolución acuosa se encuentran completamente disociados, mientras que los grupos fenólicos son ácidos débiles, por lo que la fracción y el número de unidades fenólicas desprotonadas dependerá de cual sea el valor del pH de la disolución. Los **SCn** presentan al menos un grupo hidroxilo con un valor de pK_a menor al del monómero correspondiente[79] (el 4-hidroxibencenosulfonato, p*K*a≈9) debido a la estabilización del fenolato por el establecimiento de enlaces de hidrógeno intramoleculares.

Los valores de pK_a para algunos **SCn** se recogen en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Valores de los pK$_a$´s de los *p*-sulfonatocalix[n]arenos más comunes.

SCn	***pK*$_{a1}$**	***pK*$_{a2}$**	***pK*$_{a3}$**	***pK*$_{a4}$**
SC4	3.28	11.5		
SC6	3.29	4.91	12.5	
SC8	3.44	4.26	7.78	10.3

En los últimos años, el grupo de investigación de *Reactividade e Catálise* ha venido demostrando la capacidad de estos receptores macrocíclicos cargados de complejar a sus propios contraiones, así como estudiando la influencia que este fenómeno tiene sobre la posterior formación de complejos de inclusión con otros *guests* externos (ambos aspectos son estudiados y discutidos también durante esta tesis). Así, en el año 2010,[80] a través de medidas de RMN (difusiometría de ^{1}H y de ^{23}Na y relajación de ^{23}Na), se confirmó, como poco antes se había mostrado en otros trabajos,[81–83] que el **SC4** se enlaza a cationes inorgánicos monovalentes, de tal forma que, en ausencia de sales añadidas y a pH neutro, el **SC4** compleja uno de sus contraiones sodio con una constante de asociación de aproximadamente 100 M^{-1}. Dichos resultados pusieron en evidencia que la investigación de la complejación de cationes inorgánicos por el **SC4** debe llevarse a cabo considerando un esquema de complejación competitivo si existe más de un catión presente en el medio.

Más tarde, mediante experimentos de RMN y de ITC, se demostró que las constantes de complejación entre el **SC4** y un *guest* catiónico, el cloruro de benciltrimetilamonio, dependían tanto de la concentración de calixareno como de la presencia de Na^+ añadido que, además de estar presente de forma inherente como parte del macrociclo, es también uno de los contraiones más comúnmente utilizados en la preparación de disoluciones tampón típicamente empleadas en estudios de complejación.[84] Conociendo la constante de complejación entre el Na^+ y el **SC4**, pudo mostrarse que el porcentaje de macrociclo libre de Na^+ disminuye a medida que se aumenta la concentración de **SC4**.Los resultados obtenidos se interpretaron considerando un equilibrio de intercambio iónico entre los contraiones del **SC4** y el catión orgánico añadido, mostrando que, para obtener la constante de equilibrio real del proceso, es necesario extrapolar las constantes de complejación a concentración "cero" de calixareno y de sales añadidas.

Poco después, a través de experimentos microcalorimétricos, se mostró la complejación de cationes metálicos monovalentes y divalentes por el **SC4**,[85] obteniendo resultados termodinámicos que contrastan con otros estudios termodinámicos anteriores en los que la influencia de los contraiones metálicos alcalinos no se tuvo en cuenta.[86–89] Debido a que el **SC4** posee cuatro grupos sulfonato altamente ácidos y un grupo hidroxilo fenólico también ácido (pKa≃3.3), éste existe como forma pentaaniónica a pH neutro, de tal forma que las medidas y aplicaciones requieren la presencia de contraiones, generalmente cationes sodio. Debido a su importancia, la interacción aparente del **SC4** con cationes metálicos alcalinos tiene una historia científica rica, pero con bastantes controversias. El estudio microcalorimétrico mostró que, para todos los cationes, el proceso de asociación es entálpicamente desfavorable ($\Delta H^o>0$) pero entrópicamente favorable ($\Delta S^o>0$), consistente con una interacción electrostática que implica la desolvatación de los *guests*/residuos cargados. Además, los experimentos a diferentes

temperaturas corroboraron que la contribución entálpica a la complejación del *guest* no es desdeñable, ya que la constante de asociación disminuye al aumentar la temperatura (indicativo de una capacidad calorífica positiva para el proceso), sin embargo, ésta no aumentó tal y como se espera para un proceso dirigido puramente por efectos entrópicos.

Continuando con esta línea de investigación, en el año 2014 se publicó un trabajo en el que se estudiaba el efecto de los cationes metálicos alcalinos y de transición en la formación de complejos *host-guest* con el **SC4**, utilizando la 2-cloropiridina y el Na^+ y el Cu^{2+} como modelos de *guests* y de cationes, respectivamente.[90] Los resultados obtenidos por ITC y RMN aportaron evidencias de la formación de complejos ternarios 1:1:1 para ambos cationes metálicos, mostrando cooperatividad positiva para el caso del Cu^{2+} (la constante de asociación entre el *guest* y el *host* aumenta conforme se aumenta la concentración de cobre) debido a la formación de enlaces metal-ligando en el complejo ternario, y negativa para el Na^+, probablemente debido a la ausencia de una estabilización de enlace metal-ligando significativa.

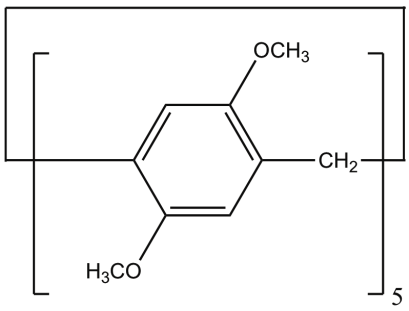
Teniendo en cuenta lo comentado anteriormente, se consiguió, considerando la complejación competitiva del contraión y a través de una titulación simple, obtener no sólo las constantes de asociación reales (independientemente de la concentración de macrociclo utilizada o de la cantidad de sal añadida), sino también la estequiometría del complejo, mostrando la formación de complejos 1:1:1 (*host*:*guest*:contraión) cuando se utiliza el **SC4**, tanto mediante una titulación directa como por el método de desplazamiento de sonda.[91]

Finalmente, en el año 2017, se realizaron estudios con el objetivo de conocer dicho fenómeno cuando se utiliza el **SC6** y el **SC8**. Así, mediante experimentos de RMN y de fluorescencia, se mostró la formación de complejos *host-guest* con estequiometría 1:1 y 1:2 entre la lucigenina y ambos macrociclos. Además, se utilizó la regeneración de la fluorescencia después de una complejación competitiva con otros *guests* potenciales presentes en el medio como indicador del método de desplazamiento para caracterizar el mecanismo de complejación y la afinidad de iones metálicos alcalinos con el **SC6** y el **SC8**. Los resultados demostraron la formación de complejos calixareno:metal con estequiometría 1:1 y 1:2, así como la de complejos ternarios, los cuales predominan cuando la concentración de catión metálico está por encima del rango de milimolar, el utilizado típicamente en las técnicas de ITC y RMN.[92]

1.6 PILARARENOS

Los pilar[*n*]arenos, siendo hasta el momento los de $n = 5$ (Esquema 1.20) los más estudiados, son una nueva clase de moléculas macrocíclicas formadas por unidades de 1,4-dialcoxibenceno unidas entre sí en posición *para* a través de puentes metileno. El término descriptivo de "pilararenо" se le concedió por su arquitectura simétrica en forma de columna o pilar y fue acuñado por Tomoki Ogoshi *et al.*, quienes los sintetizaron por primera vez en el año 2008.[32]

La inusual simetría de los pilararenos resulta en unas distintivas características geométricas y estereoquímicas con potenciales aplicaciones para su uso en el campo del reconocimiento molecular.

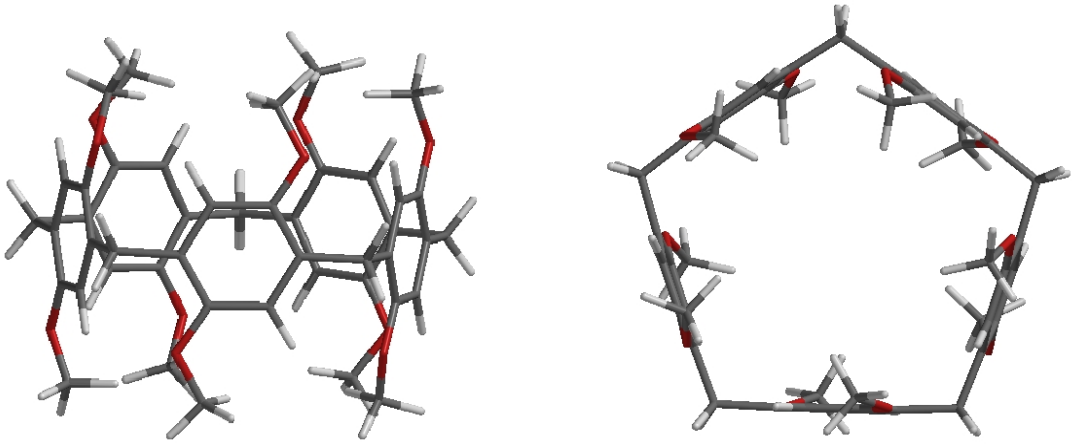


Esquema 1.20

Las principales y más importantes características de los pilararenos son:

- **Sencillez estructural**. Razón por la cual presentan unas excelentes propiedades anfitrión-huésped[93] y una quiralidad planar.[94]
- **Arquitectura en forma de pilar**. Vistos desde el lateral, los pilararenos tienen una arquitectura en forma de pilar altamente simétrica y rígida, y desde una vista superior, los pilar[5]arenos presentan una estructura pentagonal regular (Esquema 1.21), de forma que diferentes anfitriones podrán acomodarse en su cavidad rica en electrones, como por ejemplo alcanos lineales que contengan sistemas pobres en electrones tales como grupos amina, amonio, nitrilo, o haluro. Del mismo modo el pilar[5]areno también puede complejar compuestos aromáticos simples como derivados de viológeno o de piridinio.
- **Funcionalidad versátil**. Los pilar[5]arenos pueden acomodar 10 grupos sustituyentes, y una funcionalización selectiva de las posiciones de estos sustituyentes puede ser llevada a cabo mediante diversas estrategias sintéticas.

Por otro lado, si los pilararenos se modifican debidamente, pueden sufrir procesos de autoensamblaje y de esta forma aplicarse en la fabricación de pseudo-rotaxanos y polipseudo-rotaxanos,[95] polímeros[96] y otros interesantes materiales.[97]

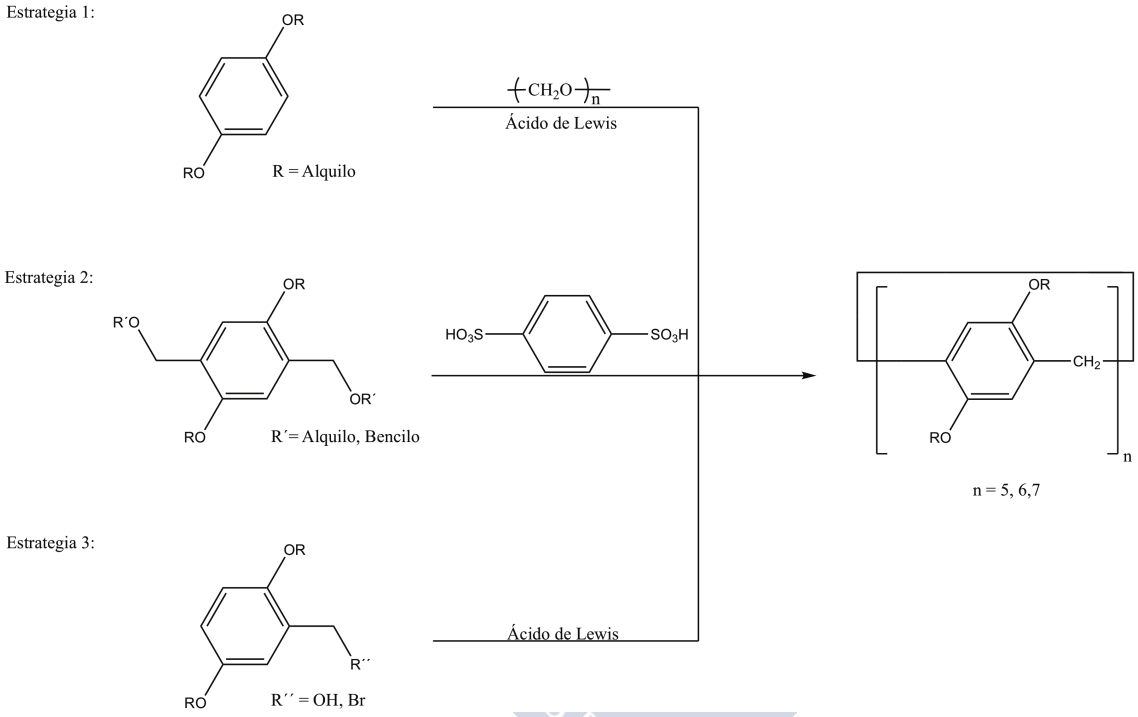


Esquema 1.21

1.6.1 SÍNTESIS DE PILARARENOS

Existen diferentes estrategias sintéticas que pueden seguirse para obtener pilararenos (Esquema 1.22), siendo éstas similares a las utilizadas en la síntesis de resinas poliméricas fenólicas.[98]

El mecanismo de reacción principal es la alquilación de Friedel-Crafts, en la que un derivado fenólico (un 1,4-dialcoxibenceno) y el paraformaldehído condensan al emplear un ácido como catalizador, el cual puede ser un ácido orgánico o un ácido de Lewis, proporcionando un carbocatión. Posteriormente, la sustitución electrófila entre otro derivado fenólico y ese carbocatión genera el puente metileno que conecta las unidades fenólicas (Estrategia 1).



Esquema 1.22

En la primera síntesis de pilararenos,[32] se probaron varios ácidos de Lewis tales como H_2SO_4, $TiCl_4$, $FeCl_3$, $SnCl_4$ o $AlCl_3$, pero los mejores resultados se dieron con el $BF_3{\cdot}O(C_2H_5)_2$, obteniéndose el pentámero cíclico de manera selectiva en un 22 % de rendimiento, a temperatura ambiente y en un tiempo de reacción óptimo alrededor de las 3 horas. Para revelar información sobre las características conformacionales de los pilararenos, el grupo de Ogoshi también realizó series de síntesis de derivados de pilararenos con diferentes combinaciones de grupos alquílicos en los portales superior e inferior llegando a la conclusión de que, por motivos estéricos, la longitud de los sustituyentes alquílicos tiende a inhibir la reacción de ciclación.[99] Finalmente, el mismo grupo de investigación consiguió optimizar las condiciones de reacción (utilizando 3 equivalentes de paraformaldehído por equivalente de 1,4-dimetoxibenceno) y obtuvo un dimetoxipilar[5]areno en un 70 % de rendimiento, a temperatura ambiente y en sólo 3 minutos de reacción utilizando 1,2-dicloroetano como disolvente, que actúa como plantilla.[100]

Otras metodologías sintéticas han aparecido más recientemente en las que también se utilizan ácidos orgánicos (como el ácido *p*-toluensulfónico) o ácidos de Lewis como catalizadores en la reacción de ciclación, y simplemente consisten en utilizar diferentes monómeros de partida, tales como 2,5-alcoxibencilobromuros, 2,5-alcoxibenciloalcoholes o 1,4-dialcoxi-2,5-bis(alcoximetil)bencenos y que resultan dar unos rendimientos algo superiores (Estrategias 2 y 3).[101]

Aunque en menor medida, en la bibliografía también pueden encontrarse ejemplos de pilar[5]arenos no simétricos, obtenidos por la condensación de monómeros no simétricos como el 1-etoxi-4-metoxibenceno o el 1-butoxi-4-metoxibenceno.[99,102]

De esta forma, la síntesis (relativamente rápida y de alto rendimiento) de pilar[5]arenos a partir de reactivos económicos disponibles comercialmente supone una ventaja en comparación con la de otros compuestos macrocíclicos, ayudando a expandir su uso en varios campos de la química. Además, a día de hoy, el dimetoxipilar[5]areno ya puede adquirirse comercialmente.

1.6.2 FUNCIONALIZACIÓN DE PILARARENOS

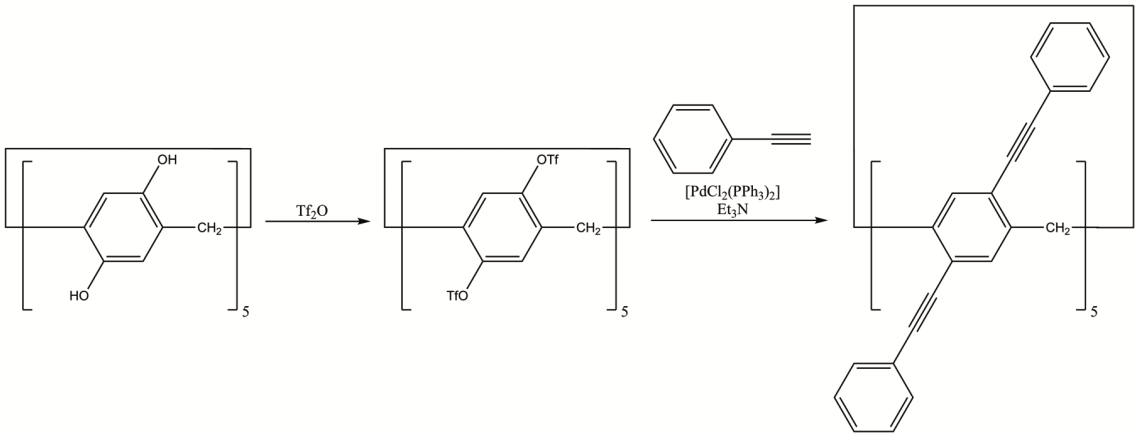
La funcionalización de compuestos macrocíclicos es un aspecto muy importante ya que puede cambiar la solubilidad y las propiedades físicas de los mismos.[103–105] Para poder trabajar con pilararenos tanto en el campo del reconocimiento molecular como en el del autoensamblaje, es necesario explorar las posibilidades de funcionalización de los mismos.

Los pilararenos que contienen como grupos funcionales sustituyentes alquilo se han venido sintetizando directamente a partir de los reactivos simples conteniendo dichos grupos alquilo, y una vez formado el pilararenо, se lleva a cabo la post-funcionalización del mismo de diferentes formas para luego proceder a su estudio.[106,107]

La desalquilación de un alcoxipilarareno se consigue utilizando BBr_3, obteniéndose así un pilarareno perhidroxilado desprotegido cuyas unidades fenólicas son altamente reactivas, lo que abre una puerta para la obtención de multitud de derivados de pilararenos perfuncionalizados, cuya modificación requiere de la aplicación de reacciones orgánicas eficientes para lograr la perfecta introducción de los grupos funcionales en todos los sitios de reacción. Un proceso de funcionalización sencillo y eficiente para pilararenos perhidroxilados es la eterificación, muy utilizada en la funcionalización de las unidades fenólicas de los portales inferiores de los calixarenos.

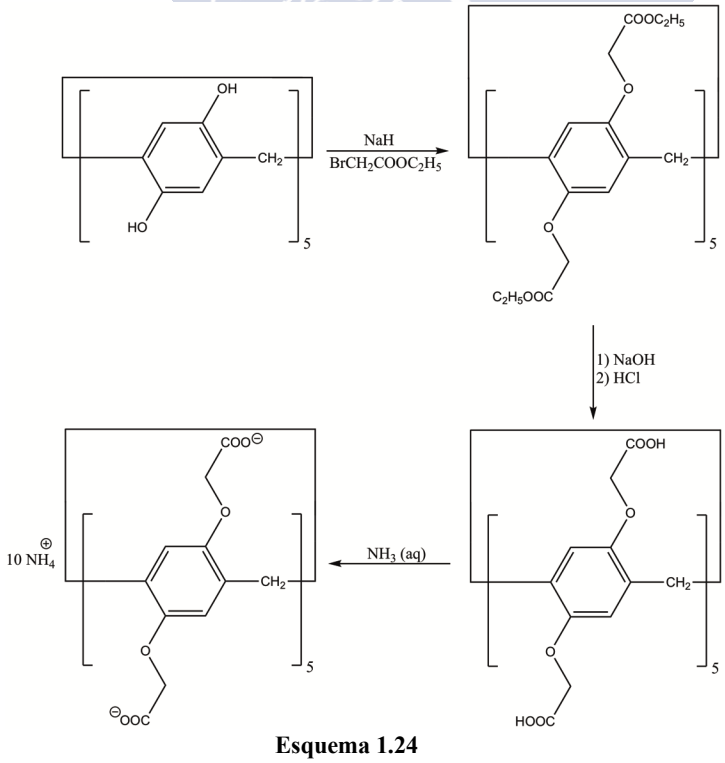
En presencia de una base adecuada, tales como NaH o K_2CO_3, se ha conseguido la funcionalización de pilararenos por eterificación con diferentes haluros de alquilo. La introducción de sustituyentes puede cambiar varias propiedades físicas de los pilararenos, añadiendo así nuevas funcionalidades y abriendo la posibilidad de aplicación de los mismos.

Otro método de funcionalización útil de pilararenos son los acoplamientos cruzados catalizados por paladio. A modo de ejemplo se muestra en el Esquema 1.23 un pilararenо fluorescente sintetizado por el grupo de Ogoshi,[106] el cual fue modificado con grupos etinilfenilos vía acoplamiento de Sonogashira, y que emite fluorescencia según sea la temperatura y el tipo de disolvente. Además, la extensa superficie π podría ser un ambiente ideal para actuar como anfitrión de huéspedes deficientes en electrones.



Esquema 1.23

Debido a que la gran mayoría de los procesos biológicos ocurren en medios acuosos, para poder utilizar modelos que mimeticen procesos naturales, tendrán un mayor interés los receptores sintéticos que sean solubles en agua, ya sea para llevar a cabo el reconocimiento molecular o reacciones químicas catalizadas por enzimas. Sin embargo, en principio, la solubilidad de los pilararenos en agua es reducida. Para aumentar esa solubilidad, han de introducirse en la molécula grupos funcionales altamente hidrofílicos que pueden ser iónicos (catiónicos, como por ejemplo aminas cuaternarias; o aniónicos, como pueden ser grupos carboxilato) o neutros (por ejemplo, aminas terciarias).

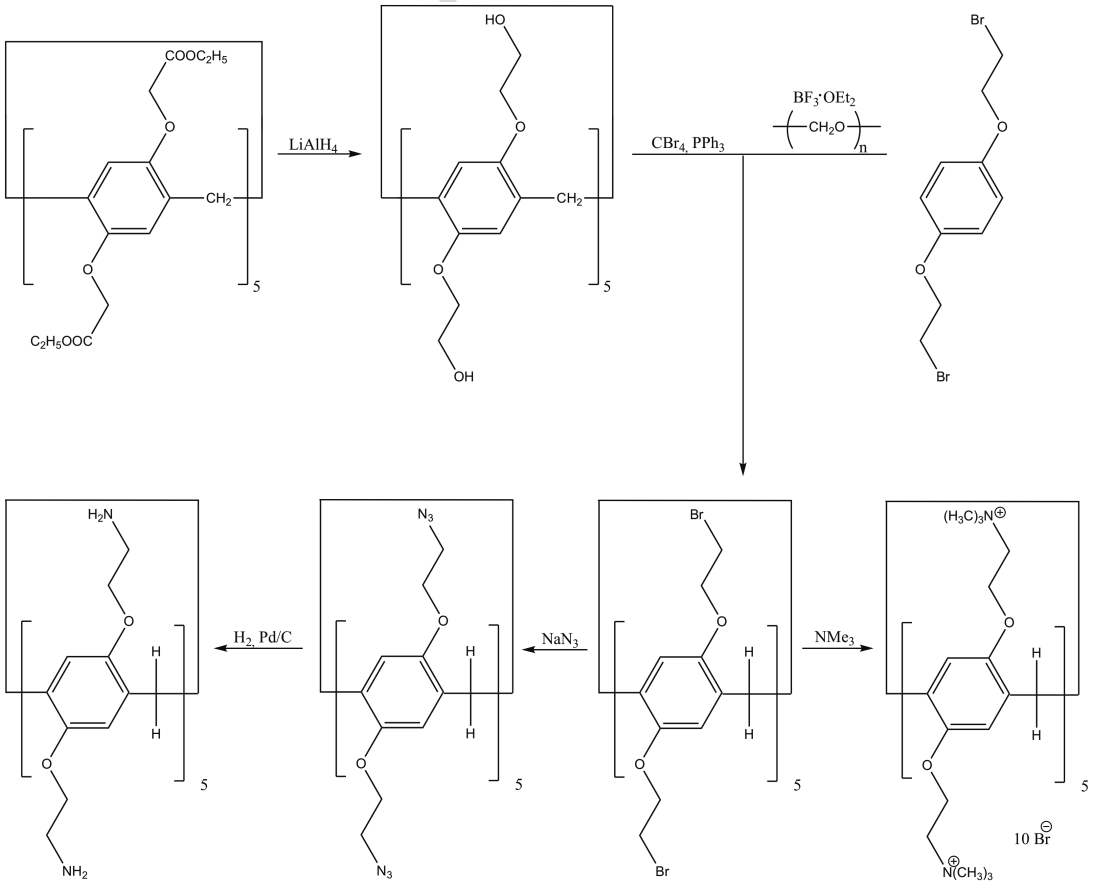


Esquema 1.24

El hecho de llevar a cabo procesos de reconocimiento molecular con pilararenos solubles en agua ha abierto un nuevo campo de investigación para este tipo de compuestos, pues se produce un ambiente hidrofóbico en el interior del macrociclo que permite la formación de complejos de inclusión entre los pilararenos, que actúan como anfitriones, y moléculas apolares (cationes, aniones o moléculas neutras) que actúan como huéspedes.

En la bibliografía ya se han descrito varios ejemplos sobre síntesis y estudios de pilararenos solubles en agua.[107]

Ogoshi *et al.* consiguieron introducir aniones carboxilato en los portales superior e inferior generando así por primera vez un pilarareno soluble en medio acuoso con interesantes propiedades para formar complejos de inclusión, el cual puede utilizarse como nanoválvula o como biosensor de ^{128}Xe.[108,109] Para ello debe de llevarse a cabo la hidrólisis del sustituyente etoxicarbonilo bajo condiciones básicas y posteriormente una neutralización con sal de amonio (Esquema 1.24).



Esquema 1.25

Un pilar[5]areno con interesantes propiedades resultó de la perfuncionalización con 10 grupos óxido de tri(etileno), el cual es soluble en medio acuoso a 25 ºC pero insoluble al pasar de los 45 ºC debido al carácter anfifílico que adquiere el macrociclo y que resulta en una disminución de su temperatura de disolución crítica.[110]

Los pilar[5]- y pilar[6]arenos conteniendo 10 y 12 unidades de bromo sirven como intermediarios para la síntesis de interesantes análogos de los macrociclos, como puede ser la obtención de pilararenos catiónicos. Así, la reacción de las especies bromadas con 1-metilimidazol,[111] piridina[112] o tributilfosfina[113] generó los correspondientes receptores

catiónicos. Un pilar[5]areno con 10 líquidos iónicos (cationes imidazolio) se sintetizó en estado líquido a 25 ºC mediante la elección de un contraión apropiado. El pilar[5]areno con 10 cationes fosfonio resultó ser un compuesto anfifílico que actúa como sustrato selectivo, permitiendo su utilización como catalizador de transferencia de fase.

Las reacciones de eterificación entre haluros alquílicos y compuestos fenólicos son también un buen método para sintetizar pilar[5]arenos funcionalizados. Así, la eterificación del pilarareno con 10 bromos con un derivado fenólico de la cumarina produjo un receptor que actúa como sensor fluorescente del metil paratión.[114]

Otro intermedio útil es el que posee unidades azida, pues permite obtener pilararenos dentríticos haciendo uso de diferentes reacciones "click", los cuales se ha comprobado que interaccionan con el ADN.[115]

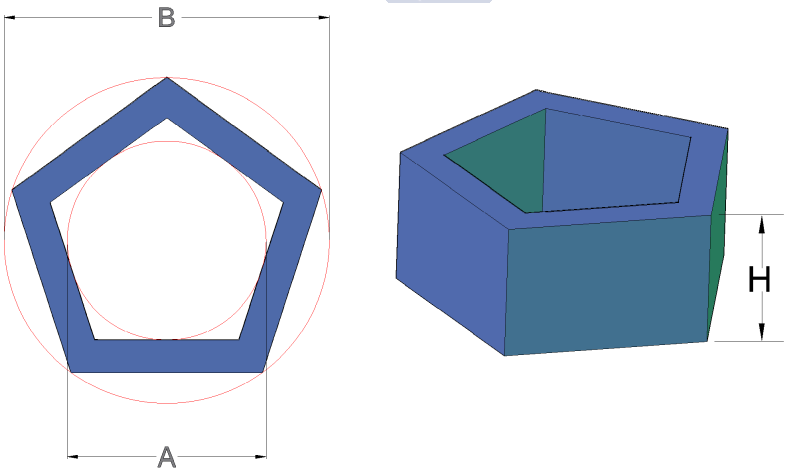
De esta forma, también se han sintetizado y estudiado pilararenos solubles en agua en otros grupos de investigación.[107b,c] Por ejemplo, mediante la modificación de pilararenos a los que se les introdujeron como sustituyentes aminas o grupos trimetilamonio. En el Esquema 1.25 se resumen las estrategias para obtener este tipo de pilararenos.

A través de diferentes métodos sintéticos orgánicos como la co-ciclación de diferentes monómeros o la desprotección regioselectiva, también se ha conseguido la mono-, di-, tetra- y penta-funcionalización de pilararenos.[116–118]

1.6.3 ESTRUCTURA DE LOS PILARARENOS

El estudio de las características estructurales de nuevos macrociclos es extremadamente importante, pues éstas marcarán luego las propiedades del mismo para la formación de complejos *host-guest*.[119–121]

A diferencia de los calixarenos, cuyos puentes metileno en posición *meta* de las unidades fenólicas originan una cavidad en forma de canasta o copa, los pilararenos poseen una arquitectura simétrica única. El estudio por rayos X de algunas estructuras cristalinas que se han podido obtener de los pilararenos ha proporcionado información estructural de gran valor.[32,100,122]



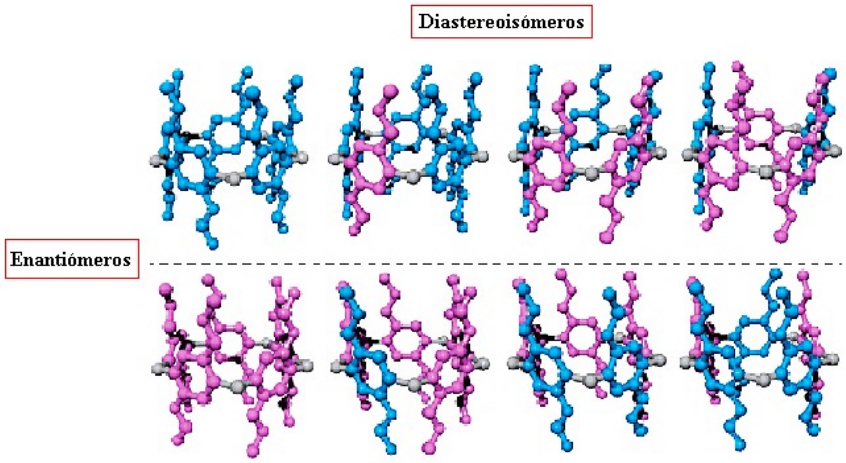
Esquema 1.26

Las evidencias cristalográficas de los pilar[5]arenos que han sido estudiados hasta el momento muestran que el valor medio del ángulo formado por el enlace carbono-carbono en el puente metileno varía entre 108º y 111º dependiendo de las características de los sustituyentes de los portales superior e inferior. Este valor está cercano al de 109º correspondiente al ángulo de un enlace normal de un átomo de carbono sp^3, y coincide también con el valor ideal (108º) del ángulo interno para un pentágono regular, lo que posiblemente sea una de las razones que explique su mayor estabilidad conformacional, y por lo tanto que sea un compuesto más fácil de obtener, si se compara, por ejemplo, con los pilar[6]arenos y los pilar[7]arenos.

En cuanto a su cavidad (Esquema 1.26), se han realizado estudios basados en el radio de van der Waals de los átomos en, por ejemplo, un *iso*-butoxipilar[5]areno, concluyendo que éstos poseían un diámetro interno (A) aproximado de 5.6 Å, valor muy similar al de la cavidad de un cucurbit[6]uril (~5.8 Å)[122b] o al de una α-ciclodextrina (~4.7 Å a ~5.3 Å).[122c] Se calculó también el diámetro externo (B ~13 Å), la altura (H ~7.8 Å) y el volumen de la cavidad (~225 $Å^3$).

Por otro lado, los perfiles de potencial electrostático calculados para pilar[5]- y pilar[6]arenos sencillos modificados con cadenas alquílicas muestran que las superficies inertes de la cavidad son negativas debido a que los grupos alcoxi- de ambos portales se comportan como unidades donadoras de electrones. Comparándolos con la estructura abierta de los calixarenos en disposición "cono", la estructura con forma de pilar contribuye a mejorar la densidad π-electrónica de sus cavidades, de tal forma que los pilararenos prefieren acomodar en sus cavidades moléculas pobres en electrones, tales como cationes o moléculas que contengan grupos que retiren densidad electrónica.[123]

Una de las características de los pilar[5]arenos que difiere de las de los macrociclos tradicionales es su quiralidad planar, causada por la posición de sustitución de las zonas alcoxi. Las unidades rotan alrededor de los puentes metileno, que actúan como eje. De esta forma, un pilar[5]areno tiene 8 estereoisómeros conformacionales: 4 diastereoisómeros x 2 enantiómeros (Esquema 1.27).



Esquema 1.27

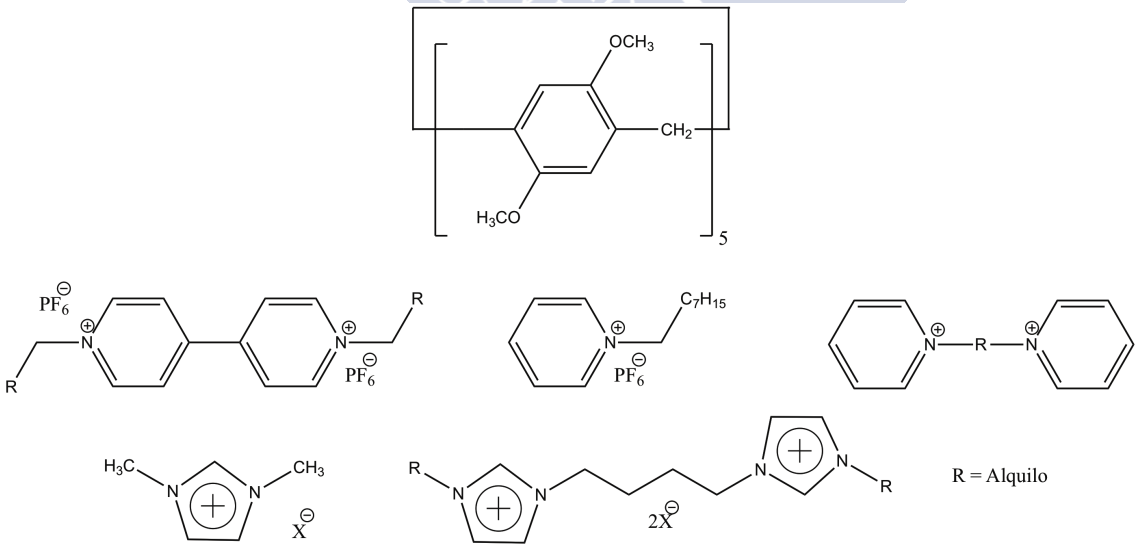
Por analogía con los calixarenos, podría decirse que estos 4 isómeros son los correspondientes con las conformaciones "cono", "cono parcial", "1,2 alternada" y "1,3 alternada".[75]

Estudios de ^{1}H RMN dinámico han demostrado que, en disolución y a 25 ºC, estos estereoisómeros conformacionales de los pilararenos se interconvierten entre sí por la rotación de las unidades fenólicas, por lo que, para aislar dichos confórmeros, es necesario inhibir dicho movimiento rotacional. Una forma de conseguirlo es introduciendo sustituyentes voluminosos en el pilararenо, tanto en el portal superior como en el inferior, que supriman la rotación de las unidades fenólicas y así inmovilizar el intercambio conformacional. El mismo efecto se consigue cuando se introduce un *guest* en el macrociclo, ya que éste actuará como "agente de frenado".[75b-75d]

1.6.4 PROPIEDADES *HOST-GUEST* DE LOS PILARARENOS

Los compuestos macrocíclicos juegan un papel destacado en la química supramolecular debido a su cavidad bien definida con tamaños en la escala de angstrom, pudiendo así capturar otras moléculas a través de varias interacciones físicas que dependen del tamaño de la cavidad, los grupos funcionales y la estructura química de las unidades que los constituyen.

Los pilararenos poseen dos ventajas principales si se comparan con los *hosts* tradicionales. En primer lugar, son altamente más rígidos y simétricos que, por ejemplo, calixarenos y éteres corona, lo que conlleva una mayor selectividad para enlazar *guests*. En segundo lugar, son más fáciles de funcionalizar con diferentes sustituyentes en sus anillos bencénicos que, por ejemplo, las ciclodextrinas o los cucurbiturilos, lo que posibilita un ajuste más preciso de sus propiedades de enlace *host-guest*.



Esquema 1.28

A continuación se muestran algunos ejemplos existentes en la bibliografía sobre estudios *host-guest* de pilararenos que muestran el comportamiento de éstos y la multitud de potenciales usos que pueden tener.

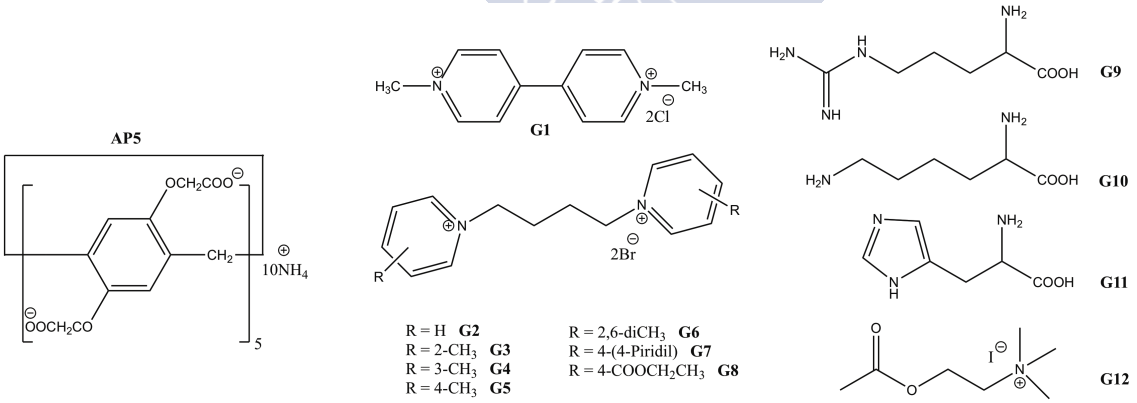
Un pilarareno sin modificación alguna está formado por unidades de hidroquinona donadoras de electrones en las que sus extremos se comportan como ionóforos. Así, exhiben interesantes propiedades *host-guest* con moléculas aceptoras de electrones tales como derivados de viológeno y piridinio,[93i,93k] cationes imidazolio[93h] y dicationes bis(imidazolio)[93j] en medios orgánicos (Esquema 1.28).

El grupo de investigación de Li ha estudiado en detalle las formas de enlace y la estequiometría del complejo para dos tipos de *guests* con el pilarareno sin sustituir, encontrando que éste forma complejos 2:1 con N,N´-dialquil-4,4´-bipiridinios, mientras que si los grupos bis(piridinio) se separan con una cadena alquílica de longitud adecuada, el complejo de inclusión que se forma es de estequiometría 1:1 y similar a un pseudorotaxano.

El grupo de Ogoshi diseñó una especie de polímero supramolecular[124a] a través de la monodesprotección y posterior monofuncionalización de un pilarareno con hexafluorofosfato de *n*-octiltrimetilamonio que genera un complejo de auto-inclusión en cloroformo, mientras que en acetona se deshace.

Los pilararenos también pueden encapsular moléculas neutras, llegando a la conclusión de que la longitud de las cadenas alquílicas de los portales del pilarareno afecta a la estabilidad de los complejos, de tal forma que un aumento de la longitud de dichas cadenas provoca una disminución en las constantes de asociación. Así, basándose principalmente en interacciones C-H···π se han formado complejos *host-guest* entre aminas alifáticas sin cargar y dimetoxipilararenos.[124b] Además, si se combinan interacciones múltiples C-H···π con enlaces de hidrógeno C-H···O(N), pilararenos alquilsustituídos sencillos forman complejos interpenetrados estables con bis(imidazoles) neutros.[124c]

No obstante, todos estos ejemplos anteriores de complejos de inclusión se dan en medios orgánicos como resultado de la escasa solubilidad de los pilararenos en agua, lo que supone un límite a la hora de avanzar en el desarrollo que la química *host-guest* de estos macrociclos. En respuesta a este problema, ya han sido sintetizados varios pilararenos solubles en agua.[107]



Esquema 1.29

La introducción de sustituyentes solubles en agua, ya sean unidades aniónicas, catiónicas o no iónicas es una forma útil de obtener pilararenos solubles en agua.

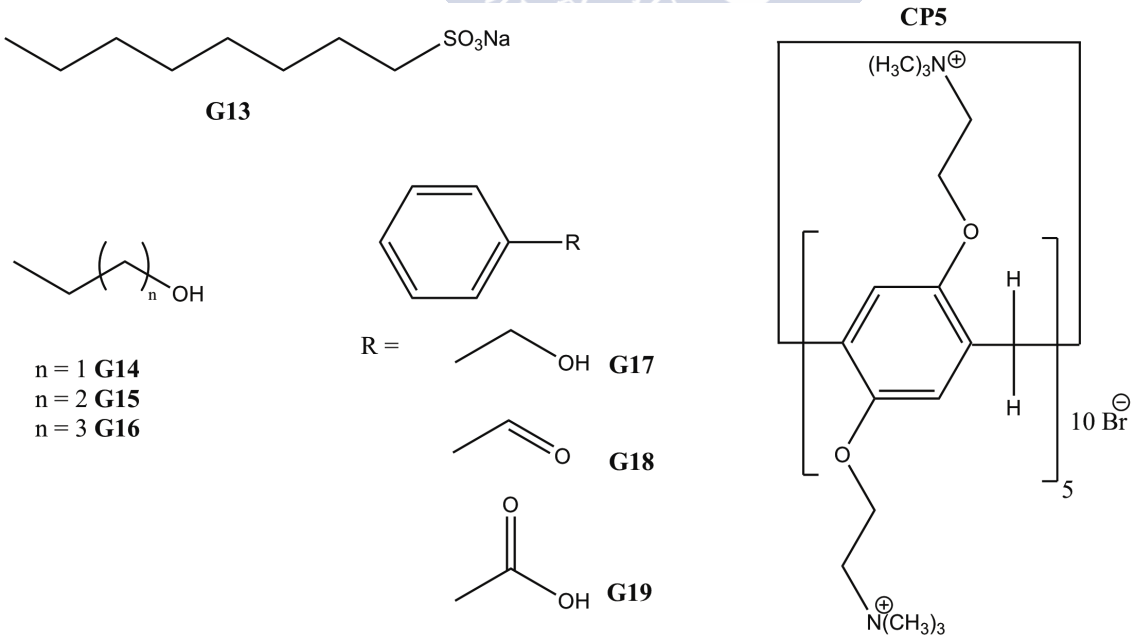
En el año 2010, Ogoshi *et al.* sintetizaron el primer pilarareno soluble en agua conteniendo 10 grupos carboxilato cargados negativamente (**AP5**),[107a] el cual puede actuar como anfitrión en agua de sales catiónicas de viológeno con constantes de hasta

70 veces mayores que las correspondientes a las de los complejos formados con el pilarareno perhidroxilado, de tal forma que en medio acuoso tiene lugar una interacción hidrofóbica-hidrofílica sinérgica que estabiliza la complejación *host-guest* a través de interacciones electrostáticas y de transferencia de carga. Así mismo, el **AP5** también forma complejos de inclusión con derivados de 1,4-bis(piridinio)butano o α-aminoácidos mediante la interacción electrostática entre las cadenas laterales catiónicas de los *guests* y los aniones carboxilato de los portales que resulta en un reconocimiento molecular selectivo de los mismos (Esquema 1.29). Como el Xenón es hidrofóbico, su solubilidad en agua es muy reducida, sin embargo, Cohen *et al.* mostraron que el Xe sí podía disolverse en medio acuoso mediante la encapsulación en la cavidad del **AP5**.

Paralelamente a estos trabajos, el grupo de Hou sintentizó un pilarareno modificado con aminas neutras capaz de encapsular diácidos lineales tanto en condiciones neutras como en ácidas o alcalinas.[107b]

Más recientemente Huang *et al.* consiguieron obtener un pilarareno catiónico sobuble en agua por introducción de grupos trimetilamonio en los portales superior e inferior (Esquema 1.30) que compleja octanosulfonato sódico en medio acuoso, formando así un [2]pseudorotaxano estabilizado principalmente por interacciones electrostáticas e hidrofóbicas.[107c] Poco después el mismo grupo de investigación también mostró la capacidad de este pilarareno para complejar moléculas neutras, como algunos alcoholes. Se comprobó que el **CP5** puede asociarse a moléculas como el propanol, el *n*-pentanol y el *n*-butanol, pero no así a alcoholes con menor longitud de cadena alquílica, como el metanol y el etanol. El mismo resultado se obtuvo con el *tert*-butanol y el *iso*-propanol, los cuales no forman complejos *host-guest* con el **CP5** por problemas de impedimento estérico.

En el año 2016, Stoikov *et al.*[125] mostraron la síntesis de diferentes pilar[5]arenos catiónicos conteniendo grupos carbonilo y amonio en ambos portales con gran afinidad hacia diferentes *guests* orgánicos con sulfonatos cargados de diferentes formas y tamaños, como el naranja de metilo.



Esquema 1.30

Por otro lado, también se han obtenido pilararenos modificados con grupos fosfina o diglicolamida que muestran una gran selectividad para reconocer multitud de iones metálicos tales como Co^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Hg^{2+} u otros elementos del bloque f como Am^{3+} y Eu^{3+}.[126–128]

Tabla 1.3. Resumen de las constantes de asociación obtenidas entre diferentes *guests* y pilararenos soluble en agua.

Host	***Guest***	**Disolvente**	**Constante de asociación (M^{-1})**	**Método**
AP5	G1	H_2O	$(8.2\pm1.4)\times10^4$	Fluorescencia
AP5	G2	H_2O	$(1.1\pm0.2)\times10^6$	Fluorescencia
AP5	G3	H_2O	$(1.9\pm0.4)\times10^4$	Fluorescencia
AP5	G4	H_2O	$(3.5\pm0.1)\times10^5$	Fluorescencia
AP5	G5	H_2O	$(3.6\pm0.5)\times10^5$	Fluorescencia
AP5	G6	H_2O	$(2.4\pm0.3)\times10^3$	Fluorescencia
AP5	G7	H_2O	$(7.0\pm0.7)\times10^5$	Fluorescencia
AP5	G8	H_2O	$(2.4\pm0.2)\times10^5$	Fluorescencia
AP5	G9	D_2O	$(5.9\pm0.4)\times10^3$	RMN
AP5	G10	D_2O	$(1.5\pm0.2)\times10^3$	RMN
AP5	G11	D_2O	$(1.8\pm0.2)\times10^3$	RMN
AP5	G12	H_2O	$(5.05\pm0.13)\times10^4$	ITC
CP5	G13	D_2O	$(1.33\pm0.94)\times10^4$	RMN
CP5	G14	D_2O	$(1.03\pm0.37)\times10^2$	RMN
CP5	G15	D_2O	$(4.61\pm0.43)\times10^2$	RMN
CP5	G16	D_2O	$(2.07\pm0.59)\times10^2$	RMN
CP5	G17	D_2O	$(1.90\pm0.33)\times10^2$	RMN
CP5	G18	D_2O	$(9.68\pm0.60)\times10^2$	RMN
CP5	G19	D_2O	$(4.26\pm0.52)\times10^2$	RMN

En la Tabla 1.3 se resumen las constantes de asociación obtenidas en estudios *host-guest* con pilararenos solubles en agua. Como puede verse, las constantes de asociación, K_a (M^{-1}), de los derivados de pilar[5]arenos con huéspedes típicos que se han estudiado hasta el momento (mediante experimentos de UV-vis, fluorescencia, ITC y RMN) poseen valores situados en el rango de 10^2 a 10^6 M^{-1}. Se ha venido concluyendo que las fuerzas que estabilizan estos complejos y por tanto afectan a la afinidad de la asociación son de diferente naturaleza, como pueden ser interacciones de transferencia de carga, interacciones C-H···π, interacciones de enlace de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. Además, los valores de K_a también dependen del disolvente, el método experimental utilizado, y los grupos sustituyentes tanto del pilararenо como de los diferentes huéspedes. No obstante, que un complejo *host-guest* posea una K_a baja no limita sus potenciales aplicaciones.[129] Por ejemplo, polímeros supramoleculares o dímeros espejo cíclicos pueden ser autoensamblados por la acción de débiles interacciones C-H···π.[130,131]

Aunque en menor medida, también existen ejemplos de complejación *host-guest* utilizando pilar[6]arenos solubles en agua. Huang *et al.*[132] fueron los primeros en obtener el pilar[6]areno modificado con grupos carboxilato, mostrando que éste forma complejos mucho más estables con algunos *paraquats* de lo que lo hace el análogo de 5 unidades como consecuencia de la mejor compatibilidad de tamaños entre la cavidad y los *guests*. Poco después, Li *et al.*[112] publicaron un trabajo sobre la síntesis de un pilar[6]areno soluble en agua modificado con grupos piridinio capaz de complejar derivados aniónicos del naftalensulfonato, encontrando que el *guest* con dos grupos sulfonato se enlaza mejor al receptor que el que posee sólo un grupo sulfonato, como consecuencia del mayor número de interacciones electrostáticas cooperativas que tienen lugar.

1.7 BIBLIOGRAFÍA

(1) **(a)** Desiraju, G. R. *Nature* **2001**, *412*, 397-400. **(b)** Steed, J. W.; Turner, D. R.; Wallace, K. J. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry* John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, England, **2007**. **(c)** Ariga, K.; Kunitake, T. *Supramolecular Chemistry - Fundamentals and Applications* Springer - Verlag Heidelberg, Berlin, Germany, **2006**. **(d)** Steed, J. W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry* John Wiley & Sons: Chippenham, Wiltshire, England, **2009**.

(2) Ball, P. *H_2O: A Biography of Water* Phoenix Press, London, **2000**.

(3) **(a)** Laage, D.; Hynes, J. T. *Science* **2006**, *311*, 811-835. **(b)** Ludwig, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3402-3405. **(c)** Klijn, J. E.; Engberts, J. B. F. N. Nature **2005**, 435, 746-747. **(d**) Zwier, T. S. *Science* **2004**, *304*, 1119-1120. **(e)** Zubavicus, Y.; Grunze, M. *Science* **2004**, *304*, 974-976. **(f)** Klein, M. L. *Science* **2001**, *291*, 2106-2017. **(g)** Errington, J. R.; Debenedetti, P. G. *Nature* **2001**, *409*, 318-321. **(h)** Narayan, S.; Muldoon, J.; Finn, M. G.; Fokin, V. V.; Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3275-3279.

(4) Chandler, D. *Nature* **2002**, *417*, 491.

(5) Ludwig, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1808-1827.

(6) **(a)** Li, C.-J.; Chen, L. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 68-82. **(b)** Blandamer, M. J.; Engberts, J. B. F. N.; Gleeson, P. T.; Reis, J. C. R. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 440-458. **(c)** Lindstrom, U. M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2751-2772. **(d)** Akiya, N.; Savage, P. E. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2725-2750.

(7) Oshovsky, G. V.; Reinhoudt, D. N.; Verboom, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2366-2393.

(8) **(a)** Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 4763-4768. **(b)** Lehn, J.-M. *Science* **2002**, 295, 2400-2403.

(9) Schrader T.; Hamilton, A. D. (Eds.) *Functional Synthetic Receptors*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.

(10) Schmuck, C.; Wennemers, H. (Eds.) *Highlights in Bioorganic Chemistry: Methods and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.

(11) Kubik, S.; Reyheller, C.; Stuwe, S. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2005**, *52*, 137-187.

(12) **(a)** Hartley, J. H.; James, T. D.; Ward, C. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, *14*, 3155-3184. **(b)** Fitzmaurice, R. J.; Kyne, G. M.; Douheret, D.; Kilburn, J. D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, 841-864.

(13) Vriezema, D. M.; Aragones, M. C.; Elemans, J. A. A. W.; Cornelissen, J. J. L. M.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1445-1489.

(14) Lehn, J.-M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH.; Weinheim, **1995**.

(15) Ariga, K.; Kunitake, T. *Supramolecular Chemistry - Fundamentals and Applications*, Springer, Berlin, Germany, **2006**.

(16) Cragg, P. J. *Supramolecular Chemistry: From Biological Inspiration to Biomedical Applications*; Springer, New York, **2010**.

(17) Beer, P. D.; Gale, P. A.; Smith, D. K. *Supramolecular Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, **2003**.

(18) Murthy, P. S. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 1010-1013.

(19) Jeffrey, G. A. *An introduction to Hydrogen Bonding*, Oxford University Press, New York, **1997**.

(20) Desiraju, G. R. in *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*, Marcel Dekker, New York, **2004**, 658-665.

(21) Chandler, D. *Nature* **2005**, *437*, 640-647.

(22) Meyer, E. E.; Rosenberg, K. J.; Israelachvili, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103*, 15739-15746.

(23) Schneider, H.-J. in *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*, Marcel Dekker, New York, **2004**, 673-678.

(24) Desiraju, G. R. *Nature* **2001**, *412*, 397-400.

(25) Andreetti, G. D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 1005-1007.

(26) Hunter, C. A. *Chem. Soc. Rev.* **1994**, *23*, 101-109.

(27) Hunter, C. A.; Lawson, K. R.; Perkins, J.; Urch, C. J. *J. Chem. Soc ., Perkin Trans. 2,* **2001**, 651-669.

(28) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009-1020.

(29) Hancock, R. D. *J. Chem. Educ.* **1992**, *69*, 615-621.

(30) Rebek, J.; Trend, J. E.; Wattley, R. V.; Chakravorti, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4333-4337.

(31) Cram, D. J.; Cram J. M. *Container Molecules and Their Guests*, Monographs in Supramolecular Chemistry, Vol. 4; Stoddart, J. F. (Ed.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, **1994**.

(32) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(33) Rideout, D. C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-7817.

(34) Otto, S.; Engberts, J. B. F. N. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1365-1372.

(35) Brandes, E.; Grieco, P. A.; Gajewski, J. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 515-516.

(36) Gholami, M. R.; Yangjeh, A. H. *Int. J. Chem. Kinet.* **2000**, *32*, 431-434.

(37) Otto, S.; Engberts, J. B. F. N. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2809–2820.

(38) Frank, H. S.; Evans, M. W. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13*, 507-532.

(39) Blokzijl, W.; Engberts, J. B. F. N.; Jager, J.; Blandamer, M. J. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 6022-6027.

(40) Soper, A. K.; Luzar, A. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1357-1367.

(41) Jönsson, B.; Lindman, B.; Holmberg, K.; Kromberg, B. *Surfactants and polymers in solution*, Wiley, **1998**.

(42) Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1976**, *72*, 1525-1568.

(43) Tanford, C. *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley, New York, **1980**.

(44) Lindman, B.; Wennerström, H. *Topics in Current Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, **1980**.

(45) Morrison, I.; Ross, S. *Colloidal Dispersions. Suspensions, Emulsions and Foams*, Wiley, New York, **2002**.

(46) Wang, B. Y.; Xu, H.; Zhang, X. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 2849-2864.

(47) Zhang, X.; Wang, C. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 94-101.

(48) Menger, F.; Littau, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1451-1452.

(49) Prins, L. J.; Reinhoudt, D. N.; Timmerman, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2382-2426.

(50) **(a)** Kimizuka, N.; Kawasaki, T.; Kunitake, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4387-4388. **(b)** Kimizuka, N.; Kawasaki, T.; Hirata, K.; Kunitake, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4094-4194. **(c)** Hermans, T. M.; Broeren, M. A.; Gomopoulos, N.; Smeijers, A. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15631-15638.

(51) **(a)** Bojinova, T.; Coppel, Y.; Lauth-de Viguerie, N.; Milius, A.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A. *Langmuir* **2003**, *19*, 5233-5239. **(b)** Falvey, P.; Lim, C. W.; Darcy, R.; Reverman, T. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1171-1180. **(c)** Wang, Y.; Ma, N.; Wang, Z.; Zhang, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2823-2826. **(d)** Jeon, Y. J.; Bharadwaj, P. K.; Choi, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4474-4476.

(52) **(a)** Gohy, J.-F.; Lohmeijer, B. G. G.; Schubert, U. S. *Macromolecules* **2002**, *35*, 4560-4563. **(b)** Moughton, A. O.; O´Reilly, R. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8714-8725. **(c)** Song, B.; Wu, G.; Wang, Z. *Langmuir* **2009**, *25*, 13306-13310.

(53) Oda, R.; Huc, I.; Schmutz, M.; Candau, S. J.; MacKintosh, F. C. *Nature* **1999**, *399*, 566-569.

(54) Wan, C.;Yin, S.;Chen, S.;Xu, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9049-9052.

(55) Ji, X.; Li, J.; Chen, J.; Chi, X.; Zhu, K.; Yan, X.; Zhang, M.; Huang, F. *Macromolecules* **2012**, *45*, 6457-6463.

(56) Yan, Q.; Yuan, J.; Cai, Z.; Xin, Y.; Kang, Y.; Yin, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9268-9270.

(57) Chi, X.; Yu, G.; Shao, L.; Chen, J.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3168-3174.

(58) Duan, Q.; Cao, Y.; Li, Y.; Hu, X.; Xiao, T.; Lin, C.; Pan, Y.; Wang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10542-10549.

(59) Xia, D.; Yu, G.; Li, J.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 3606–3608.

(60) Basílio, N.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9315-9319.

(61) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L.; Leis, J. R.; Marques, E. F.; Vázquez-Vázquez, C. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6551-6553.

(62) Bize, C.; Garrigues, J.-C.; Blanzat, M.; Rico-Lattes, I.; Bistri, O.; Colasson, B.; Reinaud, O. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 586-588.

(63) Guo, D. S.; Wang, K.; Wang, Y. X.; Liu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10244-10250.

(64) Wang, K.; Guo, D. S.; Liu, Y. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 8006-8011.

(65) Yu, G.; Xue, M.; Zhang, Z.; Li, J.; Han, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13248-13251.

(66) Asfari, Z.; Bohmer, V.; Harrowfield, J.; Vicens, J. *Calixarenes*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **2001**.

(67) **(a)** Gutsche, C. D.; Iqbal, M. *Org. Synth.* **1990**, *68*, 234-237. **(b)** Gutsche, C. D.; Dhawan, B.; Leonis, M.; Stewart, D. R. *Org. Synth.* **1990**, *68*, 238-242. **(c)** Munch, J. H.; Gutsche, C. D. *Org. Synth.* **1990**, *68*, 243-246.

(68) Stewart, D. R.; Gutsche, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4136–4146.

(69) **(a)** Shinkai, S.; Mori, S.; Tsubaki, T.; Sone, T.; Manabe, O. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5315-5318. **(b)** Shinkai, S.; Mori, S.; Korcishi, H.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2409-2416.

(70) Bohmer, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 713-745.

(71) Mulder, A.; Auletta, T.; Sartori, A.; Del Ciotto, S.; Casnati, A.; Ungaro, R.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6627-6636.

(72) Arduini, A.; Demuru, D.; Pochini, A.; Secchi, A. *Chem. Commun.* **2005**, *41*, 645-647.

(73) Rudkevich, D. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *32*, 3255-3270.

(74) Arduini, A.; Ciesa, F.; Fragassi, M.; Pochini, A.; Secchi, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *44*, 278-281.

(75) **(a)** Ikeda, A.; Shinkai, S. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1713-1734. **(b)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Aoki, T.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 817-821. **(c)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Aoki, T.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3268-3273. **(d)** Ogoshi, T.; Masaki, K.; Shiga, R.; Kitajima, K.; Yamagishi, Y. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1264-1266.

(76) Gutsche, C. D.; Bauer, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6052-6059.

(77) Lamartine, R.; Regnouf-de-Vains, J. B.; Choquar, P.; Marcillac, A. *World Patent*, WO 97/49677, **1997**.

(78) **(a)** Morzherin, Y.; Rudkevich, D. M.; Verboom, W.; Reinhoudt, D. N. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7602-7605. **(b)** Makha, M.; Raston, C. L. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6215-6217.

(79) Suga, K.; Ohzono, T.; Negishi, M.; Deuchi, K.; Morita, Y. *Supramol. Sci.* **1998**, *5*, 9-14.

(80) Basílio, N.; García-Río, L.; Martín-Pastor, M. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 7201-7206.

(81) Bakirci, H.; Koner, A. L.; Nau, W. M. *Chem. Commun.* **2005**, *43*, 5411-5413.

(82) Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 462-465.

(83) Cuc, D.; Canet, D.; Morel, J. P.; Morel-Desrosiers, N.; Mutzenhardt, P. *Chemphyschem* **2007**, *8*, 643-645.

(84) Francisco, V.; Basilio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5308-5315.

(85) Francisco, V.; Piñeiro, A.; Nau, W. M.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 17809-17820.

(86) Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Phys. Org. Chem.* **1998**, *11*, 693-696.

(87) Perret, F.; Morel, J. P.; Morel-Desrosiers, N. *Supramol. Chem.* **2003**, *15*, 199-206.

(88) Douteau-Guével, N.; Perret, F.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2002**, *3*, 524-532.

(89) Buschmann, H.-J.; Mutihac, L.; Schollmeyer, E. *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* **2003**, *46*, 133-137.

(90) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 4710–4716.

(91) Pessêgo, M.; Basílio, N.; Muñiz, M. C.; García-Río, L. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 1-13.

(92) Lavande, N.; Acuña, A.; Basílio, N.; Francisco, V.; Malkhede, D. D.; García-Río, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19*, 13640-13649.

(93) **(a)** Deng, H.; Shu, X.; Hu, X.; Li, J.; Jia, X.; Li, C. *Tetrahedron Lett.* **2012**,53, 4609-4612. **(b)** Han, C.; Yu, G.; Zheng, B.; Huang, F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1712-1715. **(c)** Ni, M.; Guan, Y.; Wu, L.; Deng, C.; Hu, X.; Jiang, J.; Lin, C.; Wang, L. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 6409-6413; **(d)** Shu, X.; Chen, S.; Li, J.; Chen, Z.; Weng, L.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2967-2969. **(e)** Shu, X.; Fan, J.; Li, J.; Wang, X.; Chen, W.; Jia, X.; Li, C. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 3393-3397. **(f)** Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710. **(g)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Aoki, T; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 817-821. **(h)** Ogoshi, T.; Tanaka, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Lett.* **2011**, *40*, 96-98; **(i)** Li, C.; Xu, Q.; Li, J.; Yao, F.; Jia, X. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1568-1576; **(j)** Li, C.; Zhao, L.; Li, J.; Ding, X.; Chen, S.; Q. Zhang, Q.; Yu, Y.; Jia, X. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 9016-9018. **(k)** Li, C.; Shu, X.; Li, J.; Chen, S.; Han, K.; Xu, M.; Hu, B.; Yu, Y.; Jia, X. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8458-8465. **(l)** Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342. **(m)** Hu, X.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696. **(n)** Duan, Q.; Xia, W.; Hu, X.; Ni, M.; Jiang, J.; Lin, C.; Pan, Y.; Wang, L. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8532-8534. **(ñ)** Li, C.; Shu, X.; Li, J.; Fan, J.; Chen, Z.; Weng, L.; Jia, X. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4126-4129. **(o)** Han, C.; Ma, F.;

Zhang, Z.; Xia, B.; Yu, Y.; Huang, F. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4360-4363.

(94) **(a)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Aoki, T.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.-A.; Nakamoto, Y. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3268-3273. **(b)** Ogoshi, T.; Shiga, R.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 618-622. **(c)** Ogoshi, T.; Masaki, K.; Shiga, R.; Kitajima, K.; Yamagishi, T. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1264-1266.

(95) **(a)** Li, C.; Zhao, L.; Li, J.; Ding, X.; Chen, S.; Zhang, Q.; Yu, Y.; Jia, X. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 9016-9018. **(b)** Gao, L.; Han, C.; Zheng, B.; Dong, S.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 472-474. **(c)** Ogoshi, T.; Yamafuji, D.; Aoki, T.; Kijatima, K.; Yamagishi, T *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 7493-7500.

(96) **(a)** Zhang, Z.; Luo, Y.; Chen, J.; Dong, S.; Yu, Y.; Ma, Z.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1397-1401. **(b)** Ogoshi, T.; Kayama, H.; Yamafuji, D.; Aoki, T.; Yamagishi, T. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3221-3226.

(97) **(a)** Si, W.; Chen, L.; Hu, X.-B.; Tang, G.; Chen, Z.; Hou, J.-L.; Li, Z.-T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12564-12568. **(b)** Zhang, H.; Strutt, N.; Stoll, R.; Li, H.; Zhua, Z.; Stoddart, J. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11420-11422.

(98) Gardziella, A.; Pilato, L. A.; Knop, A. *Phenolic Resins: Chemistry, Applications, Standardization, Safety and Ecology*, Springer-Verlag, Berlin, **2000**.

(99) **(a)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 636-638. **(b)** Ogoshi, T.; Kitajima, K.; Aoki, T.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3268-3273.

(100) Ogoshi, T.; Aoki, T.; Kitajima, K.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 328-331.

(101) **(a)** Holler, M.; Allenbach, N.; Sonet, J.; Nierengarten, J.-F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2576-2578. **(b)** Ma, Y.; Zhang, Z.; Ji, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *27*, 5331-5335. **(c)** Cao, D.; Kou, Y.; Liang, J.; Chen, Z.; Wang, L.; Meier, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9721-9723.

(102) Kou, Y.; Tao, H.; Cao, D.; Fu, Z.; Schollmeyer, D.; Meier, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *33*, 6464-6470.

(103) Khan, A. R.; Forgo, P.; Stine, K. J.; D'Souza, V. T. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977-1996.

(104) Engeldinger, E.; Armspach, D.; Matt, D. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4147-4173.

(105) Bellia, F.; La Mendola, D.; Pedone, C.; Rizzarelli, E.; Saviano, M.; Vecchio, G. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2756-2781.

(106) Ogoshi, T.; Umeda, K.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2009**, *0*, 4874-4876.

(107) **(a)** Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710. **(b)** Hu, X.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696. **(c)** Huang, F.; Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(108) Sun, Y.-L.; Yang, Y.-W.; Chen, D.-X.; Wang, G.; Zhou, Y.; Wang, C.-Y.; Stoddart, J. F. *Small* **2013**, *9*, 3224-3229.

(109) Adiri, T.; Marciano, D.; Cohen, Y. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7082-7084.

(110) Ogoshi, T.; Shiga, R.; Yamagishi, T.-A. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4577-4580.

(111) Yao, Y.; Xue, M.; Chi, X.; Ma, Y.; He, J.; Abliz, Z.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6505-6507.

(112) Chen, W.; Zhang, Y.; Li, J.; Lou, X.; Yu, Y.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7956-7958.

(113) Ogoshi, T.; Ueshima, N.; Yamagishi, T. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3742-3745.

(114) Zhang, F.; Cao, X.; Tian, D.; Li, H. *Chin. J. Chem.* **2015**, *33*, 368-372.

(115) Ogoshi, T.; Shiga, R.; Hashizume, M.; Yamagishi, T. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 6927-6929.

(116) Ogoshi, T.; Yamafuji, D.; Kotera, D.; Aoki, T.; Fujinami, S.; Yamagishi, T. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 11146-11152.

(117) Ni, M.; Hu, X.-Y.; Jiang, J.; Wang, L. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 1317-1319.

(118) Wu, X.-L.; Chen, Y.; Hu, W.-J.; Liu, Y. A.; Jia, X.-S.; Li, J.-S.; Jiang, B.; Wen, K. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4897-4900.

(119) Labuta, J.; Hill, J. P.; Ishihara, S.; Hanyková, L.; Ariga, K. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 521-529.

(120) Misra, R.; Chandrashekar, T. K. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 265-279.

(121) Wang, M. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 182-195.

(122) **(a)** Huang, F.; Han, C.; Ma, F.; Zhang, Z.; Xia, B.; Yu, Y. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4360-4363. **(b)** Lee, J.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Kim, H. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 621-630. **(c)** Hapiot, F.; Tilloy, S.; Monflier, E. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 767-781.

(123) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 4776-4787.

(124) **(a)** Ogoshi, T.; Demachi, K.; Kitajima, K.; Yamagishi, T.-A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7164-7166. **(b)** Strutt, N.; Forgan, R.; Spruell, J.; Stoddart, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 55668-5671. **(c)** Li, C.; Chen, S.; Li, J.; Han, K. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11294-11296.

(125) Yakimova, L.; Shurpik, D.; Gilmanova, L.; Makhmutova, A.; Rakhimbekova, A.; Stoikov, I. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 4233-4238.

(126) Fang, Y.; Wu, L.; Liao, J.; Chen, L.; Yang, Y.; Liu, N.; He, L.; Zou, S.; Feng, W.; Yuan, L. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 12376-12383.

(127) Wu, L.; Fang, Y.; Jia, Y.; Yang, Y.; Liao, J.; Liu, N.; Yang, X.; Feng, W.; Ming, J.; Yuan, L. *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 3835-3838.

(128) Jia, Y.; Fang, Y.; Li, Y.; He, L.; Fan, W.; Feng, W.; Yang, Y.; Liao, J.; Liu, N.; Yuan, L. *Talanta* **2014**, *125*, 322-328.

(129) Ashton, P. R.; Chrystal, E. J. T.; Glink, P. T.; Menzer, S.; Schiavo, C.; Spencer, N.; Stoddart, J. F.; Tasker, P. A.; White, A. J. P.; Williams, D. J. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 709-728.

(130) Zhang, Z.; Luo, Y.; Chen, J.; Dong, S.; Yu, Y.; Ma, Z.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1397-1401.

(131) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Giesener, M. A; Lei, J.; Stoddart, J. F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1647-1649.

(132) Yu, G.; Zhou, X.; Zhang, Z.; Han, C.; Mao, Z.; Gao, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19489-19497.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 2

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 2

2. QUÍMICA *HOST-GUEST* DE UN PILAR[5]ARENO SOLUBLE EN AGUA: EVIDENCIAS DE INTERCAMBIO IÓNICO Y DIFERENTES MODOS DE COMPLEJACIÓN

2.1 INTRODUCCIÓN

La introducción de un nuevo macrociclo en el mundo de la química *host-guest* es un fenómeno extraño y siempre interesante. Junto con los ya ampliamente conocidos macrociclos tales como éteres corona, ciclodextrinas, calixarenos y cucurbiturilos,[1–3] los pilar[n]arenos son los últimos macrociclos en incorporarse al panorama de la química supramolecular. Sintetizados por primera vez en el año 2008,[4] esta nueva familia de moléculas macrocíclicas están formadas por unidades de 1,4-dialcoxibenceno unidas entre sí en posición *para* a través de puentes metileno, otorgándoles una estructura rígida y simétrica en forma de columna o pilar. Desde entonces se vienen explorando nuevas rutas para su funcionalización de tal forma que puedan mejorarse sus propiedades como anfitrión de diferentes moléculas, permitiendo así su uso en diferentes sistemas supramoleculares (quimiosensores, agregados supramoleculares y liberación controlada de fármacos).[5–7]

Los pilararenos pueden reconocer selectivamente multitud de moléculas en disolventes orgánicos,[8–10] debido principalmente a la formación de interacciones C-H···π en su cavidad rica en electrones, así como también en medios acuosos.[11–15]

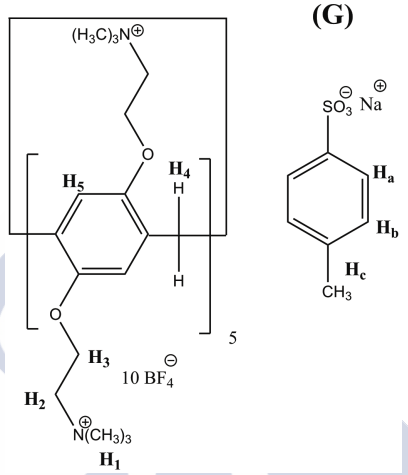
Para poder utilizar este tipo de compuestos en auga, medio en el que ocurren la mayoría de los procesos biológicos, es necesario funcionalizar los pilararenos con grupos altamente hidrofílicos como por ejemplo grupos amonio o carboxilato. Sin embargo, esta metodología implica la introducción de un nuevo potencial *guest* en el medio, el contraión, que competirá con otros *guests* por acomodarse en la cavidad del macrociclo. En la bibliografía existen multitud de ejemplos sobre la complejación de cationes y aniones por macrociclos,[16–19] no obstante, también existe una considerable discrepancia en las constantes de complejación y los parámetros termodinámicos obtenidos debido a que normalmente no se tiene en cuenta el efecto del contraión,[20–23] especialmente en la complejación de pequeños aniones y cationes.

En los últimos años, nuestro grupo de investigación se ha esforzado en demostrar la influencia que tienen los contraiones en los procesos de complejación entre calixarenos solubles en agua y diferentes huéspedes iónicos.[24,25] El estudio de la complejación de iones por macrociclos tiene especial importancia ya que, normalmente, éstos van a estar presentes como contraiones de los propios macrociclos y, además, en los estudios de este tipo de compuestos se suelen utilizar disoluciones tampón que constituyen una fuente adicional de iones. Por esta razón, en la química *host-guest* de estos macrociclos existen algunas cuestiones que necesitan ser respondidas. En primer lugar, ¿está el contraión

ciertamente incluído en la cavidad del macrociclo? En segundo lugar, ¿qué modelo de complejación debería usarse si los contraiones están acomodados en la cavidad del *host*?

Otro aspecto importante está relacionado con la estequiometría de los complejos. Aunque los pilararenos poseen dos portales por los que poder complejar, hasta la realización de este trabajo en la bibliografía sólo podían encontrarse ejemplos de complejos con aminoácidos, derivados de viológeno y alcoholes con estequiometría 1:1.[26,27] La formación de complejos *host-guest* con estequiometría 1:2 es rara,[28] entendible al utilizar *guests* voluminosos, pero difícil de explicar en presencia de pequeñas moléculas huésped.

(H) **(G)**



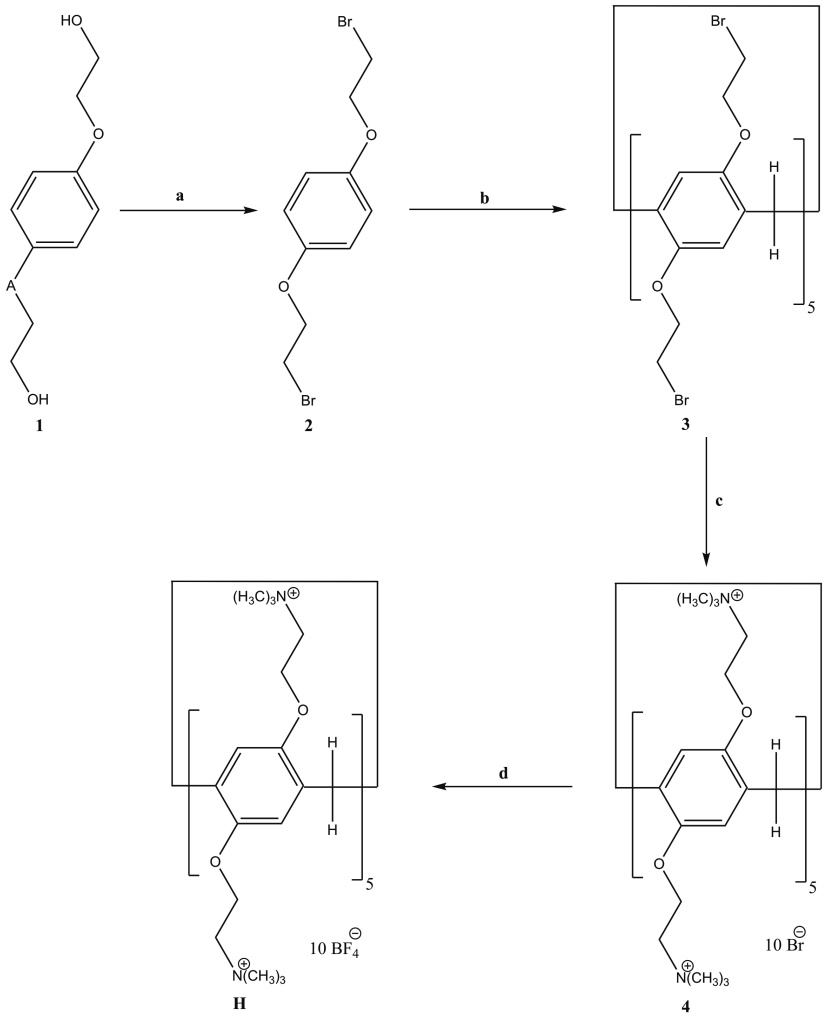
Esquema 2.1

Así, en este capítulo se muestra un profundo estudio del comportamiento que tiene el tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) para actuar como receptor molecular de aniones (Esquema 2.1). El uso de BF_4^- como contraión en agua no es convencional, pero permitió estudiar su complejación por el macrociclo utilizando experimentos de DOSY (*NMR Diffusion-Ordered SpectroscopY*). La realización de experimentos con bromuro (Br^-) como contraión permite afirmar que las conclusiones obtenidas con el tetrafluroborato no están restringidas a un contraión en particular, sino que las mismas pueden extenderse de manera general a otros macrociclos cargados. En primer lugar, cabe mencionar que el pilar[5]areno se asocia a un gran número de contraiones dependiendo de la concentración de *host*, concluyendo que la carga neta en el receptor macrocíclico depende de su concentración (se encontró una variación de entre 10 y 5 cargas positivas al aumentar su concentración). Los cambios en la carga neta del macrociclo tienen importantes repercusiones en su capacidad para actuar como receptor supramolecular. Utilizando el *p*-toluensulfonato como modelo de *guest* aniónico (**G**, Esquema 2.1) y analizando los coeficientes de difusión tanto del *guest* como del contraión, es posible alcanzar la conclusión de que debería de considerarse un mecanismo de reconocimiento de intercambio iónico de manera general tanto en el caso de los pilararenos como en el de otros receptores iónicos que puedan enlazarse a sus propios contraiones. Como se mostrará, el mecanismo de intercambio iónico opera independientemente tanto de la concentración de sal en disolución como de la naturaleza del contraión. Además, se muestra la habilidad del pilar[5]areno para formar complejos *host-guest* con estequiometría 1:1 y 1:2, de tal forma que la geometría del complejo 1:2 está determinada por restricciones estéricas, con el primer toluensulfonato bien incluído en la cavidad del macrociclo y el segundo localizado como una tapa (*stopper*), siendo el

primer ejemplo de reconocimiento múltiple por pilar[5]arenos que da lugar a complejos con diferentes modos de enlace.

2.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención de **H** se muestra en el Esquema 2.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice 2.5.1.



Esquema 2.2

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN fueron adquiridos a 25 ºC en espectrómetros Varian Inova 500 (para el protón) y Varian Inova 300 (para el flúor) equipados con sondas de detección inversa ^{1}H/X de 5 mm con gradiente Z. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Los espectros de difusión de ^{1}H y de ^{19}F se obtuvieron de forma independiente. Para el ^{1}H, mediante experimentos de doble eco de spin estimulado con pulsos de gradiente bipolares (DBPPSTE),[29] aplicando pulsos de gradientes (G) rectangulares cuya potencia fue incrementada linealmente desde 4 hasta 130 G cm^{-1} en 20 pasos. Mientras que para el ^{19}F se usaron experimentos de eco de spin simple estimulado (Doneshot),[30] también

con pulsos de gradientes rectangulares e incrementos lineales de potencia desde 2 hasta 18 G cm^{-1} en 20 pasos. La duración del gradiente de campo pulsado (δ) para codificar y descodificar la difusión fue de 1.6 ms para los experimentos de ^{1}H y de 2 ms para los de ^{19}F. El tiempo de difusión (Δ) fue optimizado a 50 ms en el caso del ^{1}H y a 300 ms para el ^{19}F, teniendo en cuenta que el Δ óptimo para determinar coeficientes de difusión (D) con la mayor precisión es aquel con el que la intensidad de señal de RMN decae hasta aproximadamente el 5% de su valor en ausencia de gradiente de campo. La fuerza absoluta del gradiente fue calibrada utilizando una muestra de difusión conocida como referencia. Para el calibrado de los experimentos de ^{1}H, se utilizó una muestra de D_2O 99 % a 25 ºC ($D = 1.87\times10^{-5}$ cm^2 s^{-1})[31] y para el calibrado de los experimentos de ^{19}F una disolución de NaF 0.3 mM preparada en H_2O con 10 % de D_2O a 25 ºC ($D = 1.37\times10^{-5}$ cm^2 s^{-1}).[32] Tal y como se esperaba, los valores obtenidos para la calibración de los gradientes fueron los mismos en un intervalo de error menor al 1 %.

Los espectros de diferencia de transferencia de saturación (STD, del inglés *Saturation Transfer Difference*) se realizaron en un espectrómetro Varian Inova 750 para dos muestras conteniendo mezclas de **H** y **G** en relaciones molares de 1:1 y de 1:66 y a 5 ºC. La saturación selectiva proveniente del espectro STD_{on} se centró en una de las señales de los protones de **G**, Ha o Hb. La saturación se obtuvo mediante la aplicación de un tren de pulsos (de 90º) selectivo de baja potencia con forma gaussiana con duración de 50 ms cada uno y separados por un intervalo de 0.1 ms. Para garantizar la completa relajación de todos los protones después de cada *scan* se utilizó otro de 6 s con pulso de 30º. El espectro de referencia STD_{off} se obtuvo bajo las mismas condiciones excepto por la saturación selectiva, que se movió a una región limpia del espectro (15 ppm). Los *scans* correspondientes a los experimentos STD_{on} y STD_{off} se entrelazaron durante la adquisición y las correspondientes FIDs se sustrajeron automáticamente mediante ciclos de fase que dan lugar a los espectros STD_{off-on} mostrados finalmente. Cada espectro STD_{off-on} se acumuló durante 512 *scans*. Se obtuvieron cuatro espectros STD_{off-on} para cada muestra con tiempos de saturación de 1, 2, 3 y 4 s.

Los espectros bidimensionales se obtuvieron en un espectrómetro Varian Inova 750.

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular la constante de complejación del sistema (K), se utilizó el *software* ORIGIN (Microcal Inc.) partiendo de la curva de valoración. En todos los experimentos, el calor de reacción se ajustó al modelo "*one set of binding sites*" característico de complejos de inclusión con estequiometría 1:1. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 INTERACCIONES ENTRE H Y EL CONTRAIÓN

La cavidad aromática rica en electrones π y la presencia de grupos catiónicos trimetilamonio en posición *para* relativa a los oxígenos fenólicos confiere al tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) una gran capacidad para formar complejos *host-guest* con aniones orgánicos debido al efecto complementario de interacciones electrostáticas, anión-π, hidrofóbicas, apilamiento-π, CH-π, etc.

Pero, además de la capacidad que presentan estos compuestos para formar complejos de inclusión con aniones orgánicos, **H** podría también complejar aniones inorgánicos en disolución acuosa. Debido, probablemente, a que los pilararenos son unos compuestos relativamente recientes (se sintetizaron por primera vez en el año 2008), la complejación con iones inorgánicos es aún un aspecto menos explorado. Algo que no ocurre, por ejemplo, con los calixarenos.[33]

La complejación de iones inorgánicos puede ser un campo de estudio de gran interés debido a la posibilidad de aplicar pilararenos en la construcción de quimiosensores que complejen y extraigan iones metálicos en disolución acuosa.

En medios acuosos, el estudio de la complejación de iones por macrociclos tiene especial importancia ya que, normalmente, éstos van a estar presentes como contraiones de los propios macrociclos y, además, en los estudios de este tipo de compuestos se suelen utilizar disoluciones tampón que constituyen una fuente adicional de iones. En el caso concreto de los pilar[5]arenos funcionalizados en ambos portales habrá un total de 10 contraiones, lo que supone una gran cantidad de sal en el medio. Por ello, la posible complejación del anión tetrafluoroborato (BF_4^-) por parte de **H** debe tenerse en cuenta a la hora de estudiar la formación de un complejo de inclusión, ya que el contraión BF_4^- podría competir con otras especies huésped en los procesos de complejación.

En la primera parte de este trabajo se ha estudiado la complejación del BF_4^- por **H** a partir de medidas de coeficientes de difusión del pilararenо y sus contraiones, determinados por resonancia magnética nuclear de ^{1}H y de ^{19}F.

El coeficiente de difusión es un valor que representa la facilidad con la que cada soluto en particular se mueve en un determinado disolvente y que depende del tamaño y forma del soluto, la viscosidad del disolvente y la temperatura. La difusiometría de RMN o DOSY (*Diffusion Ordered NMR SpectroscopY*) es una técnica que permite determinar los coeficientes de difusión de una o varias especies en disolución a partir de sus señales en el espectro de RMN.

Como a partir del coeficiente de difusión (D) se puede obtener información valiosa acerca del tamaño y forma de moléculas y/o agregados, la técnica de DOSY tiene cada vez mayor aplicación en química supramolecular. Entre las diversas aplicaciones se encuentran, por ejemplo, la determinación de constantes de asociación, la investigación de procesos de auto-agregación, pares iónicos o el estudio de encapsulaciones, tamaños y estructuras de sistemas lábiles.[34,35]

Para investigar la complejación de los aniones BF_4^- por **H** se han adquirido espectros DOSY de ^{1}H y de ^{19}F a diferentes concentraciones del mismo, y también DOSYs de ^{19}F de disoluciones de tetrafluoroborato potásico (KBF_4) para su comparación. En la Figura 2.1 se muestran, a modo de ejemplo, parte de los espectros DOSY de ^{19}F y ^{1}H obtenidos para una disolución de **H** (1.5 mM en D_2O, 25 ºC).

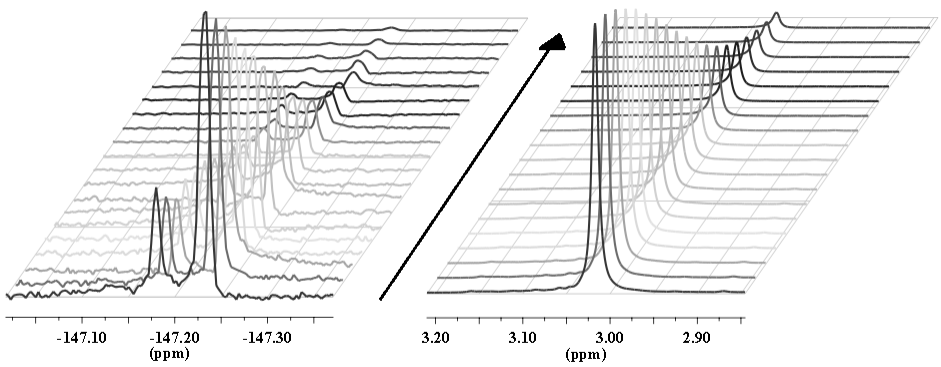


Figura 2.1. Parte de los espectros de ^{19}F DOSY (izquierda, señal tetrafluoroborato) y de ^{1}H DOSY (derecha, señal trimetilamonio) obtenidos para una disolución de **H** 1.5 mM (D_2O, 25 ºC, 300 MHz (^{19}F) y 500 MHz (^{1}H)). La flecha representa el incremento del gradiente desde 2 hasta 18 G cm^{-1} (^{19}F) y desde 4 hasta 130 G cm^{-1} (^{1}H) en 20 pasos.

Cabe comentar que el espectro de ^{19}F RMN para el anión BF_4^- presenta dos señales. Esto suceso se debe al acoplamiento del núcleo de ^{19}F con los dos diferentes isótopos que presenta el boro, ^{10}B y ^{11}B, presentes en el anión tetrafluoroborato. El pico más intenso se corresponde con el isótopo más abundante, el ^{11}B, el cual representa aproximadamente el 80 % de los átomos de boro.[36]

Para obtener el coeficiente de difusión (D) mediante experimentos de DOSY se adquiere un espectro pseudo-2D en el que se incrementa linealmente la potencia del gradiente en 20 sub-espectros 1D. Después del procesado, el valor de D se obtiene mediante un ajuste no lineal de la integral o intensidad (I) de una determinada señal a la ecuación de Stejskal-Tanner[31] (ecuación (2.1)), donde γ es la constante giromagnética del núcleo observado, 26752.2 rad G^{-1} s^{-1} para el ^{1}H y 25166.5 rad G^{-1} s^{-1} para el ^{19}F.

$$\frac{I}{I_0} = \exp\left[-D\gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right] \qquad (2.1)$$

En todos los experimentos se obtuvieron unos buenos ajustes del decaimiento de la integral de la señal a dicha ecuación. Como ejemplo, se muestran en la Figura 2.2 los resultados experimentales obtenidos para el decaimiento de las integrales de la señal de ^{19}F y de ^{1}H en función de la potencia del gradiente y los respectivos ajustes a la ecuación de Stejskal-Tanner para una muestra de **H** (1.5 mM) en D_2O a 25 ºC.

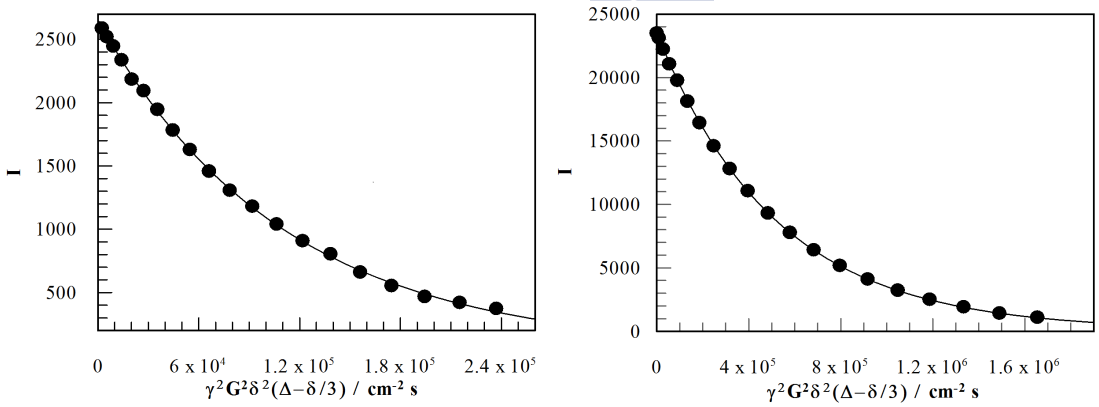


Figura 2.2. Decaimiento de la integral para la señal de ^{19}F (izquierda) y de ^{1}H (derecha) en una muestra de **H** 1.5 mM en D_2O a 25 ºC. La línea representa el mejor ajuste a la ecuación (2.1).

De esta forma, se han determinado los coeficientes de difusión para los aniones BF_4^- y para **H** a distintas concentraciones. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 2.3.

En primer lugar, puede observarse que el coeficiente de difusión del anión BF_4^- en el KBF_4 (línea discontinua) es independiente de la concentración de sal en el rango estudiado ($D_{BF_4}^{KBF_4} = 1.68 \times 10^{-5}\ cm^2 s^{-1}$), lo que sugiere que no habrá un cambio significativo en la viscosidad de las disoluciones estudiadas en este rango de concentraciones. Es importante resaltar que estos resultados experimentales han sido obtenidos en ausencia de **H**, por lo que todo el anión BF_4^- procede de la disolución de la sal KBF_4.

Para saber si el BF_4^- se asocia a **H**, se determinó el coeficiente de difusión del macrociclo por ^{1}H DOSY y el coeficiente de difusión de los contraiones BF_4^- por ^{19}F DOSY en disoluciones de diferentes concentraciones de pilarareno (en ausencia de KBF_4 adicional). Por lo tanto, en estas condiciones, todos los aniones BF_4^- presentes en la disolución serán los provenientes de la disociación del macrociclo. De acuerdo con la estequiometría de **H**, la concentración de aniones total debe de ser 10 veces mayor que la del pilarareno.

Como puede observarse, cuando se analizan los valores obtenidos para el coeficiente de difusión de los contraiones BF_4^- en las disoluciones de **H**, $D_{BF_4}^H$ (●), y se comparan con los valores obtenidos para la sal KBF_4, se observa que los primeros son siempre inferiores al valor del anión libre. Este hecho constituye una evidencia directa de que los aniones BF_4^- se asocian al pilarareno.

Por último, se puede ver que el coeficiente de difusión obtenido para el macrociclo (o) permanece prácticamente constante ($D_H^H = 2.29 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$) en el rango de concentraciones estudiado, indicando que éste no sufre alteraciones significativas de tamaño, forma o peso molecular "efectivo". Sabiendo que el peso molecular de la especie en conjunto es de 2340.2 g/mol, este hecho se explica teniendo en cuenta que el peso molecular del macrociclo disociado (en ausencia de contraiones), sería de 1472.5 g/mol, en tanto que cada contraión aporta un peso de 86.7 g/mol. Consecuentemente, la incorporación de, por ejemplo, un contraión por parte del pilarareno supone un incremento de peso de aproximadamente el 6 % para el macrociclo, pero, este mismo proceso desde el punto de vista del anión, supone un incremento de casi el 1700 %.

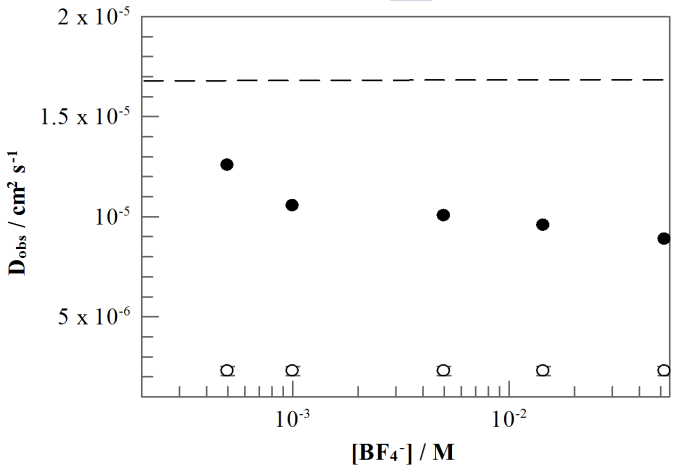


Figura 2.3. Coeficientes de difusión observados en diferentes disoluciones de **H** para los iones BF_4^- (●) y para los respectivos pilararenos (o). A efectos visuales se muestra también el coeficiente de difusión del anión libre (línea discontinua). Todas las medidas fueron efectuadas en D_2O a 25 ºC.

Una de las principales ventajas de los experimentos de DOSY para estudios de sistemas *host-guest* es que nos permiten determinar la fracción de especies complejadas sin necesidad de recurrir a estudios sistemáticos en los que se varíe la concentración. Si se asume que la formación de complejos entre **H** y el BF_4^- es rápida en la escala de tiempo de RMN, el coeficiente de difusión observado para el BF_4^- en presencia de **H** y en ausencia de sales externas, $(D_{BF_4}^H)_{\text{obs}}$ viene dado por la fracción de aniones BF_4^- que se encuentran libres, $\chi_{BF_4}^{libre}$, multiplicada por su coeficientes de difusión, $D_{BF_4}^{KBF_4}$, más la fracción de los aniones asociados al pilarareno, $\chi_{BF_4}^{asoc}$, multiplicada por el coeficiente de difusión del anión BF_4^- cuando se encuentra asociado al macrociclo, $D_H^{H-BF_4}$.Teniendo en cuenta que la suma de las fracciones molares es igual a 1. La ecuación quedaría como:

$$(D_{BF_4}^H)_{obs} = (1 - \chi_{BF_4}^{asoc}) D_{BF_4}^{KBF_4} + \chi_{BF_4}^{asoc} D_H^{H-BF_4} \tag{2.2}$$

Si se considera que el radio hidrodinámico del pilarareno no cambia al complejar el anión BF_4^-, puede asumirse que $D_H^{H-BF_4} = D_H^H$, por lo que la fracción de BF_4^- complejada ($\chi_{BF_4}^{asoc}$) puede ser fácilmente calculada como:

$$\chi_{BF_4}^{asoc} = \frac{(D_{BF_4}^H)_{obs} - D_{BF_4}^{KBF_4}}{D_H^H - D_{BF_4}^{KBF_4}} \tag{2.3}$$

Teniendo en cuenta el valor para el coeficiente de difusión del anión libre ($D_{BF_4}^{KBF_4} = 1.68 \times 10^{-5}\ cm^2 s^{-1}$) y el del macrociclo ($D_H^H = 2.29 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$), se calculó conforme a la ecuación (2.3) la fracción molar de BF_4^- complejada.

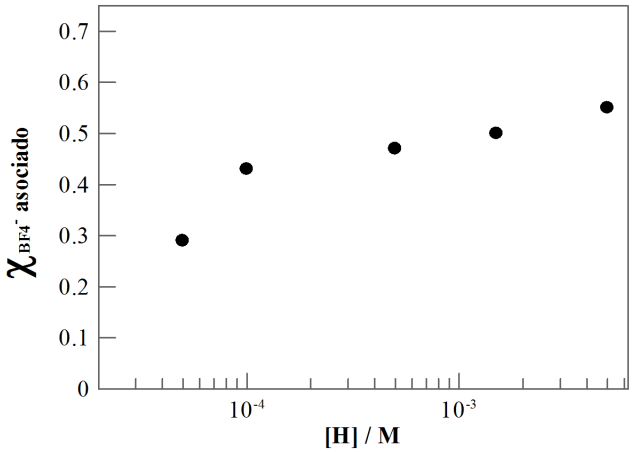


Figura 2.4. Evolución de la fracción de contraiones complejados en función de la concentración de pilarareno.

De esta forma, los resultados obtenidos indican que el pilarareno forma complejos con el anión tetrafluoroborato. Además, como puede observarse, los valores calculados de $\chi_{BF_4}^{asoc}$ demuestran una marcada tendencia (Figura 2.4) a aumentar con la concentración de **H**, concluyendo que el macrociclo puede acomodar aproximadamente hasta 5 de los contraiones en su cavidad. Cabe mencionar que este importante cambio en la fracción de contraiones asociados está determinado por el hecho de la estequiometria 1:10 del pilarareno. Esto significa que cuando se dobla la concentración de macrociclo, se está multiplicando por 20 la concentración de contraiones. Estos resultados están de acuerdo con lo esperado para un proceso de formación de complejos anfitrión-huésped. A modo de comparación y a diferencia de lo que sucede con calixarenos solubles en agua,[24] en los que la carga neta del macrociclo varía solo una unidad, la carga neta de **H** cambia desde aproximadamente 10 cargas positivas (para concentraciones de receptor macrocíclico

inferiores a 10^{-2} mM) hasta cinco cargas positivas para concentraciones de pilarareno mayores de 1 mM. Intuitivamente, puede concluirse que la capacidad del pilarareno para enlazarse a *guests* aniónicos cambia con su carga neta. Además, los resultados también evidencian que **H** es un buen receptor de aniones, que son moléculas con un rol muy importante en los procesos biológicos, convirtiendo así a los pilararenos en unos macrociclos interesantes dentro del área de los quimiosensores.[19]

2.3.2 FORMACIÓN DE UN COMPLEJO DE INCLUSIÓN: H:G

2.3.2.1 ESTUDIO POR ^{1}H RMN

La cavidad hidrofóbica rica en electrones π junto con la presencia de 5 cargas positivas por portal, hacen de **H** un receptor idóneo para huéspedes aniónicos. De esta forma, en primer lugar se investigó la complejación del *p*-toluensulfonato sódico (**G**) con el tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) (Esquema 2.1) mediante experimentos de resonancia magnética nuclear (^{1}H y 2D).

La técnica de ^{1}H RMN es, posiblemente, la más utilizada para el estudio de sistemas *host-guest*. Además de la información cuantitativa que puede aportar la titulación por RMN, los desplazamientos relativos y cambios en la simetría también pueden, a menudo, dar información valiosa sobre cómo interaccionan el *host* y el/los *guest*(*s*) o sobre la estequiometría de dicha interacción.[37]

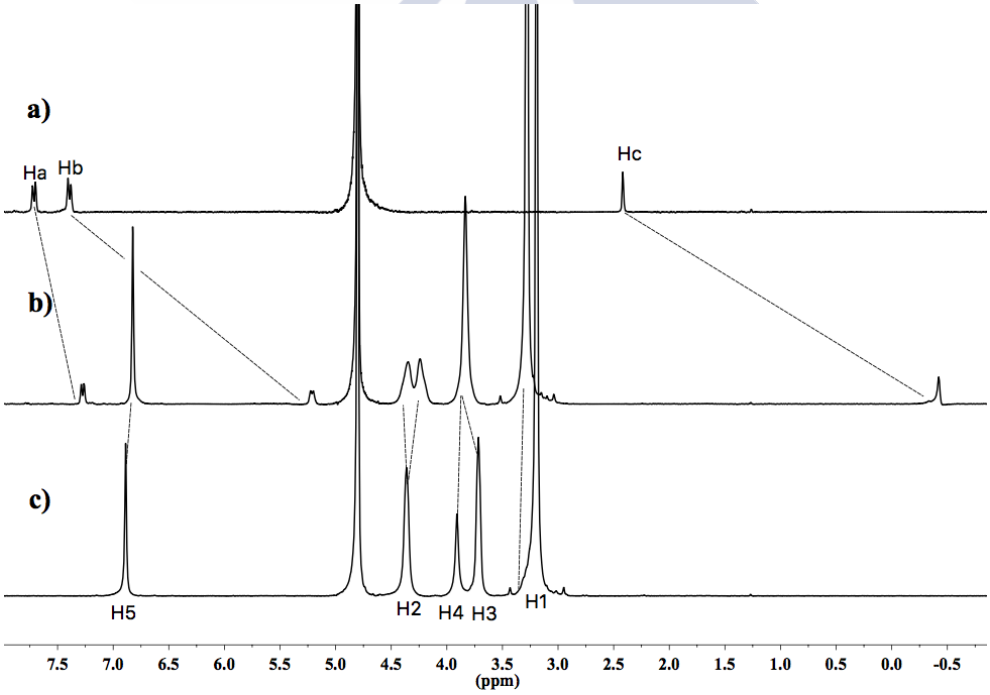


Figura 2.5. Espectros ^{1}H RMN (D_2O, 25 ºC, 300 MHz) de: a) **G** 2 mM; b) **H** 2 mM + **G** 2 mM y c) **H** 2 mM.

Cuando se añade 1 equivalente de **H** a una disolución 2 mM de **G**, se observa que las señales de **G**, especialmente las del grupo metilo (Hc) y las de los protones aromáticos más cercanos a éste (Hb) del espectro de ^{1}H RMN se desplazan marcadamente a campo alto (desplazamientos químicos menores) debido al efecto de las corrientes de los anillos aromáticos del pilarareno, resultando probablemente en la generación de interacciones C-H···π y π···π, ya que **H** va a poseer una cavidad rígida tridimensional rica en electrones π

(Figura 2.5). Sin embargo, este efecto es menos marcado para los protones aromáticos próximos al grupo sulfonato (Ha), lo que sugiere que éstos ya no están tan adentrados en la cavidad. Consecuentemente, sería razonable pensar que el grupo aniónico sulfonato del *guest* quedaría situado de tal forma que podría sufrir interacciones electrostáticas con los grupos catiónicos trimetilamonio del *host*, estabilizando así la formación del complejo de inclusión.[38,39]

También cabe comentar que las señales del huésped libre y complejado aparecen promediadas, indicando que el intercambio entre las dos especies es rápido en la escala de tiempo de RMN.

En cuanto a los protones del macrociclo, puede observarse que apenas sufren grandes modificaciones en cuanto al desplazamiento químico se refiere, pero es destacable el desdoblamiento de H2 (fenómeno que puede deberse probablemente a la estructura asimétrica de **G** y a la forma en la que se inserta en la cavidad del macrociclo, que resulta en la pérdida de la gran simetría que originalmente posee **H**) o el colapso de las señales correspondientes a los protones H3 y H4. Además, cabe destacar que, al contrario que todos los demás protones del sistema, los protones correspondientes a los grupos trimetilamonio del pilarareno (H1), y también los H3, sufren la variación del desplazamiento hacia campo bajo, en lugar de hacia campo alto. Este hecho, que también se observa en la complejación de **H** con otros *guests*,[26,27] puede entenderse teniendo en cuenta que, como se vio en el apartado anterior, si **H** tiene complejado aproximadamente la mitad de los BF_4^-, cuando compleje a **G**, el macrociclo pasará a recibir menos densidad de carga.

Para determinar la estequiometría del complejo se realizaron titulaciones de RMN manteniendo constante la concentración de **G** y variando la de **H**. Una forma cómoda y práctica de analizar estos sistemas es realizando una visualización gráfica de la tendencia que siguen los desplazamientos químicos de una señal concreta de la especie en función de la relación molar *host*/*guest*.

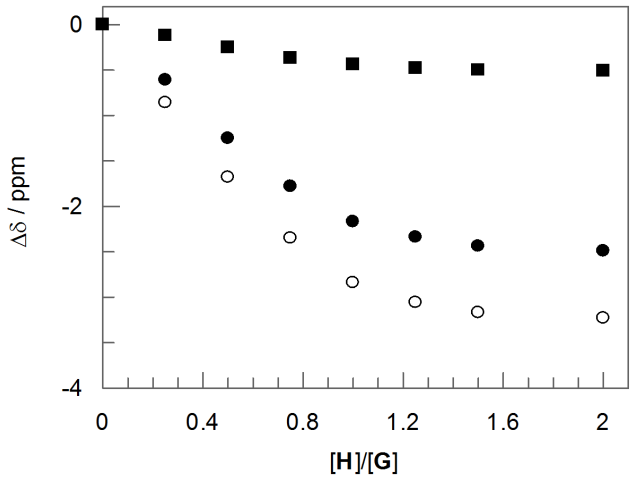


Figura 2.6. Representación gráfica de la variación del desplazamiento químico, Δδ (ppm), en función de la relación molar [**H**]/[**G**] para los protones Ha (■), Hb (•) y Hc (o).

En la Figura 2.6 se muestra la variación del desplazamiento químico ($\Delta\delta=\delta_{complejado}-\delta_{libre}$) de los protones de **G** con la adición gradual de **H**. Como puede verse, la tendencia de los protones del *guest* es moverse a campo alto hasta llegar a una relación molar igual a 1, a partir de la cual aparece una tendencia a mantenerse más o menos constante, lo que indica una estequiometría 1:1 para el sistema. Los protones con mayor Δδ son los del

grupo metilo (Hc) seguidos, por este orden, por los Hb y los Ha. Teniendo en cuenta que en estos tipos de sistemas los protones más afectados son los más adentrados en la cavidad del macrociclo, se puede prever cual será la estructura del sistema final.

Durante el curso de la investigación se percibió que en las mezclas **H**/**G** preparadas con cierta fracción molar de **G**, el espectro RMN de ^{1}H muestra la aparición de una nueva señal asignada a la posición 2 de **H** (Figura 2.5.b y 2.5.c). Para confirmarlo, se realizó un experimento 2D COSY (ver apéndice 2.5.2) en el que puede observarse una fuerte interacción COSY entre el nuevo pico y la señal de la posición 2 del macrociclo, indicando que son dos protones con un gran acoplamiento escalar. Así, las dos señales fueron identificadas como H2 y H2´y deben de corresponderse a los dos protones del grupo metileno H2. Estas observaciones llevan a la conclusión de que la formación del complejo cambia la conformación de al menos una (o más) de las 10 "cadenas" de **H**, de tal forma que la rotación dinámica de esa cadena sufre cierto grado de congelación que provoca la inequivalencia de los 2 protones metilénicos.

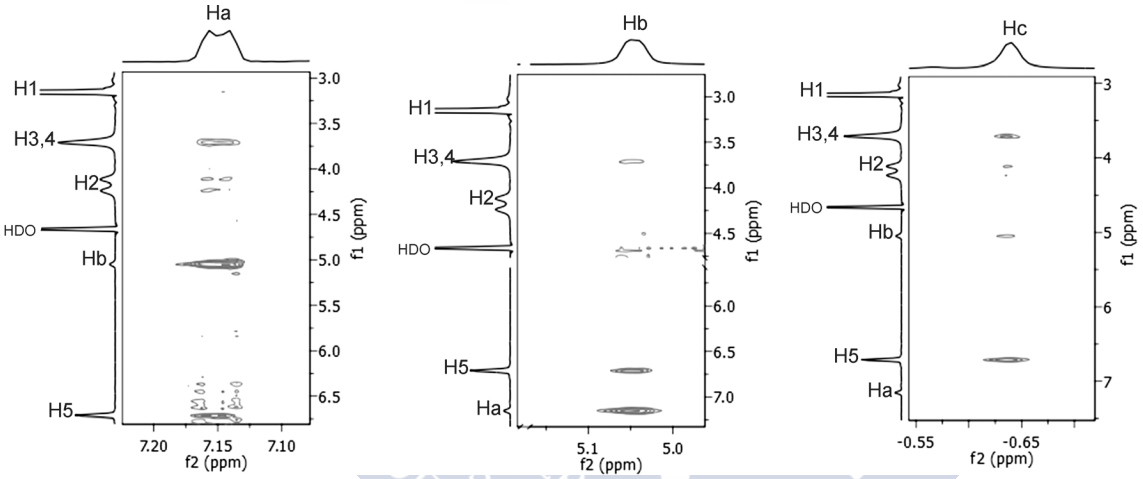


Figura 2.7. Parte de los espectros 2D NOESYs obtenidos para una disolución de **H** (3mM) + **G** (3mM) (D_2O, 25 ºC, tiempo de mezcla = 500 ms).

Para apoyar y confirmar la información obtenida de las titulaciones de ^{1}H RMN se realizaron experimentos 2D NOESYs (Figura 2.7). Como puede verse, todos los protones de **G** muestran correlación con los protones H3, H4 y H5 del pilarareno, pero no así con los correspondientes a los grupos trimetilamonio (H1), indicando que **G** debería estar bien incluído en la cavidad de **H**. Además, la interacción entre los protones Hc y H5 es más fuerte que la que se da entre Hc y H3,4 o entre Hc y H2, indicando que los protones del grupo metilo de **G** están más próximos a los protones aromáticos que a los de los grupos trimetilamonio de **H**. De esta forma, puede decirse que los resultados de los experimentos NOESY coinciden y confirman la asignación estructural que se había hecho basándose en las variaciones de los desplazamientos químicos obtenidas por las titulaciones de ^{1}H RMN.

2.3.2.2 ESTUDIO POR ITC

Para investigar el origen termodinámico de la formación del complejo **H**:**G** se recurrió a la técnica de ITC. Desde un punto de vista histórico, la calorimetría ha proporcionado la primera información sobre las características de la energía transferida a través del calor.

Gran parte de los resultados empíricos obtenidos por calorimetría han sido la base para la formulación de principios y axiomas termodinámicos y calorimétricos.

La valoración calorimétrica isotérmica (en inglés, *Isothermal Titration Calorimetry*, ITC) es una técnica termodinámica utilizada como herramienta analítica para la determinación de la afinidad de enlace entre dos biomoléculas, tanto en procesos termodinámicos como biológicos.[40] En dicha técnica se mide directamente el calor que se absorbe o libera en cualquier proceso de interacción, el cual, a presión constante, equivale a la entalpía de éste. Si el efecto térmico y la magnitud de la constante de unión son lo suficientemente grandes, se pueden determinar parámetros tales como la constante de equilibrio de asociación, K, el cambio de entalpía de unión, ΔH, así como la estequiometría de la reacción, N. Como consecuencia, también se pueden calcular la energía de Gibbs y la entropía de formación del complejo (ΔG y ΔS).

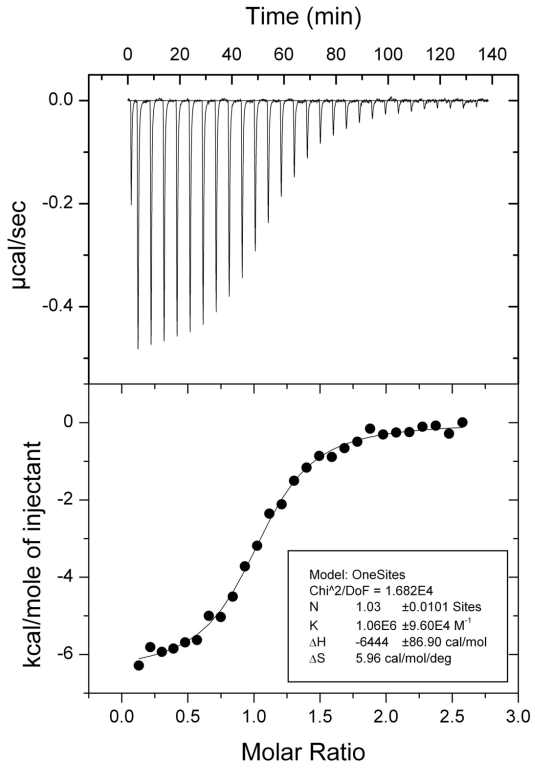


Figura 2.8. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **G** (0.3 mM) sobre una disolución de **H** (0.02 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

En la Figura 2.8 se muestra el resultado del experimento cuando a 1459 µL de una disolución 0.02 mM de **H** se le añadieron 270 µL de una disolución 0.3 mM de **G** (añadidos gradualmente, 10 µL cada 5 minutos). El calor de reacción va disminuyendo después de cada inyección de **G** ya que cada vez menos moléculas de **H** están disponibles para formar complejos de inclusión. Puede comprobarse que la isoterma de unión se ajusta perfectamente al modelo de complejación 1:1, lo que permite obtener simultáneamente tanto la constante de asociación como los diferentes parámetros termodinámicos. Los resultados indican que la formación del complejo está dirigida principalmente por factores entálpicos (ΔH^o = (-27.6±0.1) kJ mol^{-1}) atribuídos a las interacciones no covalentes entre especies (electrostáticas, π-π, C-H···π) acompañada a la vez de cambios entrópicos también favorables ($T\Delta S^o$ = (6.7±0.1) kJ mol^{-1}) que tienen

que ver principalmente con los efectos de desolvatación y los cambios estructurales que tienen lugar cuando se forma el complejo de inclusión.[21] Además, la constante de asociación obtenida (K = 1.06±0.1) × 10^6 M^{-1} constituye uno de los valores más altos obtenidos hasta el momento en la complejación de *guests* por pilar[5]arenos solubles en agua.

2.3.2.3 INFLUENCIA DEL CONTRAIÓN

Como se demostró anteriormente, existen evidencias de que **H** tiene capacidad para complejar los contraiones BF_4^-. Dado la naturaleza catiónica del macrociclo, el BF_4^- (u otros contraiones) van a estar siempre presentes en disolución y, en presencia de otros *guests*, pueden introducir en el sistema equilibrios competitivos de complejación. Este aspecto debería tenerse muy en cuenta ya que la mayoría de estudios sobre sistemas *host-guest* se hacen variando la concentración de *host* o en presencia de disoluciones tampón, introduciendo así grandes cantidades de iones al medio.

Si **H** compleja aniones BF_4^-, existirá una competencia entre **G** y los contraiones que debe ser considerada. Como resultado, las constantes de complejación deberían estar afectadas por la concentración de **H**, por lo que puede ser de gran interés evaluar dicho efecto.

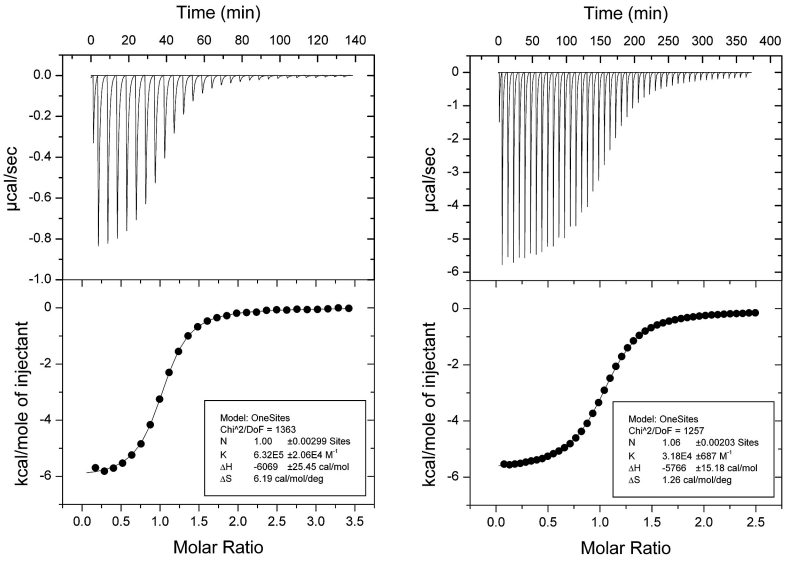


Figura 2.9. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **G** (1 mM) y (15 mM) sobre una disolución de **H** (0.05 mM, izquierda) y (1mM, derecha). Entalpogramas (abajo) obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

Para comprobarlo, se realizaron una serie de experimentos de ITC utilizando la metodología descrita anteriormente, a diferentes concentraciones de **H**. A modo de ejemplo, en la Figura 2.9 se muestran los resultados obtenidos para una concentración de

H 0.05 mM (izquierda) y 1 mM (derecha) a los que se le añadieron, respectivamente, disoluciones de **G** 1 mM y 15 mM.

En la Figura 2.10 se muestra una representación gráfica de los resultados obtenidos para toda la serie de experimentos de ITC en función de la concentración de pilarareno. Tal y como se puede observar, el valor para la constante de complejación se mueve en un rango de 1.37×10^6 M^{-1} a 3.18×10^4 M^{-1} cuando la concentración de **H** varía desde 0.01 mM hasta 1 mM, o lo que es lo mismo, K decrece más de 40 veces cuando la concentración de **H** se aumenta desde 0.01 mM a 1 mM (100 veces). Este hecho confirma la hipótesis inicial de que el contraión BF_4^- compite con **G** por introducirse en la cavidad del macrociclo y, además, pone de manifiesto que los experimentos para obtener las constantes de complejación deberían realizarse a una concentración constante de *host*.

Para confirmar los resultados anteriores y, además, intentar comprender mejor el papel que juega el anión BF_4^- en la complejación de **G** por **H**, se realizaron experimentos de ITC para determinar la influencia de la concentración del BF_4^- en las constantes de complejación.

En esta serie de experimentos, se mantuvo constante la concentración de **H** (0.02 mM en la celda de muestra) y la de **G** (0.25 mM en la jeringa de inyección) y se fueron añadiendo, para cada experimento, mayores cantidades de anión BF_4^- (tanto en la disolución de *host* como en la de *guest*) de tal forma que la concentración de aniones fuese la misma en ambas disoluciones. La intención de este experimento fue obtener calores de reacción del proceso que no estuviesen afectados en ningún momento por los aniones tetrafluoroborato, de forma que si **H** sólo complejase moléculas de **G**, la constante del proceso debería de permanecer idéntica en todos los experimentos.

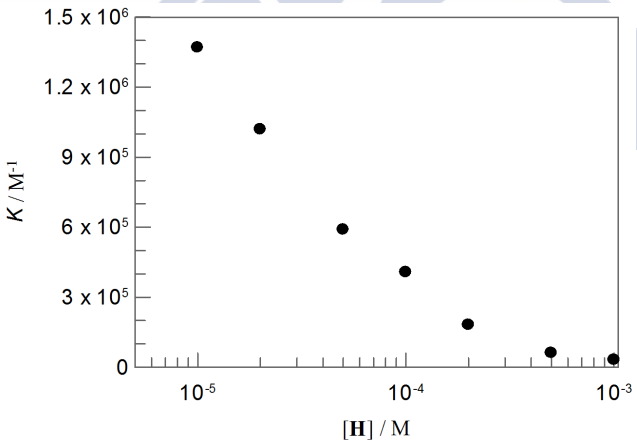


Figura 2.10. Influencia de la concentración de **H** en la constante de equilibrio para la formación de complejos entre **G** y **H** en agua a 25 ºC. Los valores de K se obtuvieron por valoración microcalorimétrica y se ajustaron al modelo "*one set of binding sites*".

Teniendo en cuenta, según la estequiometría 1:10 del pilarareno estudiado, que una disolución de **H** 0.02 mM aporta una concentración 0.2 mM de aniones BF_4^-, en la Tabla 2.1 se muestran las concentraciones de anión añadidas por experimento, así como los valores de la constante de complejación y los parámetros termodinámicos obtenidos por ajustes al modelo de complejación 1:1 "*one set of binding sites*". Como puede observarse, y de acuerdo con los resultados anteriores, la concentración de BF_4^- tiene un efecto muy pronunciado en la constante de complejación de **G** por **H**. La constante disminuye desde 1.06×10^6 M^{-1}, en ausencia de sal, hasta 2.8×10^4 M^{-1} en presencia de 12 mM de KBF_4. Los resultados también muestran un cambio notable en los parámetros termodinámicos cuando se aumenta la concentración de sal externa. Una diferencia aproximada de 0.61

$\times 10^4$ J mol^{-1} para el término entálpico (probablemente relacionada con la menor disponibilidad de **H** libre para poder complejar) y de -3.52×10^3 J mol^{-1} para el término entrópico (que podría atribuirse a la pérdida de libertad conformacional del complejo en presencia de altas concentraciones de sal) se observó con el aumento de la concentración de BF_4^-.

Tabla 2.1. Constantes de complejación y parámetros termodinámicos determinadas por valoración microcalorimétrica de **G** (0.25 mM) con **H** (0.02 mM) en agua a 25 ºC en función de diferentes concentraciones de BF_4^- adicionadas. El valor de la constante se obtuvo por ajuste de los resultados al modelo "*one set of binding sites*".

$[BF_4^-]_{ad}$ Jeringa (M)	$[BF_4^-]_{ad}$ Celda (M)	K ($\times10^{-5}$ M^{-1})	ΔH ($\times10^{-4}$ J mol^{-1})	-TΔS ($\times10^{-3}$ J mol^{-1})
0	0	10.6±0.1	-2.76±0.04	7.44
4×10^{-4}	0.2×10^{-4}	6.15±0.1	-2.64±0.04	6.69
6×10^{-4}	0.4×10^{-4}	4.46±0.1	-2.55±0.02	6.61
1×10^{-3}	0.8×10^{-4}	3.00±0.1	-2.49±0.03	6.37
1.8×10^{-3}	1.6×10^{-3}	1.89±0.1	-2.42±0.06	5.94
3.4×10^{-3}	3.2×10^{-3}	0.99±0.01	-2.30±0.1	5.53
6×10^{-3}	5.8×10^{-3}	0.60±0.01	-2.27±0.02	3.57
12×10^{-3}	11.8×10^{-3}	0.28±0.009	-2.15±0.02	3.92

2.3.3 INTERCAMBIO DEL CONTRAIÓN: EVIDENCIAS DE OTRAS ESTEQUIOMETRÍAS

Los resultados obtenidos confirman que las constantes de complejación dependen fuertemente tanto de la concentración de pilarareno como de la presencia de aniones BF_4^- añadidos al medio. Sin embargo, en la bibliografía, no sólo muchos de los estudios sobre sistemas *host-guest* se hacen variando la concentración de macrociclo o en presencia de disoluciones tampón (que suponen una fuente adicional de iones),[39,41,42] sino que la total caracterización de la inclusión de los *guests* en diferentes macrociclos apoyada en parámetros termodinámicos se realiza bajo estas particulares condiciones, mientras que, en los estudios en ausencia de disoluciones tampón, la complejación de los contraiones es un aspecto que no se tiene en cuenta.[27,43] No obstante, el decaimiento que se observa en la constante de asociación del complejo **H**:**G** con el incremento de la concentración de BF_4^- sugiere que para obtener la constante real del proceso debería de considerarse un modelo de intercambio iónico en el que, además, más de un contraión puede acomodarse en la cavidad del macrociclo. Para chequear esta posibilidad se realizaron experimentos de DOSY de ^{1}H y de ^{19}F, los cuales se obtuvieron de forma independiente tal y como se describe en el método experimental de este capítulo, variando parámetros como la duración del gradiente de campo pulsado (δ) para codificar y descodificar la difusión o el tiempo de difusión (Δ) con el fin de obtener la mayor precisión posible a la hora de determinar los coeficientes de difusión (D), considerada aquella con la cual la intensidad de señal de RMN decae hasta aproximadamente el 5% de su valor en ausencia de gradiente de campo.

La Figura 2.11 muestra el coeficiente de difusión observado (D_{obs}) en muestras de concentración constante de **H** a las que se les fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **G**. Como era de esperar, el coeficiente de difusión del BF_4^- aumenta con la adición de **G** como consecuencia de su expulsión al medio acuoso, sin embargo, el análisis de los datos (Tabla 2.2) muestra que aun habiendo un gran exceso de **G**, el D_{obs} no llega a alcanzar el valor de la especie libre en agua de tal forma que una parte de los contraiones, aproximadamente el 30 %, siguen permaneciendo en la cavidad del macrociclo. Por lo tanto, puede decirse que cuando se mezclan **H** y **G**, lo que se tiene en realidad es un complejo ternario.

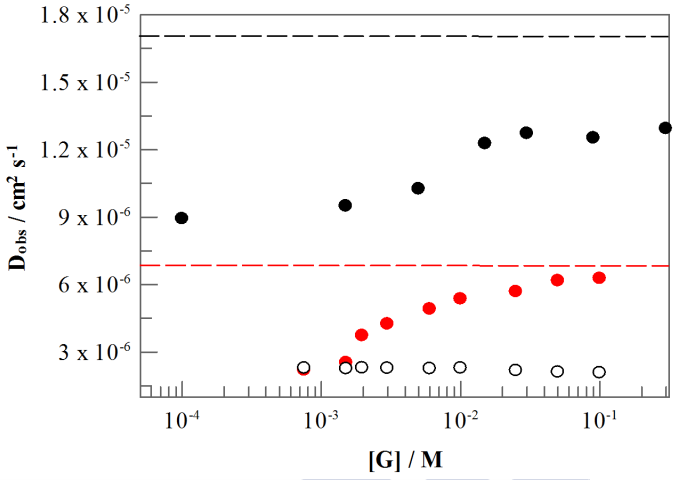


Figura 2.11. Coeficientes de difusión observados en disoluciones de 1.5 mM de **H** (o) y sus contraiones BF_4^- (•) en función de **G** (•) en D_2O a 25 ºC. Las líneas discontinuas negra y roja representan los coeficientes de difusión del contraión libre y del toluensulfonato libre en disolución acuosa, respectivamente.

Al analizar los resultados obtenidos para **G**, puede verse que su coeficiente de difusión coincide con el del macrociclo hasta una relación molar de 1, tal y como se espera en un complejo de inclusión. Sin embargo, a simple vista parece demasiado el exceso de **G** a añadir necesario para alcanzar el valor de la especie libre (6.40×10^{-6} cm^2 s^{-1}). Analizando los resultados de manera cuantitativa puede concluirse que más de una molécula de **G** está siendo complejada por **H**. Como puede verse en la Tabla 2.3, y de acuerdo con los resultados previos obtenidos por ITC y por RMN, a bajas relaciones molares **G**/**H**, sólo una molécula de **G** forma parte del complejo de inclusión, pero a mayores concentraciones de **G**, los resultados indican que aproximadamente 2 moléculas de **G** son complejadas por el pilarareno. Además, del experimento también puede concluirse que cada molécula de **G** que es complejada desplaza un contraión al medio, confirmando la teoría del intercambio iónico que tiene lugar en el proceso de complejación de **G** por **H**.

Tabla 2.2. Coeficientes de difusión observados para el contraión BF_4^- tras la adición de diferentes concentraciones G. La fracción molar de contraión complejado se calculó conforme la ecuación (2.3). Error máximo del 5%.

$[BF_4^-]$ (M)	[G] (M)	$(D^{H}_{BF_4})_{obs}$ ($\times10^5$ cm^2 s^{-1})	$\chi^{asoc}_{BF_4}$
1.5×10^{-2}	1×10^{-4}	0.893±0.03	0.54
1.5×10^{-2}	1.5×10^{-3}	0.950±0.03	0.50
1.5×10^{-2}	5×10^{-3}	1.03±0.01	0.45
1.5×10^{-2}	1.5×10^{-2}	1.23±0.04	0.31
1.5×10^{-2}	3×10^{-2}	1.27±0.1	0.28
1.5×10^{-2}	9×10^{-2}	1.27±0.09	0.28
1.5×10^{-2}	3×10^{-1}	1.29±0.1	0.27

Tabla 2.3. Coeficientes de difusión observados para **G** y **H**$^-$ tras la adición de diferentes concentraciones de **G** a una disolución de **H** 1.5 mM. La fracción molar de **G** complejado se calculó conforme la ecuación (2.3). Error máximo del 5%.

[G] (M)	D_H^G ($\times 10^6$ cm^2 s^{-1})	D_H^H ($\times 10^6$ cm^2 s^{-1})	χ_G^{asoc}	N_G^{asoc}
7.5×10^{-4}	2.20±0.1	2.29±0.01	1	0.5
1.5×10^{-3}	2.53±0.1	2.27±0.01	0.93	0.93
2×10^{-3}	3.73±0.1	2.30±0.01	0.65	0.87
3×10^{-3}	4.25±0.1	2.28±0.01	0.52	1.04
6×10^{-3}	4.91±0.02	2.26±0.01	0.36	1.44
1×10^{-2}	5.36±0.02	2.29±0.01	0.25	1.67
2.5×10^{-2}	5.68 ±0.01	2.18±0.01	0.17	2.83
5×10^{-2}	6.17±0.01	2.11±0.01	0.054	1.8
1×10^{-1}	6.27±0.01	2.08±0.01	0.030	2

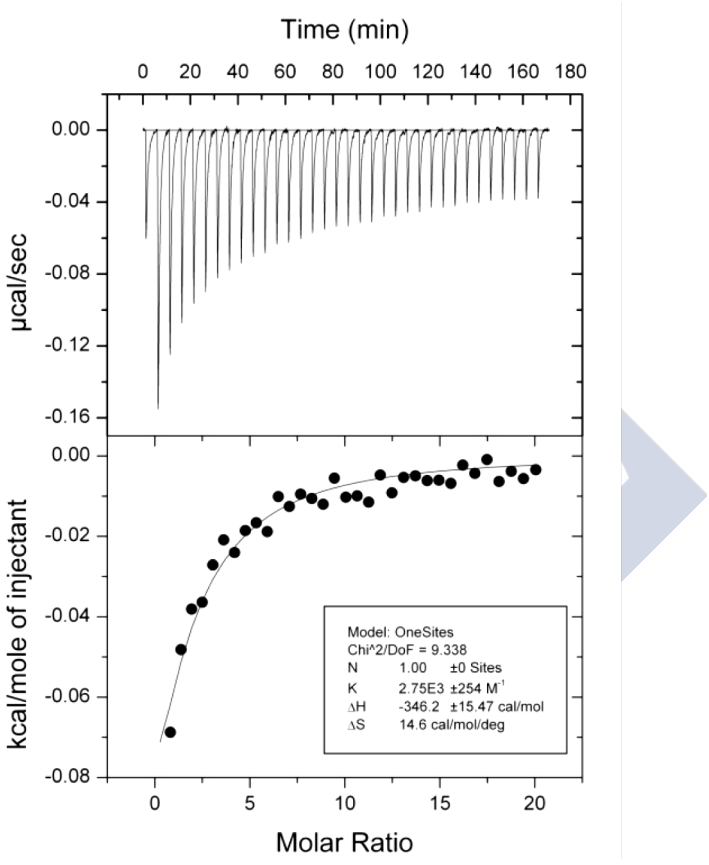


Figura 2.12. Valoración microcalorimétrica de **H**+**G** con **G** en agua a 25 ºC. Resultados para 34 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de **G** (10 mM) sobre una disolución de **H**+**G** (0.1 mM +0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

En un intento por terminar de elucidar la estructura real del sistema, se llevaron a cabo experimentos que pudiesen confirmar la estequiometría 1:2 para el complejo formado entre **G** y **H**. Dado que en los experimentos previos de ITC no pudo detectarse un calor de reacción significativo asociado a la interacción intermolecular de una segunda molécula de *guest* con el macrociclo y con el objetivo de obtener información solo del complejo 1:2, se decidió realizar una titulación en la cual la celda de reacción se llenó con una disolución de **H** y **G** en relación 1:2 a la que se le fue añadiendo sucesivamente mayor cantidad de **G**, de tal forma que bajo dichas condiciones menos del 2% del *host* estará libre de moléculas de **G** y el calor de reacción obtenido durante el experimento solo

pueda atribuirse a la complejación de una segunda molécula de **G** por **H**. Los resultados obtenidos (Figura 2.12) muestran un constante de asociación para la segunda molécula de **G** de $K_{1:2}$ = (2.75±0.2) × 10^3 M^{-1}, más de 100 veces menor que para la complejación de la primera molécula. Además, el cambio entálpico determinado, $\Delta H_{1:2}$ = (-1.45±0.1) × 10^3 J mol^{-1}, es también menor que el obtenido para la formación de complejo 1:1 y explica los buenos ajustes obtenidos al modelo 1:1 en los experimentos previos.

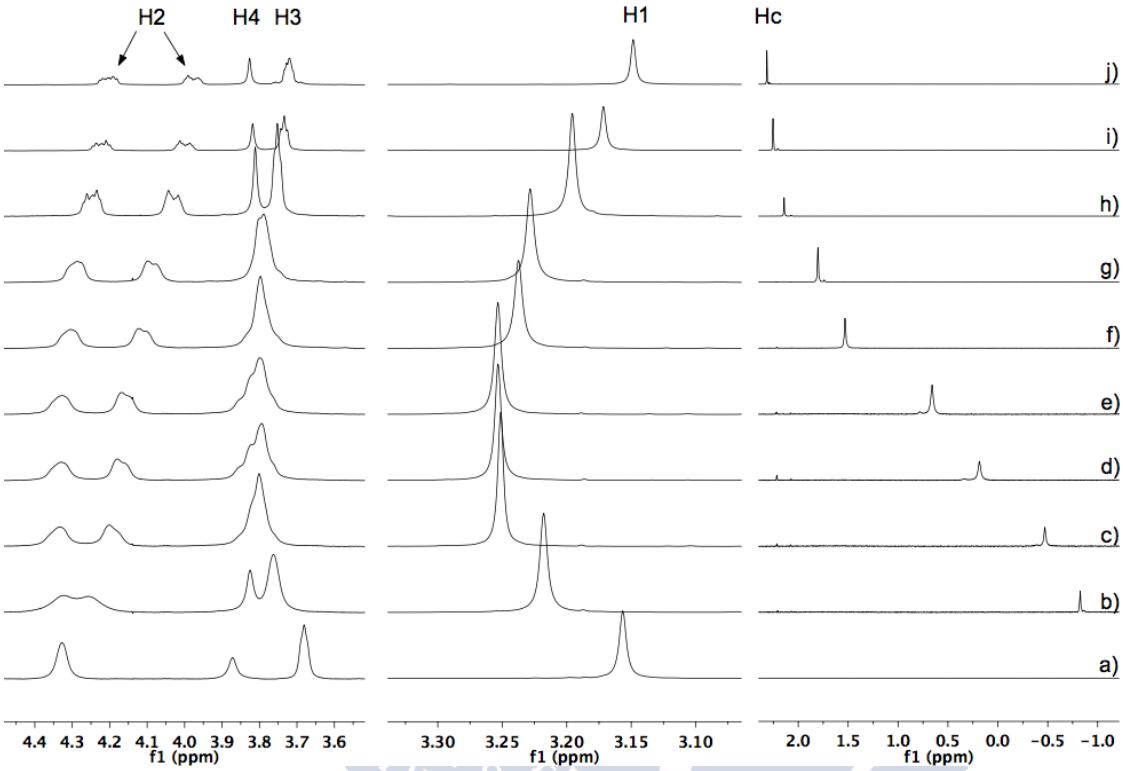


Figura 2.13. Parte de los espectros de RMN de ^{1}H de **H** (1.5 mM) con a) 0, b) 0.75, c) 1.5, d) 2, e) 3, f) 6, g) 10, h) 25, i) 50 y j) 100 mM de **G** en D_2O a 25 ºC.

Para confirmar la estequiometría 1:2 y obtener información adicional sobre la posición que ocupa la segunda molécula de **G**, también se llevó a cabo una nueva titulación por RMN de ^{1}H en la que se mantuvo constante la concentración de **H** y se varió la de **G** hasta alcanzar un gran exceso de éste. Como puede verse en la Figura 2.13, los protones del macrociclo siguen dos comportamientos diferentes, siendo especialmente relevante la tendencia que siguen los protones H1 correspondientes a los grupos trimetilamonio. A relaciones molares menores que 1, los protones H1 se mueven a desplazamientos químicos mayores (hacia campo bajo) pero, a mayores concentraciones de **G**, la señal retrocede nuevamente hacia desplazamientos químicos menores. Este no es un comportamiento trivial, sino que es típico de cuando se forman complejos con estequiometrías diferentes a la 1:1.[44] Como se vio por experimentos de difusión, estos movimientos en las señales del host pueden explicarse considerando el intercambio del contraión BF_4^- por **G** que tiene lugar cerca de los grupos funcionales del macrociclo. El ajuste de los desplazamientos químicos de los protones H1 a un modelo de complejación 1:2 se muestra en la Figura 2.14 y, como puede observarse, los datos experimentales obtenidos reproducen excelentemente dicho modelo (ver apéndice 2.5.3). Además, la constante de asociación aparente obtenida para el complejo 1:1, $K_{1:1}$ = (25000±800) M^{-1}, coincide con los resultados de ITC obtenidos en el rango de concentraciones de **H** estudiado, mientras que para la complejación de la segunda molécula de **G** se obtuvo una $K_{1:2}$ = (30±2) M^{-1} que, comparando con los valores obtenidos por ITC, también sigue la

misma tendencia que para $K_{1:1,}$ pues debe tenerse en cuenta que los experimentos de ITC se realizan a concentraciones de **H** inferiores a las utilizadas en RMN (la $K_{1:2}$ decrece con el aumento de la concentración de **H**).

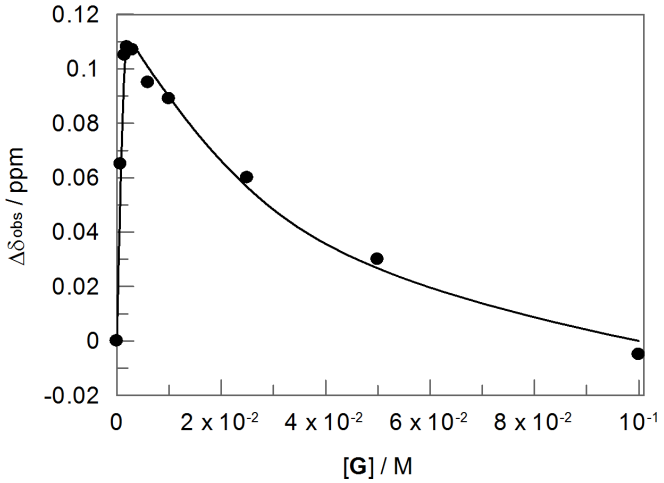


Figura 2.14. Cambios observados en los desplazamientos químicos ($\Delta\delta_{obs}$) de los protones correspondientes a los grupos trimetilamonio de **H** en función de la concentración de **G** en D_2O a 25 ºC ([**H**]=1.5 mM y [**G**]= 0-100 mM). La línea representa el mejor ajuste a un modelo de complejación 1:2.

Para finalizar la caracterización del complejo se realizaron experimentos de diferencia de transferencia de saturación (STD). La espectroscopía STD es un método ampliamente utilizado tanto para detectar el enlace entre un ligando y un receptor macromolecular como para la determinación de la asociación del ligando epítopo.[45–47] Para poder realizar este tipo de experimentos deben de cumplirse dos condiciones: 1) la molécula receptora debe ser lo suficientemente grande como para estar en régimen NOE negativo y 2) el ligando debe interactuar de manera cinéticamente favorable. Generalmente, los experimentos de STD requieren de afinidades de enlace moderadas, esto es, que las constantes de equilibrio de disociación (K_d) se muevan en el rango de μM a mM.

Así, se realizaron experimentos de STD para obtener información estructural en los complejos formados entre **H** y **G** con estequiometría 1:1 (mezclas de **H** y **G** en relación molar igual a 1) y 1:2 (mezclas de **H** y **G** en relación molar **H**/**G**=1:66, en las cuales el complejo $\mathbf{HG_2}$ predomina sobre el **HG**). Aunque los experimentos NOESY preliminares realizados a mezclas de **H** y **G** (Figura 2.7) mostraron que los NOEs intermoleculares a 25 ºC están ya en régimen negativo, los espectros STD se realizaron a baja temperatura (5 ºC) y al mayor campo magnético disponible (17,6 T) para mejorar dicho régimen. Los espectros STD obtenidos para los complejos **HG** y $\mathbf{HG_2}$ por irradiación de las señales de **G** (Hc o Hb) a diferentes tiempos de saturación se muestran en la Figura 2.15 (ver también apéndice 2.5.4).

Para la muestra correspondiente al complejo 1:1 (Figura 2.15 a)) los espectros STD muestran que al menor tiempo de saturación (1 segundo), sólo es importante el STD Hc-Harom, cuya intensidad aumenta con el tiempo de saturación. Aunque también se pueden observar otros STDs intermoleculares, son de intensidad mucho menor y más débiles con un segundo de saturación. En los espectros de la Figura 2.15 a) también pueden observarse dos STDs intramoleculares, uno relativamente débil (Hc-Hb) y otro más fuerte (Hc-Ha), cuyas intensidades son opuestas a las esperadas por las correspondientes distancias interproton en **G**, indicando que están afectadas por difusión de espín. Además, la intensidad del STD Hc-Harom que se da al menor tiempo de saturación es la única que puede ser identificada como parte del enlace epítopo, por lo que puede decirse que este

experimento STD es compatible con un modelo de complejación en el cual **G** está bien insertado en la cavidad de **H** (Esquema 2.3).

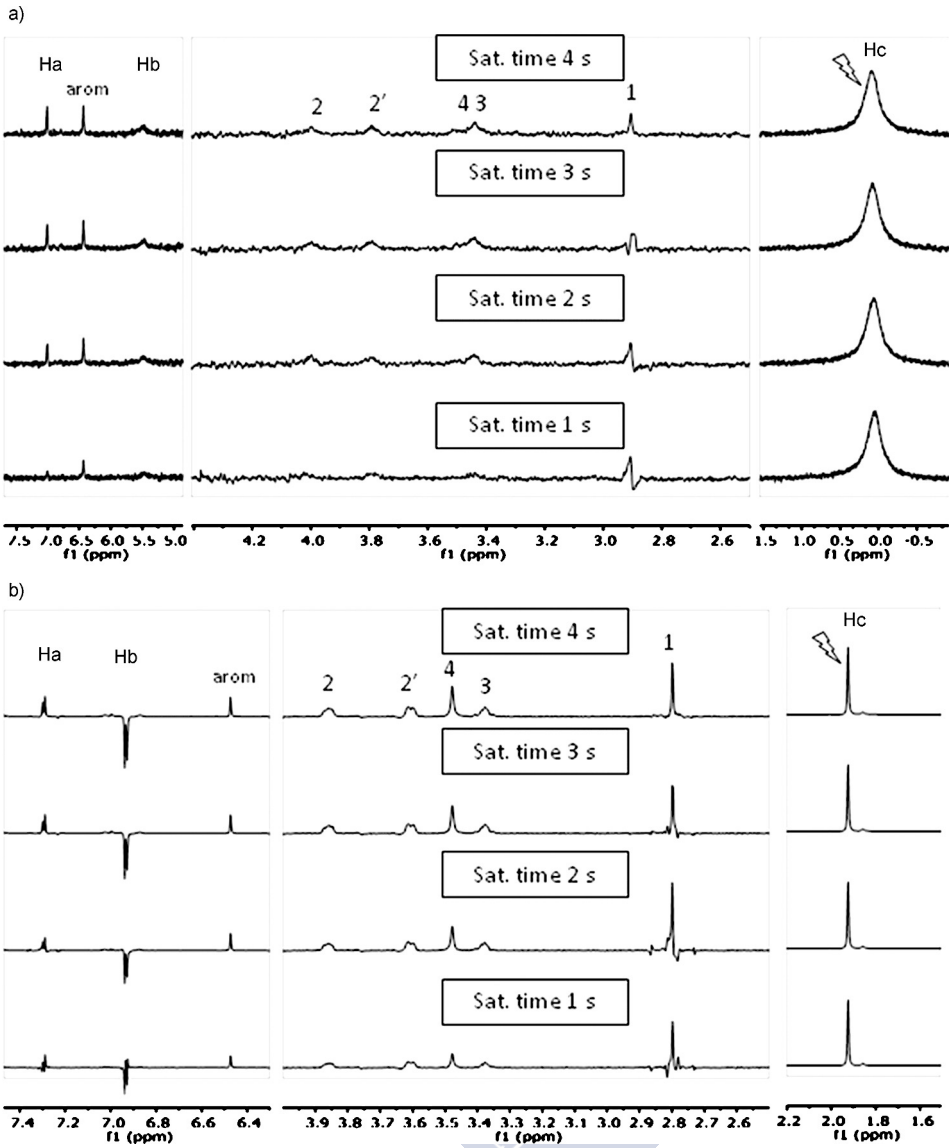
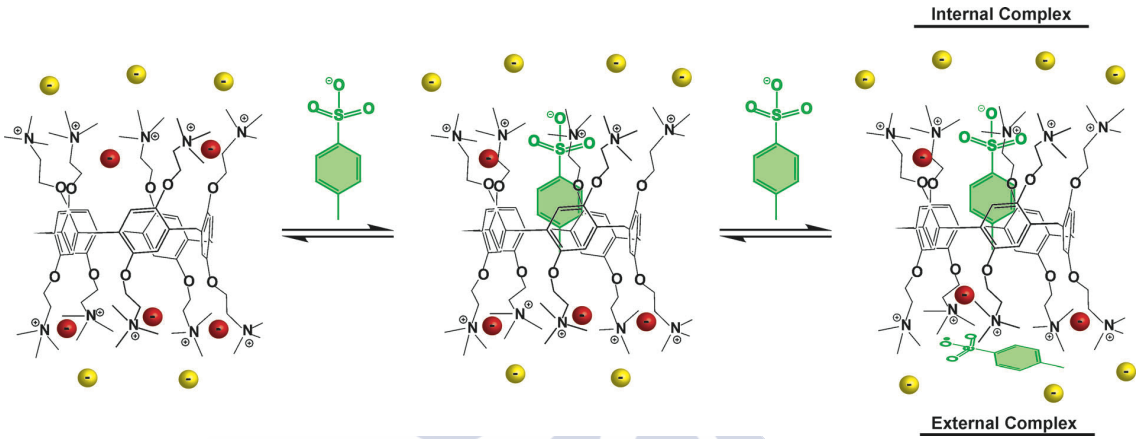


Figura 2.15. Espectros $STD_{on\text{-}off}$ obtenidos a partir de la saturación de la señal Hc de **G**. a) Disolución que contiene **H** y **G** en relación molar 1:1. b) Disolución que contiene **H** y **G** en relación molar 1:66.

En la Figura 2.15 b) se muestran los espectros STD obtenidos para el complejo 1:2 por irradiación de la señal Hc. Como puede observarse, a diferencia de lo observado anteriormente, para el complejo $\mathbf{HG_2}$ hay diferentes STDs intermoleculares con intensidades significativas obtenidas con un segundo de saturación. Uno de ellos es el STD Hc-Harom y el resto son los que tienen que ver con los protones de las cadenas del pilarareno: STD Hc-H2, STD Hc-H2´, STD Hc-H4, STD Hc-H3 y STD Hc-H1. También pueden observarse 2 STDs intramoleculares, STD Hc-Ha y STD Hc-Hb, aunque ambos con una intensidad despreciable al menor tiempo de saturación. El STD Hc-Hb muestra una intensidad negativa que aumenta con el tiempo de saturación (resultado esperable debido a la gran cantidad de moléculas de **G** libre existentes en la muestra). El STD Hc-Ha, de intensidad positiva, también aumenta con el tiempo de saturación y tiene que ver con el proceso NOE de difusión de espín relacionado con los protones Hb. De los STDs intermoleculares, como se comentó para el caso del complejo **HG**, el STD Hc-Harom es compatible con una estructura en la cual la primera molécula de **G** se sitúa en la cavidad

de **H**. La interpretación del resto de STDs intermoleculares requieren que tenga lugar una proximidad espacial entre Hc y los protones de las cadenas del macrociclo, especialmente el STD Hc-H1, que nos indica proximidad de **G** a los grupos trimetilamonio de **H**. Así, la interpretación más pausible de este experimento sería considerar que la segunda molécula de **G** se compleja externamente a la cavidad de **H**. En la estructura energéticamente más favorable, esa segunda molécula de **G** está en contacto con las cadenas de **H** del portal opuesto por el que se compleja la primera molécula de **G**, de forma que se disminuya la repulsión entre cargas. De acuerdo a estos resultados, en el complejo $\mathbf{HG_2}$ tiene lugar tanto una complejación interna como externa.



Esquema 2.3

De esta forma, se propone un modelo de complejación ternario *host-guest*-contraión con estequiometría 1:2:3, en el cual una molécula de **G** está incluída dentro de la cavidad del pilararenо junto con los contraiones BF_4^- (que permanecen dentro de **H**), mientras que la segunda molécula de **G** forma un complejo externo con **H** (Esquema 2.3). En consecuencia, puede decirse que el pilar[5]areno no forma complejos a través de una asociación sencilla. Aunque este trabajo se ha centrado en un macrociclo concreto, el comportamiento observado podría extrapolarse a otros pilararenos sobubles en agua que contengan contraiones. Además, debido a que los pilararenos poseen dos portales funcionales, existe la posibilidad de la complejación externa de un *guest* (la cual puede pasarse por alto dependiendo de la técnica utilizada en el análisis). Combinando las observaciones obtenidas por espectroscopía de RMN de ^{1}H, para las cuales se necesitan emplear diferentes modelos con el fin de ajustar los desplazamientos químicos de los protones del *host* y del *guest*, así como de los datos obtenidos por ITC, a partir de los cuales se obtuvieron valores de K_{obs} y ΔH^o muy distintos para los complejos 1:1 y 1:2, se concluye que la complejación de la segunda molécula de **G** por **H** debe de ser más externa que en el caso de la primera molécula.

2.4 CONCLUSIONES

Los pilar[5]arenos solubles en agua, así como otros *hosts* iónicos, tienen la habilidad de enlazarse a sus propios contraiones, afectando así a su carga neta y modificando su capacidad para formar complejos de inclusión con *guests* iónicos. El aumento de la concentración de **H** (o de la de su contraión BF_4^-) en disolución produce una disminución de la constante de asociación para la formación del complejo entre **H** y **G** como consecuencia de la complejación de los contraiones BF_4^- por el pilarareno, que obstruyen la entrada del *guest* así como modifican la carga neta del *host*. Debido a que el BF_4^- va a estar siempre presente en disolución como contraión de **H**, los experimentos deberían de ser realizados manteniendo la concentración de **H** constante y, además, con el fin de determinar las constantes de asociación verdaderas, también debería de considerarse un esquema de complejación que tenga en cuenta el intercambio iónico. Los experimentos de difusión mostraron que una cierta fracción de los contraiones permanece en la cavidad de **H** durante la inclusión de **G**, lo que indica la formación de un complejo entre 3 tipos de especies: **G**, **H** y BF_4^-. Además, a altas relaciones molares **G**/**H**, el pilar[5]areno no sólo forma un complejo estable 1:1, sino que también puede complejar una molécula huésped externamente para formar un complejo con estequiometría 1:2. Estas nuevas observaciones permiten obtener una mejor comprensión de la química *host-guest* de los pilararenos que podría aplicarse al diseño de nuevos sistemas supramoleculares.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.5 APÉNDICE

2.5.1 Síntesis y Caracterización de H

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible, y usados sin purificaciones posteriores.

Las reacciones con compuestos o mezclas sensibles al oxígeno o a la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de Argón desoxigenado y seco. Los matraces utilizados para dichas reacciones se secaron en estufa a 150 ºC al menos durante 12 horas y luego se flamearon y enfriaron bajo corriente de argón.

Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H y 75 MHz para ^{13}C) haciendo uso de disolventes deuterados ($CDCl_3$ y D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente. $CDCl_3$: 7.26 ppm (^{1}H) y 77.16 ppm (^{13}C). D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova (MestReLab Research Inc.).

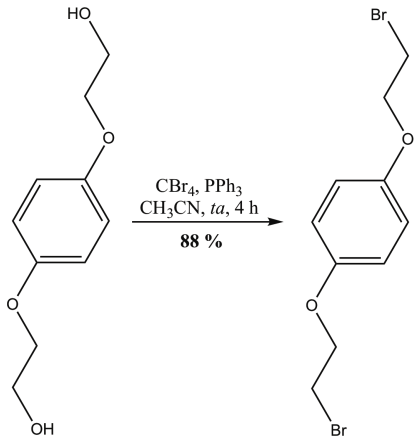
Los espectros de masas de ionización por electrospray, ESI-MS (modo positivo), de alta resolución se realizaron en un espectrómetro Bruker Amazon ETD con analizador tipo trampa iónica.

La difracción de Rayos X se llevó a cabo en un difractómetro de monocristal Bruker X8 Kappa APEXII a baja temperatura (100 K).

La termogravimetría se realizó, por duplicado, a muestras de 4.5 miligramos del compuesto **H** en un termogravímetro TGA Q5000.

Las técnicas de espectrometría de masas y difracción de Rayos X se llevaron a cabo en el Centro de Apoyo Científico y Tecnológico de la Universidad de Santiago de Compostela (CACTUS).

Para la síntesis del tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) se siguió una versión modificada del método descrito por el grupo de Feihe Huang.[15]



1 **2**

Se preparó una disolución de 1,4-bis(2-hidroxietoxi)benceno (1) (10.0 g, 50.5 mmol) y trifenilfosfina (31.5 g, 120 mmol) en 250 mL de acetonitrilo seco. La disolución resultante se enfrió a 0 ºC y se trató con tetrabromuro de carbono (39.8 g, 120 mmol), que fue añadido en pequeñas porciones. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas más y posteriormente se añadieron 200 mL de agua fría. El sólido blanco resultante se filtró en placa, se lavó con una mezcla metanol/agua (60:40) y finalmente se secó en línea de vacío, obteniéndose el producto final (2) (14.4 g, 44.44 mmol) en un rendimiento del 88 %.

^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): 6.86 (s, 4H); 4.25 (t, *J*=6.3, 4H); 3.61 (t, *J*=6.3, 4H).

^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz): 152.9 (C, 2C); 116.2 (CH, 4C); 68.8 (CH_2, 2C); 29.4 (CH_2, 2C).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

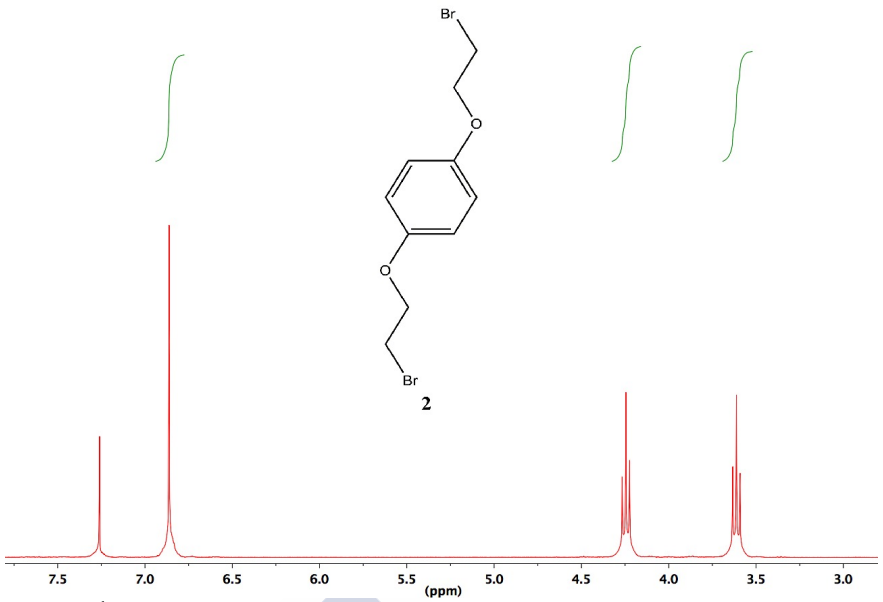
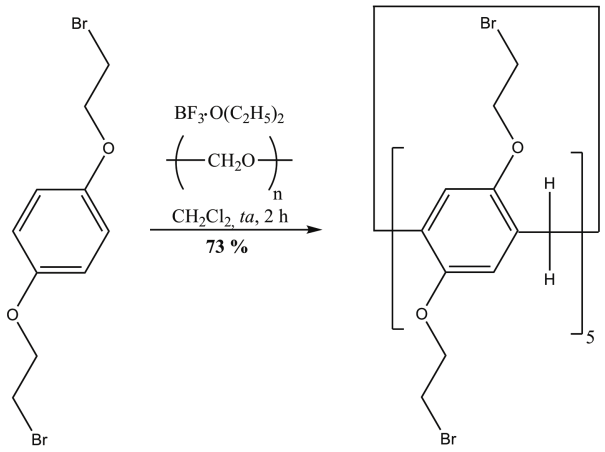


Figura A.2.1 Espectro ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **2**.



Figura A.2.2 Espectros ^{13}C RMN (abajo) y DEPT (arriba) ($CDCl_3$, 75 MHz, 25 ºC) obtenidos para el compuesto **2**.



2 **3**

A una disolución de (2) (5 g, 15.43 mmol) en diclorometano (230 mL) se le añadió paraformaldehído (0.93 g, 30.87 mmol) y a continuación se trató con dietil eterato de trifluoruro de boro (4.83 g, 33.86 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se trasvasó a un embudo de decantación para realizar lavados con agua (200 mL), disolución saturada de bicarbonato sódico (200 mL) y salmuera (200 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. El sólido amarillo resultante se disolvió en diclorometano y se agitó en presencia de carbón activo. La suspensión se filtró en placa a través de celita, se concentró a sequedad y se secó en línea de vacío, obteniéndose así el compuesto (3) (3.37 g, 2.0 mmol) como un sólido blanco en un 73 % de rendimiento.

^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): 6.92 (s, 10H); 4.23 (t, *J*=5.7, 20H); 3.85 (s, 10H); 3.63 (t, *J*=5.7, 20H).

^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz): 149.7 (C, 10C); 129.1 (C, 10C); 116.0 (CH, 10C); 69.0 (CH_2, 10C); 30.8 (CH_2, 10C); 29.5 (CH_2, 5C).

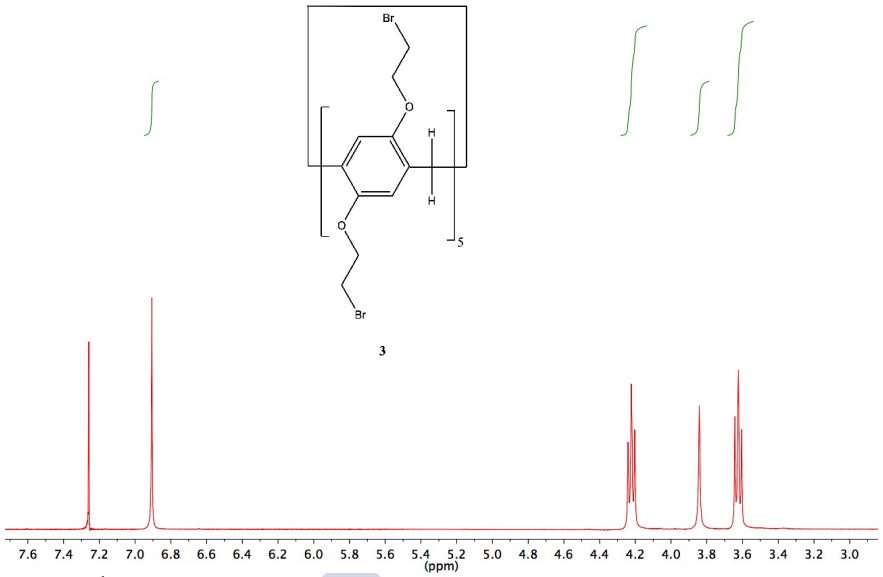


Figura A.2.3 Espectro ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **3**.



Figura A.2.4. Espectros ^{13}C RMN (abajo) y DEPT (arriba) ($CDCl_3$, 75 MHz, 25 ºC) obtenidos para el compuesto **3**.

Difracción de Rayos X

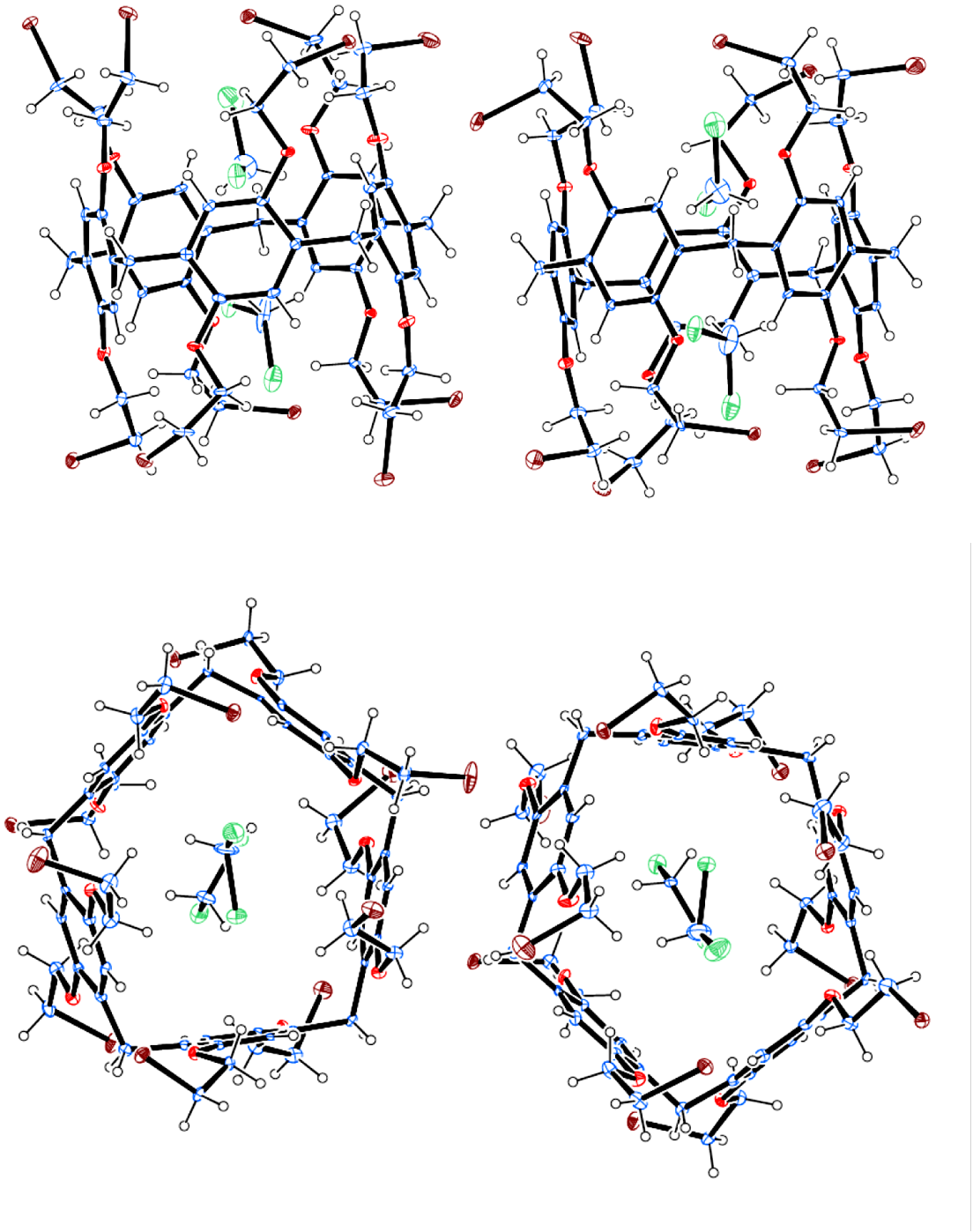
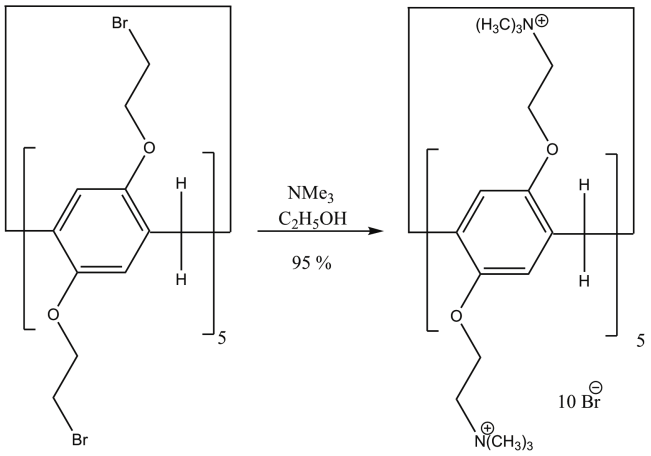


Figura A.2.5. Estructura del compuesto **3** obtenida por DRX.

La estructura del compuesto presenta 2 moléculas independientes en la unidad asimétrica de la celdilla unidad. Cada una de ellas contiene 2 moléculas de diclorometano en el interior del macrociclo. En total hay 2 moléculas de macrociclo y 4 de diclorometano estructuralmente independientes.

A continuación, se muestra una lista de los datos cristalográficos más importantes e interesantes obtenidos:

Empirical formula	$C_{55}H_{60}Br_{10}O_{10}$, $2(CH_2Cl_2)$	
Formula weight	1849.89	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	$P2_1$	
Unit cell dimensions	a = 13.0967(3) Å	α = 90°
	b = 21.4895(5) Å	β = 95.3140 (10)°
	c = 23.5943(5) Å	γ = 90°
Volume	6611.9(3) $Å^3$	
Z	4	
Density (calculated)	1.858 Mg/m^3	
Absorption coefficient	6.275 mm^{-1}	
F(000)	3616	
Crystal size	0.37 x 0.30 x 0.18 mm^3	
Theta range for data collection	0.87 to 26.73°	
Index ranges	-16<=h<=16, -27<=k<=24, 0<=l<=29	
Reflections collected	108500	
Independent reflections	27104 [R(int) = 0.0824]	
Completeness to theta = 26.73°	100.0 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.2978 and 0.1813	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	27104 / 1813 / 1543	
Goodness-of-fit on F^2	1.051	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0598, wR2 = 0.1232	
R indices (all data)	R1 = 0.0944, wR2 = 0.1359	
Absolute structure parameter	0.467(8)	
Largest diff. peak and hole	1.802 and -1.243 e.$Å^{-3}$	



3 **4**

El compuesto (3) (2 g, 1.19 mmol) se disolvió en etanol (100 mL) y se trató con trimetilamina (31-35% en etanol, 13 mL, 48.11 mmol). La disolución se dejó a reflujo durante 16 horas y, una vez enfriada a temperatura ambiente, se filtró en placa haciendo lavados con etanol. El sólido blanco obtenido se secó a vacío, obteniéndose así el compuesto (4) (2.56 g, 1.13 mmol) en un rendimiento del 95 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 6.95 (s, 10H); 4.45 (s, 20H); 3.94 (s, 10H); 3.80 (s, 20H); 3.22 (s, 90H).

^{13}C RMN (D_2O, 75 MHz): 149.3 (C, 10C); 129.9 (C, 10C); 116.5 (CH, 10C); 64.9 (CH_2, 10C); 63.4 (CH_2, 10C); 54.1 (CH_3, 30C); 29.5 (CH_2, 5C).

ESI-MS: *m/z* $[TMAP5^{10+}.8Br^{-}]^{2+}$ 1055.2 (calculado 1055.7).

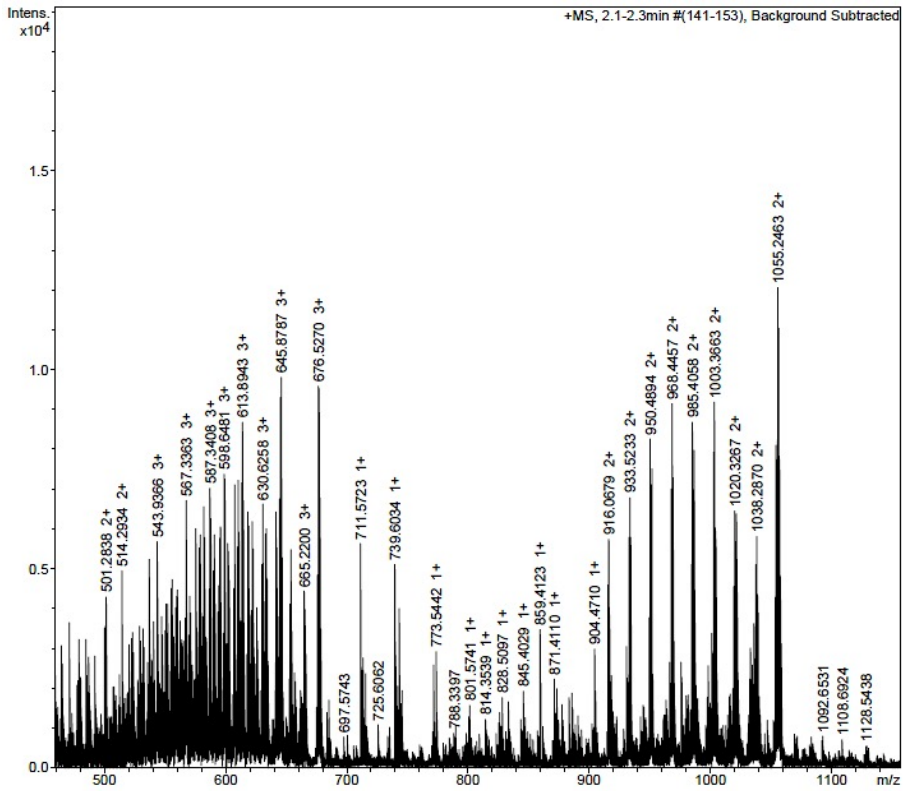


Figura A.2.6. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **4**.

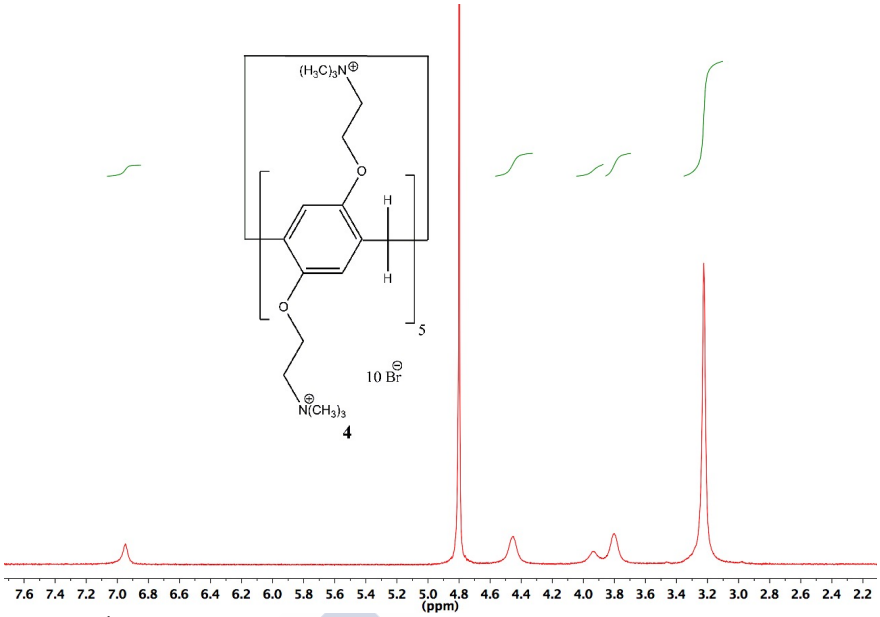
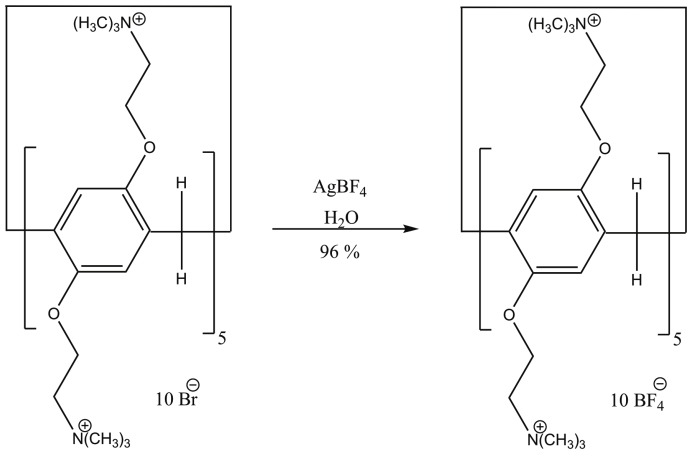


Figura A.2.7. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **4**.



Figura A.2.8. Espectros ^{13}C RMN (abajo) y DEPT (arriba) (D_2O, 75 MHz, 25 ºC) obtenidos para el compuesto **4**.



4 **H**

Sobre una disolución de (4) (1.17 g, 0.514 mmol) en agua Milli Q (mínima cantidad posible), bajo agitación y a temperatura ambiente, se añadió gota a gota otra disolución de $AgBF_4$ (1.00 g, 5.14 mmol) en agua Milli Q (mínima cantidad posible). Instantáneamente apareció un precipitado grisáceo muy fino. La suspensión se separó mediante ultracentrifugación y el sobrenadante resultante se filtró a través de un filtro de 0.45 μm. La disolución se concentró a sequedad obteniendo finalmente **H** un sólido ligeramente amarillo (1.15 g, 0.491 mmol) en un 96 % de rendimiento.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 6.89 (s, 10H); 4.36 (s, 20H); 3.91 (s, 10H); 3.72 (s, 20H); 3.19 (s, 90H).

^{13}C RMN (D_2O, 75 MHz): 149.2 (C, 10C); 129.8 (C, 10C); 115.9 (CH, 10C); 64.8 (CH_2, 10C); 62.3 (CH_2, 10C); 53.7 (CH_3, 30C); 29.3 (CH_2, 5C).

ESI-MS: *m/z* $[TMAP5^{10+}{\cdot}9BF_4^-]^+$ 2253.2 (calculado 2253.4); $[TMAP5^{10+}{\cdot}8BF_4^-]^{2+}$ 1083.1 (calculado 1083.3).

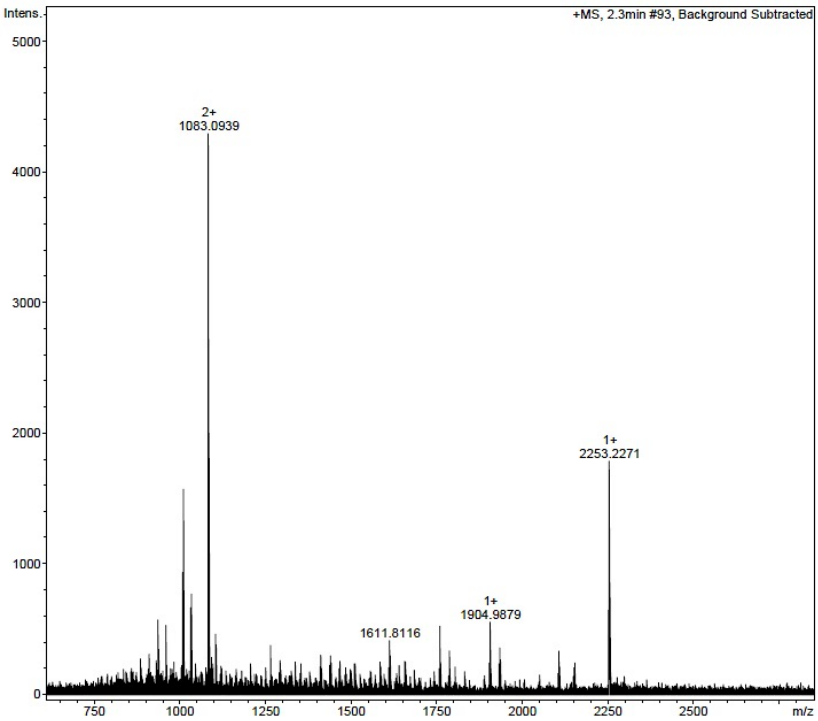


Figura A.2.9. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **H**.

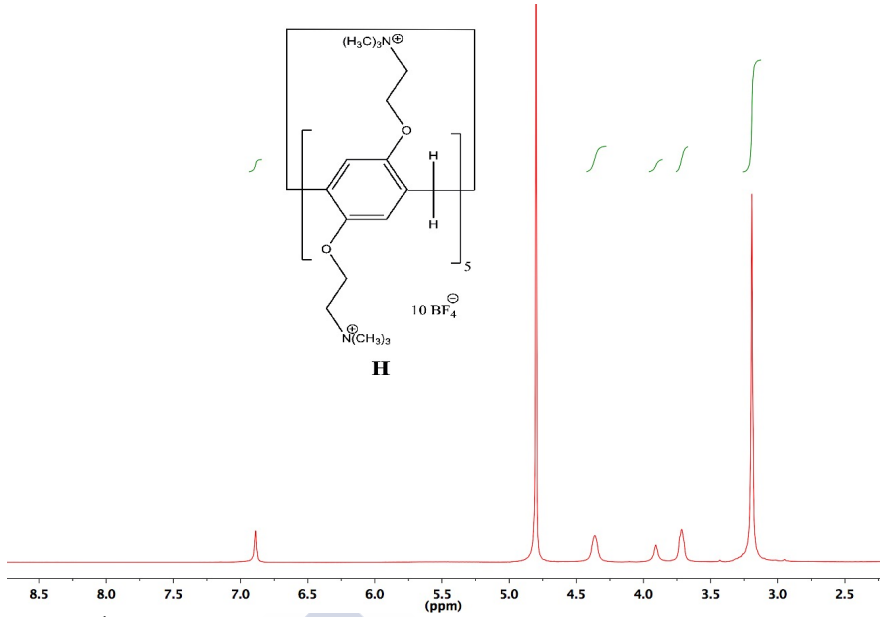


Figura A.2.10. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **H**.

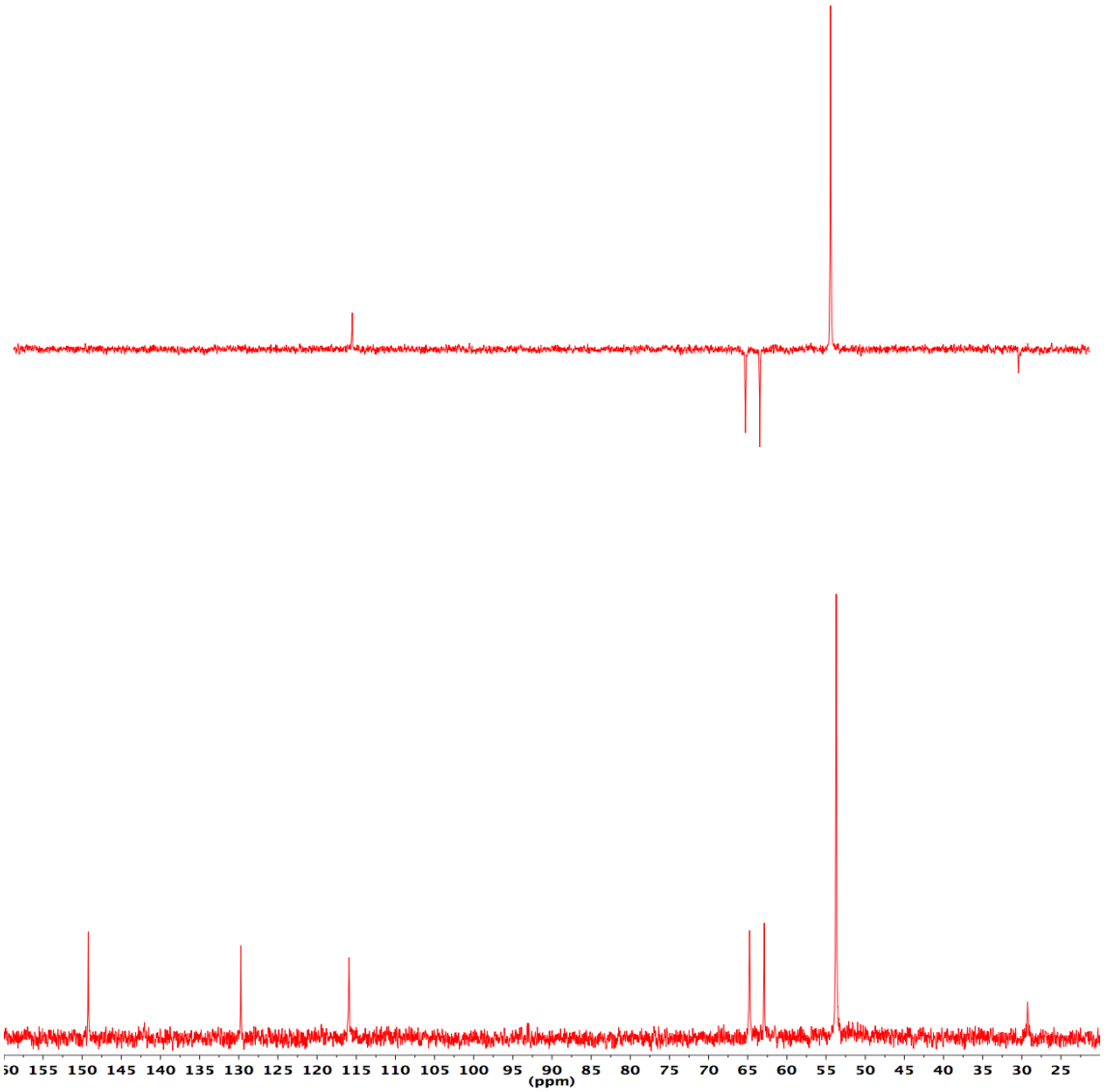


Figura A.2.11. Espectros ^{13}C RMN (abajo) y DEPT (arriba) (D_2O, 75 MHz, 25 ºC) obtenidos para el compuesto **H**.

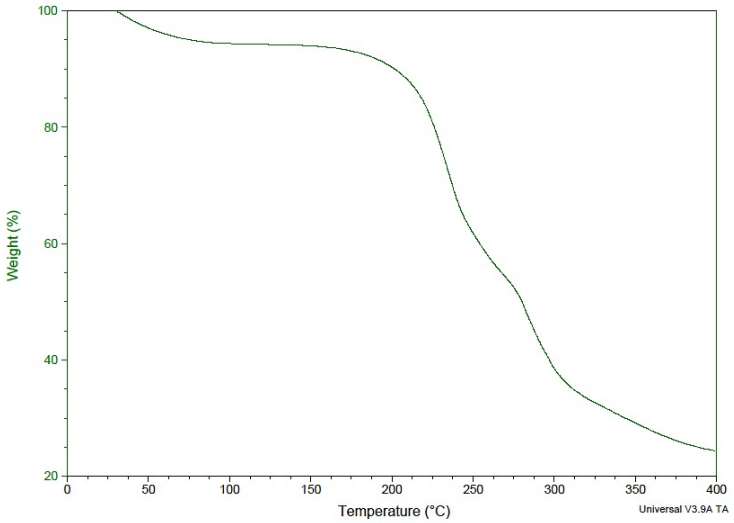


Figura A.2.12. Variación del peso en función de la temperatura para una muestra de **H**.

2.5.2 Espectro 2D COSY para muestra H:G (1:66)

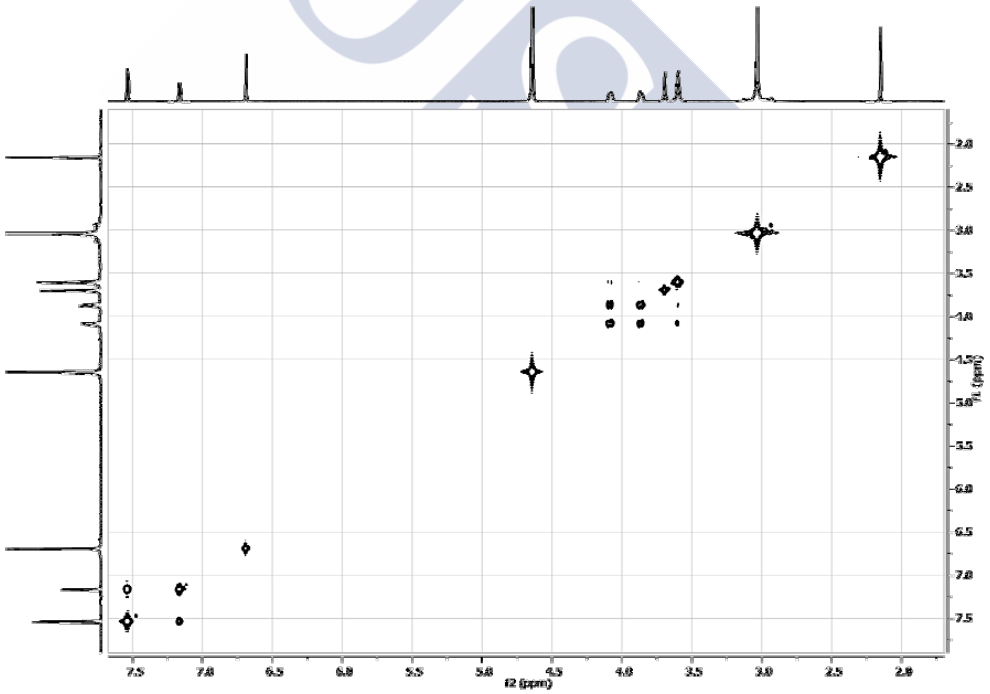


Figura A.2.13. Espectro 2D COSY obtenido a 25 ºC para la muestra **H**:**G** preparada en relación molar 1:66 para elucidar la asignación de los protones etiquetados como H2 y H2´del grupo metileno de la posición 2 de **H**, cuya equivalencia química se pierde como resultado del complejo formado entre **H** y **G**.

2.5.3 Modelo de complejación 1:1 y 1:2

Teniendo en cuenta la formación de complejos 1:1 y 1:2 entre **H** y **G**, el esquema de reacción puede definirse como:

$$H + G \xrightleftharpoons{K_{1:1}} H{:}G$$

$$H{:}G + G \xrightleftharpoons{K_{1:2}} H{:}G_2$$

Esquema A.2.1

De tal forma que las constantes de equilibrio vendrán dadas por:

$$K_{1:1} = [\mathrm{H{:}\,G}]/[\mathrm{H}][\mathrm{G}] \quad \text{(A.2.1)}$$

$$K_{1:2} = [\mathrm{H{:}\,G_2}]/[\mathrm{H}][\mathrm{H{:}\,G}] \quad \text{(A.2.2)}$$

Y los balances de materia por:

$$[\mathrm{H}]_T = [\mathrm{H}] + [\mathrm{H{:}\,G}] + [\mathrm{H{:}\,G_2}] \quad \text{(A.2.3)}$$

$$[\mathrm{G}]_T = [\mathrm{G}] + [\mathrm{H{:}\,G}] + 2[\mathrm{H{:}\,G_2}] \quad \text{(A.2.4)}$$

Combinando las ecuaciones anteriores, se llega a la ecuación que permite determinar la concentración de **G** libre:

$$a[\mathrm{G}]^3 + b[\mathrm{G}]^2 + c[\mathrm{G}] - [\mathrm{G}]_0 = 0 \quad \text{(A.2.5)}$$

En la cual:

$$a = (K_{1:1}K_{1:2}) \quad \text{(A.2.6)}$$

$$b = \{K_{1:1}(2K_{1:2}[\mathrm{H}]_0 - K_{1:2}[\mathrm{G}]_0 + 1)\} \quad \text{(A.2.7)}$$

$$c = \{K_{1:1}([\mathrm{H}]_0 - [\mathrm{G}]_0 + 1)\} \quad \text{(A.2.8)}$$

Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación (A.2.9):

$$\Delta\delta_{\mathrm{obs}} = \frac{\delta_{\Delta\mathbf{H:G}}K_{1:1}[G] + \delta_{\Delta\mathbf{H:G_2}}K_{1:1}K_{1:2}[G]^2}{1 + K_{1:1}[G] + K_{1:1}K_{1:2}[G]^2} \quad \text{(A.2.9)}$$

2.5.4 Espectros STDs saturando la señal Hb

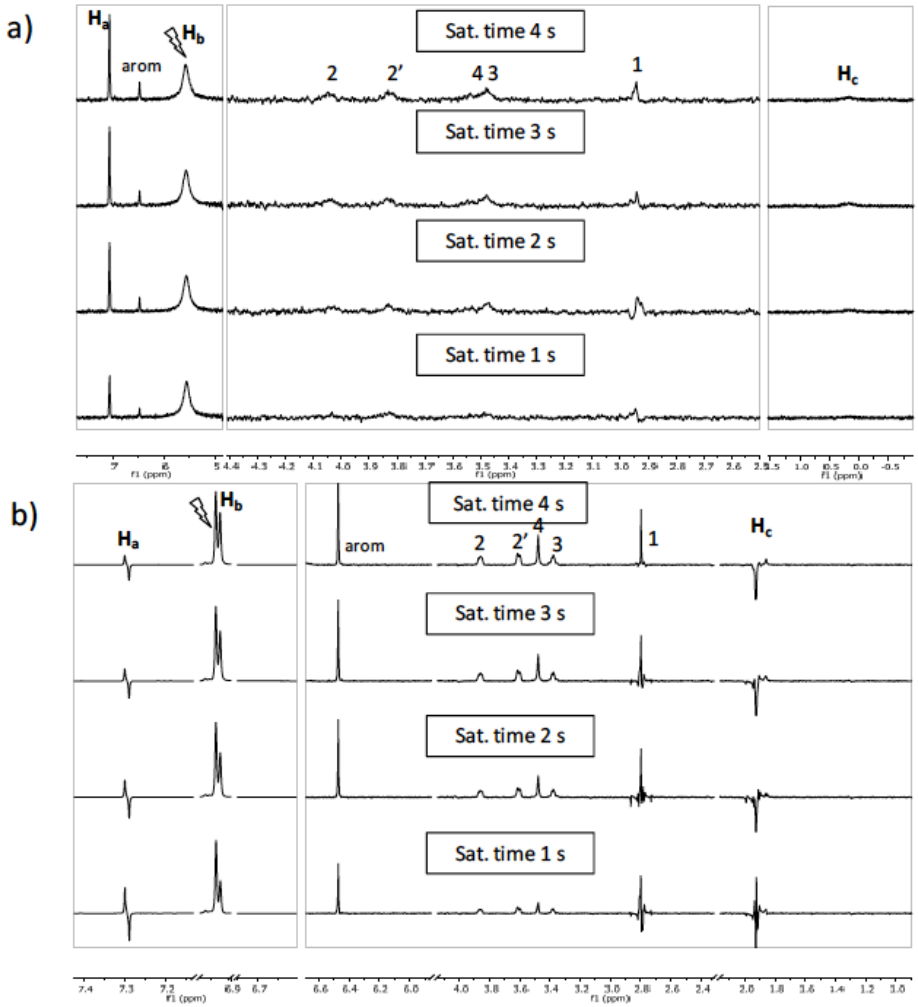


Figura A.2.14. Espectros $STD_{on\text{-}off}$ obtenidos a partir de la saturación de la señal Hb de **G**. a) Disolución que contiene **H** y **G** en relación molar 1:1. b) Disolución que contiene **H** y **G** en relación molar 1:66.

2.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.

(2) Hapiot, F.; Tilloy, S.; Monflier, E. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 767-781.

(3) Kim, K.; Selvapalam, N.; Oh, D. H. *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* **2004**, *50*, 31-36.

(4) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(5) Xue, M. I. N.; Yang, Y.; Chi, X.; Zhang, Z.; Huang, F. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1294-1308.

(6) Cragg, P. J.; Sharma, K. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 597-607.

(7) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *15*, 2961-2975.

(8) Strutt, N. L.; Forgan, R. S.; Spruell, J. M.; Botros, Y. Y.; Stoddart, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *70*, 5668–5671.

(9) Han, C.; Yu, G.; Zheng, B.; Huang, F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1712-1715.

(10) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Giesener, M. A.; Lei, J.; Stoddart, J. F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1647-1649.

(11) Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710.

(12) Yu, G.; Zhou, X.; Zhang, Z.; Han, C.; Mao, Z.; Gao, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19489-19497.

(13) Li, C.; Shu, X.; Li, J.; Chen, S.; Han, K.; Xu, M.; Hu, B.; Yu, Y.; Jia, X. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8458-8465.

(14) Hu, X.-B.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J.-L. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696.

(15) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(16) Beer, P. D.; Gale, P. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 486-516.

(17) Bakirci, H.; Koner, A. L.; Nau, W. M. *Chem. Commun.* **2005**, *43*, 5411-5413.

(18) Sessler, J. L.; Gross, D. E.; Cho, W.; Lynch, V. M.; Schmidtchen, F. P.; Bates, G. W.; Light, M. E.; Gale, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12281-12288.

(19) Arunachalam, M.; Ghosh, P. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 8477-8492.

(20) Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Phys. Org. Chem.* **1998**, *11*, 693-696.

(21) Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, *3*, 629-634.

(22) Douteau-Guével, N.; Perret, F.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2002**, *3*, 524-532.

(23) Buschmann, H.-J.; Mutihac, L.; Schollmeyer, E. *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* **2003**, *46*, 133-137.

(24) Francisco, V.; Piñeiro, A.; Nau, W. M.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 17809-17820.

(25) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5308-5315.

(26) Li, C. J.; Ma, J. W.; Zhao, L.; Zhang, Y. Y.; Yu, Y. H.; Shu, X. Y.; Li, J.; Jia, X. S. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1924-1926.

(27) Ma, Y.; Xue, M.; Zhang, Z.; Chi, X.; Huang, F. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4532-4535.

(28) Ogoshi, T.; Tanaka, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Lett.* **2011**, *40*, 96-98.

(29) Jerschow, A.; Müller, N. *J. Magn. Reson.* **1997**, *125*, 372-375.

(30) Wu, D.; Chen, A.; Johnson, C. S. *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *115*, 260-264.

(31) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1998**, *10*, 197-237.

(32) Ribeiro, A. C. F.; Lobo, V. M. M.; Sobral, A. J. F. N.; Soares, H. T. F. C.; Leal, A. R. J.; Esteso, M. A. *Acta Chim. Slov.* **2010**, *57*, 410-414.

(33) Guo, D.-S.; Wang, K.; Liu, Y. *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* **2008**, *62*, 1-21.

(34) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1997**, *9*, 299-336.

(35) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520-554.

(36) Falcone, R. D.; Baruah, B.; Gaidamauskas, E.; Rithner, C. D.; Correa, N. M.; Silber, J. J.; Crans, D. C.; Levinger, N. E. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6837-6846.

(37) Thordarson, P. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1305-1323.

(38) Arena, G.; Gentile, S.; Gulino, F. G.; Sciotto, D.; Sgarlata, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7091-7094.

(39) Liu, Y.; Guo, D.-S.; Zhang, H.-Y.; Ma, Y.-H.; Yang, E.-C. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3428-3434.

(40) Ghai, R.; Falconer, R. J.; Collins, B. M. *J. Mol. Recognit.* **2012**, *25*, 32-52.

(41) Guo, D.-S.; Wang, L. H.; Liu, Y. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7775-7778.

(42) Arena, G.; Casnati, A.; Contino, A.; Magrì, A.; Sansone, F.; Sciotto, D.; Ungaro, R. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 243-249.

(43) Li, C. J.; Ma, J. W.; Zhao, L.; Zhang, Y. Y.; Yu, Y. H.; Shu, X. Y.; Li, J.; Jia, X. S. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1924-1926.

(44) Basílio, N.; Francisco, V.; García-Río, L. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 10764-10772.

(45) Mayer, M.; Meyer, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1784-1788.

(46) Meyer, B.; Peters, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 864-890.

(47) Ji, Z.; Yao, Z.; Liu, M. *Anal. Biochem.* **2009**, *385*, 380-382.

CAPÍTULO 3

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 3

3. FORMACIÓN DE COMPLEJOS INTERNOS Y EXTERNOS ENTRE UN PILAR[5]ARENO Y DIFERENTES GUESTS

3.1 INTRODUCCIÓN

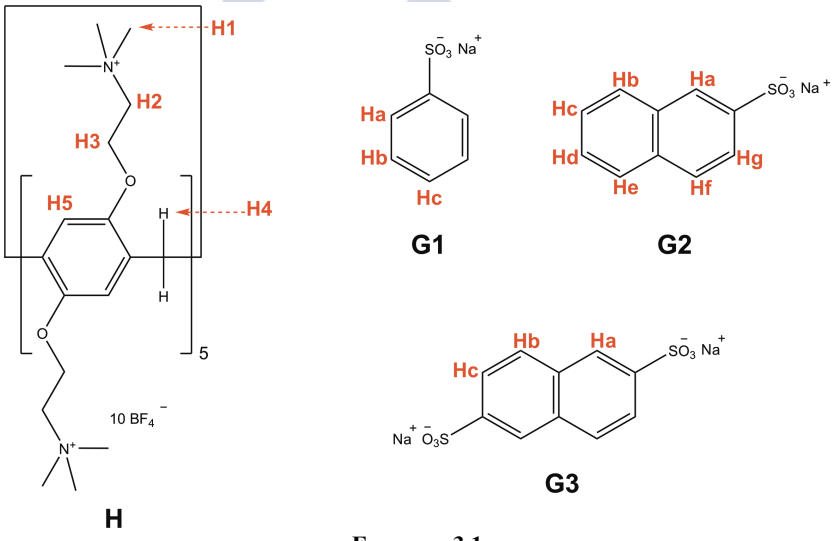
En los últimos años, dentro de la química supramolecular, el área de investigación dedicada al reconocimiento molecular se ha convertido en un campo ampliamente estudiado debido a su implicación y potencial aplicación no sólo en química, sino también en biología y ciencia de materiales. Uno de los grandes objetivos ha sido la obtención de nuevos receptores sintéticos que posean alta afinidad y selectividad por diferentes moléculas. Así, en las últimas décadas se han sintetizado diferentes macrociclos que pueden formar infinidad de complejos *host-guest*.[1] De manera similar a otros macrociclos, recientemente se ha descubierto una nueva clase de receptores macrocíclicos, denominados pilararenos, los cuales tienen la capacidad de formar complejos de inclusión con una larga lista de moléculas huésped. Por ser la última familia de macrociclos en incorporarse al panorama de química *host-guest*, cada vez son más los trabajos que pueden encontrarse en la bibliografía utilizando y estudiando este tipo de macrociclo.[2–8]

Los pilar[*n*]arenos, sintetizados por primera vez por Ogoshi en el año 2008, son moléculas macrocíclicas formadas por *n* unidades de 1,4-dialcoxibenceno que se unen entre sí a través de puentes metileno en posición *para*. Al igual que ocurre con otros macrociclos, el número de esas unidades que se repiten puede variar (*n*=5-15).[2,9] Sin embargo, por facilidad de obtención, hasta el momento son los de 5 y 6 unidades bencénicas los más ampliamente estudiados.[10–18] Esta nueva clase de macrociclos posee sus propias características únicas pero, a la vez, también comparte algunas ventajas que pueden encontrarse en otros receptores macrocíclicos, como la relativa facilidad para ser modificados de los calixarenos,[19] o la alta simetría y rigidez de los cucurbiturilos.[20,21]

Aunque en principio la solubilidad de los pilararenos en agua es reducida, ésta puede conseguirse a través de una adecuada funcionalización de los mismos, lo que aumenta enormemente las potenciales aplicaciones que pueden tener estos macrociclos. El primer pilarareno soluble en agua se obtuvo en el año 2010 mediante la introducción de grupos carboxilato en los portales del macrociclo. Las propiedades *host-guest* de estos análogos de pilararenos se investigaron con diferentes moléculas, como amino ácidos[22] o sales catiónicas de viológeno,[23,24] entre otras. Sólo un año después se describió la funcionalización de los pilararenos tanto con grupos catiónicos como neutros.[25–27] Así, el abanico de moléculas que pueden ser complejadas por los pilararenos aumentó de manera considerable,[28–33] de tal forma que, por ejemplo, pudo estudiarse la encapsulación de diácidos lineales en un amplio rango de pHs usando un pilarareno modificado con grupos amino o también la complejación de diferentes moléculas, neutras o cargadas

negativamente, haciendo uso de pilararenos funcionalizados con grupos catiónicos (aminas cuaternarias).[34–37] En el capítulo anterior se muestra un amplio estudio sobre la complejación de uno de estos aniones orgánicos por parte de un pilarareno cargado positivamente demostrando que, además de poder complejar una molécula en su cavidad altamente rica en electrones π, los pilararenos también pueden formar complejos de estequiometría superior acomodando otra molécula de manera externa.

En la bibliografía pueden encontrarse diferentes trabajos en los que se utilizan pilar[5]arenos modificados con grupos trimetilamonio para estudiar la formación de complejos 1:1 utilizando, por ejemplo, 1-octanosulfonato o ácidos carboxílicos como moléculas huésped. Adicionalmente, también se llegó a la conclusión de que diferentes *guests* aniónicos (con grupos sulfonato) dan lugar a complejos con estequiometría 1:1, llegando a sugerir que los *guests* dianiónicos no se asocian al pilarareno y sin tener en cuenta la formación de complejos con estequiometrías mayores. Sin embargo, como se muestra en el capítulo 2, al utilizar pilararenos como receptores macrocíclicos debería de tenerse en cuenta la posible formación de complejos con estequiometrías mayores que la 1:1, posibilidad que suele omitirse en los trabajos existentes en la bibliografía y que sin embargo es de gran interés a la hora de considerar el uso de pilararenos en, por ejemplo, catálisis o polimerización supramolecular.



Esquema 3.1

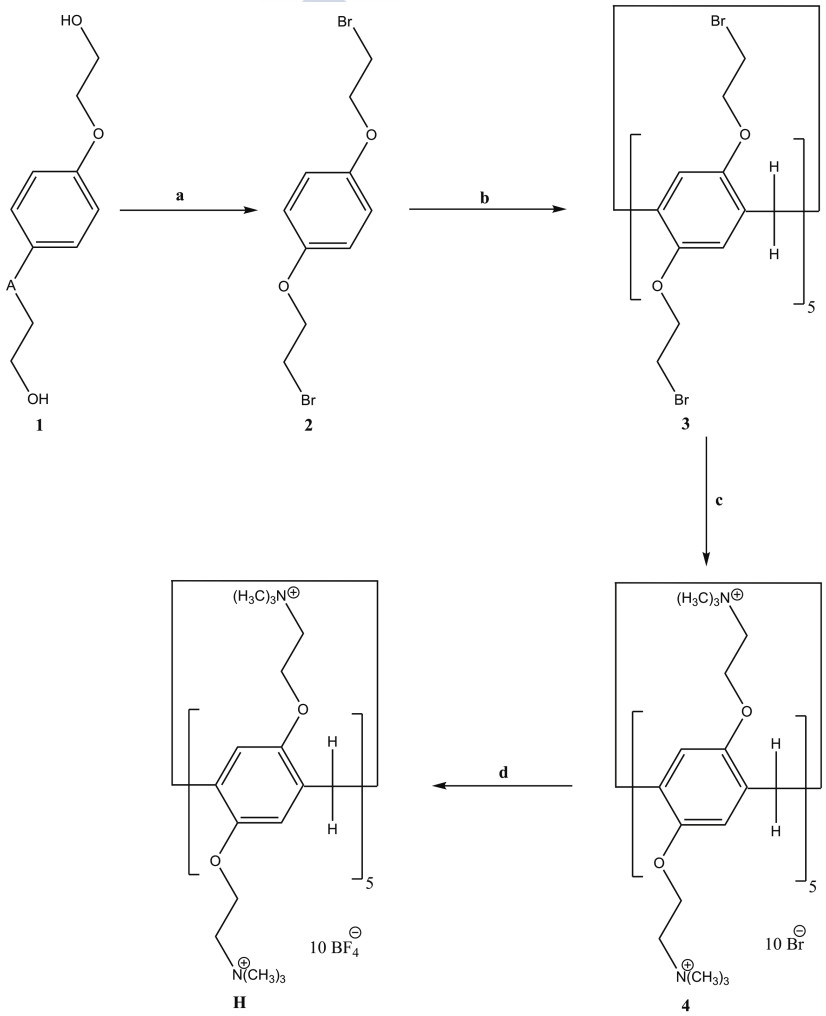
En este capítulo se exploran detalladamente los diferentes modos de complejación del tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) haciendo uso de tres *guests* aniónicos: el bencenosulfonato sódico (**G1**), el 2-naftalensulfonato sódico (**G2**) y el 2,6-naftalendisulfonato disódico (**G3**) (Esquema 3.1). Las 3 moléculas huésped se eligieron teniendo en cuenta sus cargas negativas, las cuáles deberían dar lugar a una fuerte interacción con el pilarareno catiónico. La comparación de **G1** y **G2** nos permite estudiar cómo afecta a la formación de complejos de inclusión el cambio en el tamaño de la parte hidrofóbica, mientras que la comparación de **G2** y **G3** sirve para estudiar el efecto monoanión/dianión de los mismos. Además, la estructura planar de los 3 *guests* facilitará la formación de complejos externos. Adicionalmente, el uso de **G1** permitió la inclusión simultánea de dos *guests* dentro de la cavidad del pilarareno y usando **G3** pudo estudiarse la interacción simultánea de los dos portales positivos de **H** con las dos cargas negativas del *guest*. Haciendo uso de experimentos de RMN y de ITC pudo concluirse la formación de complejos *host-guest* con estequiometría 1:1 y 1:2. La diferente localización de **G1**, **G2** y **G3** en los complejos supramoleculares ternarios permitió la identificación de tres

estructuras diferentes: (i) inclusión de los dos *guests* (**G1**); (ii) un *guest* incluido en la cavidad de **H** y otro formando un complejo externo (**G2**) y (iii) los dos *guests* formando complejos externos (**G3**). Finalmente se realizaron cálculos de dinámica molecular que corroboran las estructuras propuestas basadas en los experimentos de RMN.

3.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención de **H** se muestra en el Esquema 3.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice del capítulo 2 (2.5.1).



Esquema 3.2

Espectroscopía RMN. Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolvente deuterado (D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm). Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente. D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova

(MestReLab Research Inc.). Los experimentos bidimensionales (2D NOESY) se realizaron es un espectrofotómetro Bruker DRX-500 (500 MHz resonancia ^{1}H).

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular la constante de complejación del sistema (K), se utilizó el *software* AFFINImeter partiendo de la curva de valoración. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

Simulaciones Dinámica Molecular. Los experimentos de dinámica molecular fueron realizados por el profesor Rodrigo Montecinos Escobar, de la Pontifica Universidad Católica de Chile, el cual viene colaborando en los últimos años con el grupo de *Reactividade e Catálise*. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron utilizando el paquete de programas Gromacs versión 4.6.5.[38] El pilar[5]areno y los *guests* se construyeron con parámetros del campo de fuerza GROMOS96 54A7[39] y solvatados con el modelo de agua SPC/E.[40] Las condiciones de límite periódico se aplicaron en las 3 dimensiones. Las simulaciones se llevaron a cabo en el conjunto isotermo-isobárico. La temperatura se mantuvo a 300 K usando el termostato Berendsen (rescala-v) con el pilar[5]areno, los *guests*, los iones y el agua acoplados independientemente, con un tiempo de acoplamiento constante de 0.1 ps. La presión se mantuvo a 1 bar usando el baróstato Berendsen con un tiempo de acoplamiento de 1.0 ps.[41] El algoritmo LINCS[42] se utilizó para forzar las longitudes de los enlaces del pilar[5]areno y de los *guests* y el algoritmo SETTLE[43] para restringir la estructura de las moléculas de agua. Para las interacciones de van der Waals se utilizó un corte de 1.2 nm. Las interacciones electrostáticas se calcularon según el método de Ewald (PME, *Particle Mesh Ewald*).[44] En todas las simulaciones se utilizó un paso de tiempo de 2 fs, actualizando la lista cada 10 pasos de tiempo. Ambos sistemas se equilibraron en 300 ps. Se calcularon trayectorias de 25 ns para cada sistema.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS POR RMN

El estudio de los diferentes modos de enlace en la complejación de **H** con los tres *guests* se realizó mediante experimentos de RMN de protón (^{1}H RMN). La espectroscopía de RMN es una poderosa herramienta que ha venido siendo ampliamente utilizada para determinar la estructura de complejos *host-guest* a través del análisis de los desplazamientos químicos inducidos por dicha complejación. En la Figura 3.1 se muestran los desplazamientos químicos observados para los protones de **G1** en muestras con diferentes concentraciones de **H**. Como puede verse, todas las señales de los protones de **G1** se desplazan a campo alto tras la adición de **H**, lo que supone una evidencia directa de la formación de un complejo de inclusión.

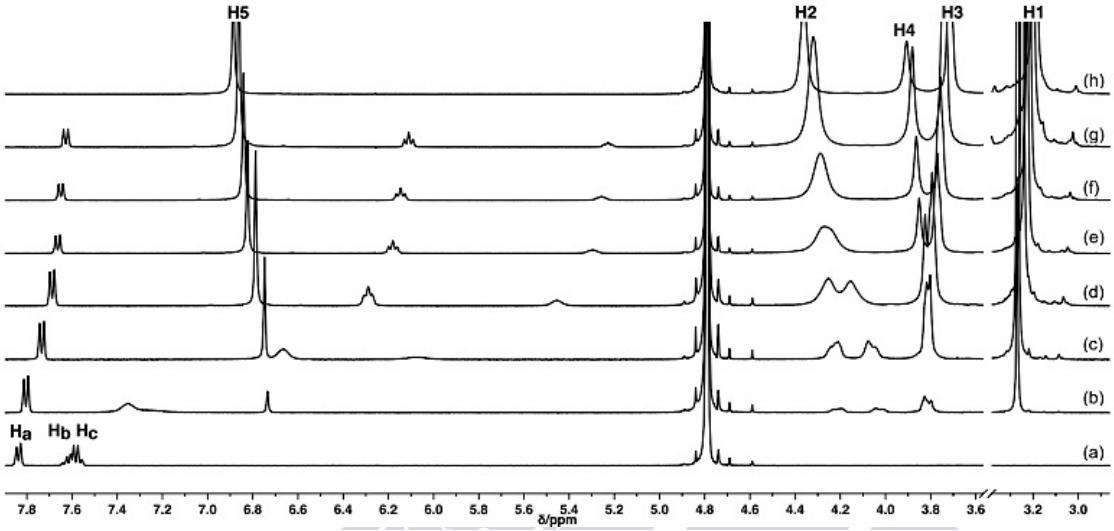


Figura 3.1. Espectros ^{1}H RMN de **G1** (1.5 mM) en presencia de mayores cantidades de **H** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.1 mM, (c) 0.5 mM, (d) 1.0 mM, (e) 1.5 mM, (f) 2.0 mM y (g) 3.5 mM. El espectro (h) se corresponde con **H** libre (1.5 mM).

Además, también es reseñable que las señales de **G1** libre y complejado aparecen promediadas, indicando que el intercambio entre las dos especies es rápido en la escala de tiempo de RMN. Los correspondientes cambios de los desplazamientos químicos observados (Δδ) para **G1** en presencia de aproximadamente 2.5 equivalentes de **H** se muestran en la Tabla 3.1.

Teniendo en cuenta que cada señal tiene un Δδ diferente, estos valores son de gran utilidad y pueden usarse para deducir las estructuras de los complejos *host-guest*, de tal forma que los protones con un mayor Δδ serán aquellos que están más afectados por el efecto de las corrientes de los anillos aromáticos de **H**, pues sólo este efecto podría explicar los grandes desplazamientos químicos observados.[26,45]

Tabla 3.1. Cambios de los desplazamientos químicos ($\Delta\delta(ppm)=\delta_{complejado}-\delta_{libre}$) obtenidos para los tres *guests* (1.5 mM) en presencia de **H** (3.5 Mm).

Guest	Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	Hg
1	-0.21	-1.46	-2.39				
2	-0.18	-1.28	-1.54	-1.94	-0.44	-0.15	-0.12
3	-0.23	-0.14	-0.33				

De esta forma, de acuerdo a la secuencia de los valores de Δδ obtenidos (Hc >Hb >Ha) puede determinarse que, en la estructura del complejo, **G1** se encuentra bien insertado en

la cavidad del macrociclo con los grupos sulfonato del *guest* interaccionando con los grupos trimetilamonio de **H**. Además, como puede observarse, estos desplazamientos no sólo se dan en las señales del huésped, sino que también las señales de **H** cambian en presencia de **G1**. Durante la formación del complejo, mientras que las señales correspondientes a los protones H2, H4 y H5 se desplazan a campo alto, las pertenecientes a los protones H1 y H3 lo hacen ligeramente hacia campo bajo. Teniendo en cuenta que los resultados indican que **G1** debe de penetrar perpendicularmente en la cavidad del pilarareno, el desplazamiento químico observado para los protones H5 podría explicarse teniendo en cuenta las fuertes interacciones de apilamiento π-π entre los anillos bencénicos del *host* y del *guest*.[46] Contrariamente, el desplazamiento observado para H1 y H3 sugiere que estos protones se encuentran menos apantallados tras la formación del complejo con **G1**. Además, cabe destacar el desdoblamiento de la señal H2 tras la complejación, fenómeno que también se observa en el proceso de complejación de *guests* neutros por **H** y que podría ser consecuencia de la estructura asimétrica que tienen los *guests*.[31] Teniendo en cuenta las curvas obtenidas de las titulaciones por ^{1}H RMN (Figura 3.2, Figura 3.3 y Figura 3.4) puede concluirse que para explicar correctamente la complejación que tiene lugar, necesariamente deben de tenerse en cuenta estequiometrías mayores que la 1:1. Además, esta hipótesis puede respaldarse con los resultados obtenidos en las valoraciones calorimétricas.

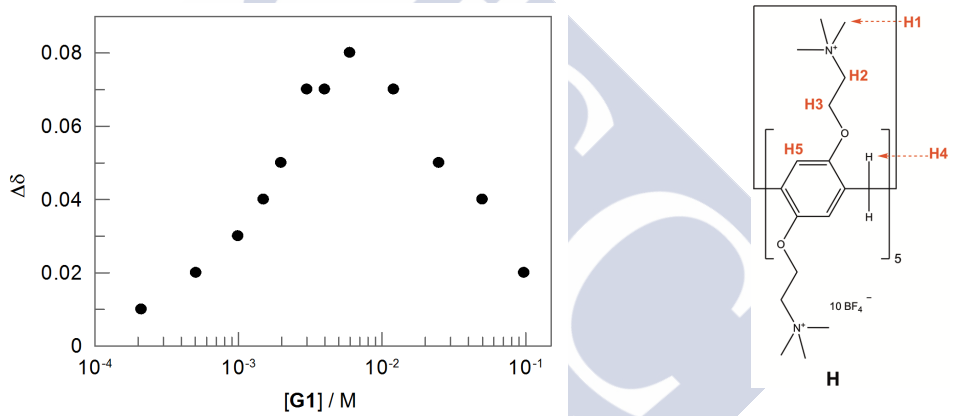


Figura 3.2. Cambios observados en los desplazamientos químicos de los protones correspondientes a los grupos trimetilamonio (H1) de **H** en función de la concentración de **G1** en D_2O a 25 ºC ([**H**]=1.5 mM).

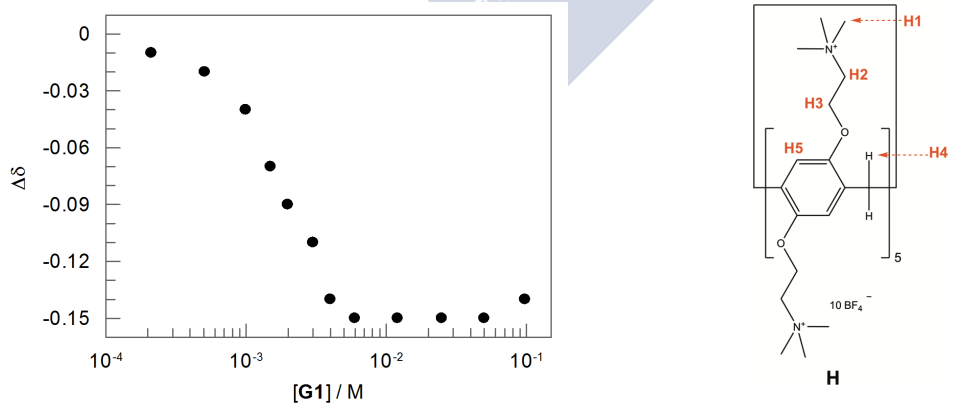


Figura 3.3. Cambios observados en los desplazamientos químicos de los protones correspondientes a los grupos aromáticos (H5) de **H** en función de la concentración de **G1** en D_2O a 25 ºC ([**H**]=1.5 mM).

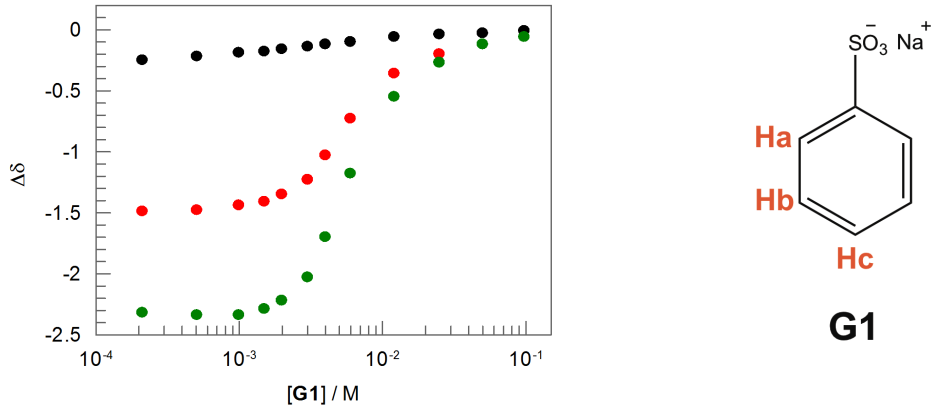


Figura 3.4. Cambios observados en los desplazamientos químicos de los protones correspondientes al *guest* **G1** (Ha (•), Hb (•) y Hc (•)) en función de la concentración de **G1** en D_2O a 25 ºC ([**H**]=1.5 mM).

Para **G2** también se observó un intercambio rápido entre especies en la escala de tiempo de RMN y unos desplazamientos químicos a campo alto que indican la inclusión del anillo naftalénico en la cavidad del macrociclo **H** (Figura 3.5). De la titulación de **G2** con **H** se obtuvieron, al igual que con **G1**, unos cambios en los desplazamientos químicos bien pronunciados (Tabla 3.1). Sin embargo, para **G2**, los desplazamientos observados para Hb y He indican que el *guest* debe de penetrar la cavidad de **H** con una conformación más inclinada y menos perpendicular que en el caso de **G1**. En cuanto a los protones del *host*, puede observarse que todos ellos experimentan desplazamientos a campo alto tras la complejación con **G2**, de lo que puede deducirse que los protones de **H** se apantallan más eficientemente al complejarse con **G2** que al hacerlo con **G1**. No obstante, la complejación de **G2** con **H** también induce la separación en dos picos de la señal H2 del pilarareno.

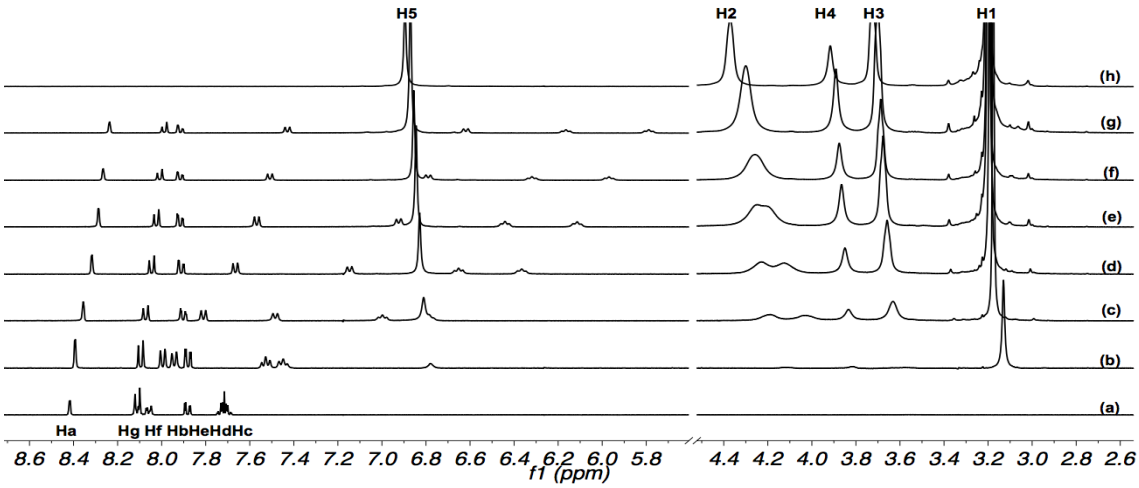


Figura 3.5. Espectros ^{1}H RMN de **G2** (1.5 mM) en presencia de mayores cantidades de **H** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.1 mM, (c) 0.5 mM, (d) 1.0 mM, (e) 1.5 mM, (f) 2.0 mM y (g) 3.5 mM. El espectro (h) se corresponde con **H** libre (1.5 mM)

A diferencia de lo que ocurre con **G1** y **G2**, el desdoblamiento de los protones H2 del pilarareno no tiene lugar al usar **G3** como *guest* (Figura 3.6). Teniendo en cuenta que el proceso de desdoblamiento de H2 puede deberse a la total inserción de la molécula huésped en la cavidad de **H**[10] y que, además, los grupos sulfonato son demasiado voluminosos como para adentrarse en la cavidad del *host*, otro modo de complejación debería tener lugar. Comparando el cambio de los desplazamientos químicos de **G3** con

los de **G1** y **G2**, razonablemente puede intuirse que el *guest* dianiónico estará menos incluido en la cavidad de **H**.

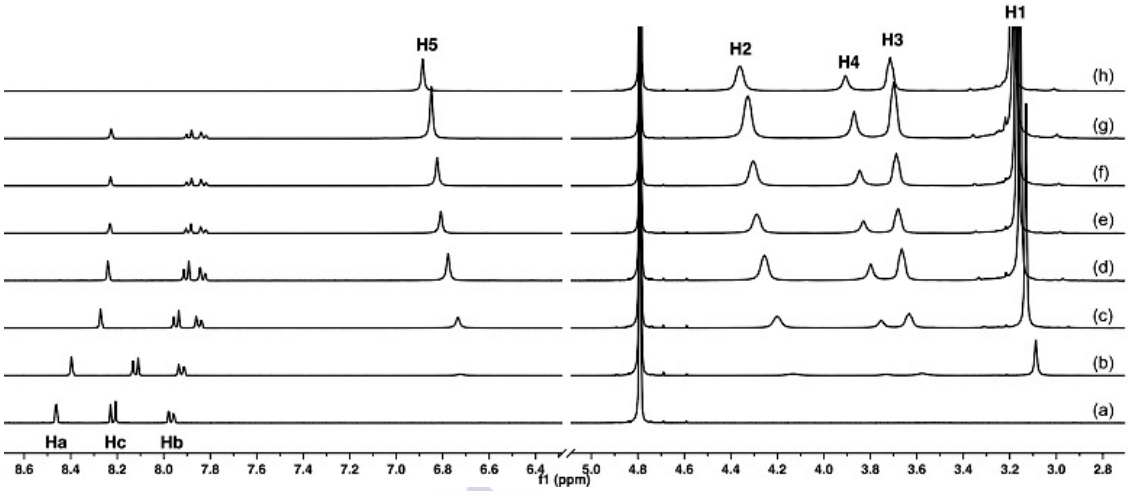


Figura 3.6. Espectros ^{1}H RMN de **G3** (1.5 mM) en presencia de mayores cantidades de **H** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.1 mM, (c) 0.5 mM, (d) 1.0 mM, (e) 1.5 mM, (f) 2.0 mM y (g) 3.5 mM. El espectro (h) se corresponde con **H** libre (1.5 mM).

Finalmente, de los resultados obtenidos por los experimentos de RMN también cabe comentar que los desplazamientos químicos de los protones de **G1**, **G2** y **G3** continúan cambiando incluso después de alcanzar la relación molar 1:1 con el pilarareno. Este comportamiento podría indicar bien que la constante de asociación entre los diferentes *guests* y **H** es pequeña o bien, como cabría esperar debido a la estructura del macrociclo, que la estequiometría de los complejos de inclusión formados es mayor que la 1:1.

Para confirmar los diferentes modos de complejación que tienen lugar entre **H** y los 3 *guests*, se realizaron experimentos 2D NOESY. Como se muestra en la Figura 3.7, para el complejo **H**:**G1** (a) se observa una clara interacción de los protones aromáticos del *guest* con todos los protones del pilarareno, para lo cual **G1** debería de estar bien incluido en la cavidad del macrociclo. De manera similar, en el espectro NOESY obtenido para el complejo **H**:**G2** (b) también pueden observarse interacciones de todos los protones del *guest* con todos los protones del *host*. En claro contraste a lo que ocurre al utilizar **G1** y **G2**, en el espectro obtenido para el complejo **H**:**G3** (c) sólo las señales del *host* correspondientes al grupo trimetilamonio (H1) muestran interacción con los protones de la molécula huésped. De esta forma, la ausencia de correlación de los protones de **G3** con los protones H2-H5 del pilarareno sugiere que las moléculas de *guest* deberían estar localizadas en el portal de **H** y no así dentro de su cavidad.

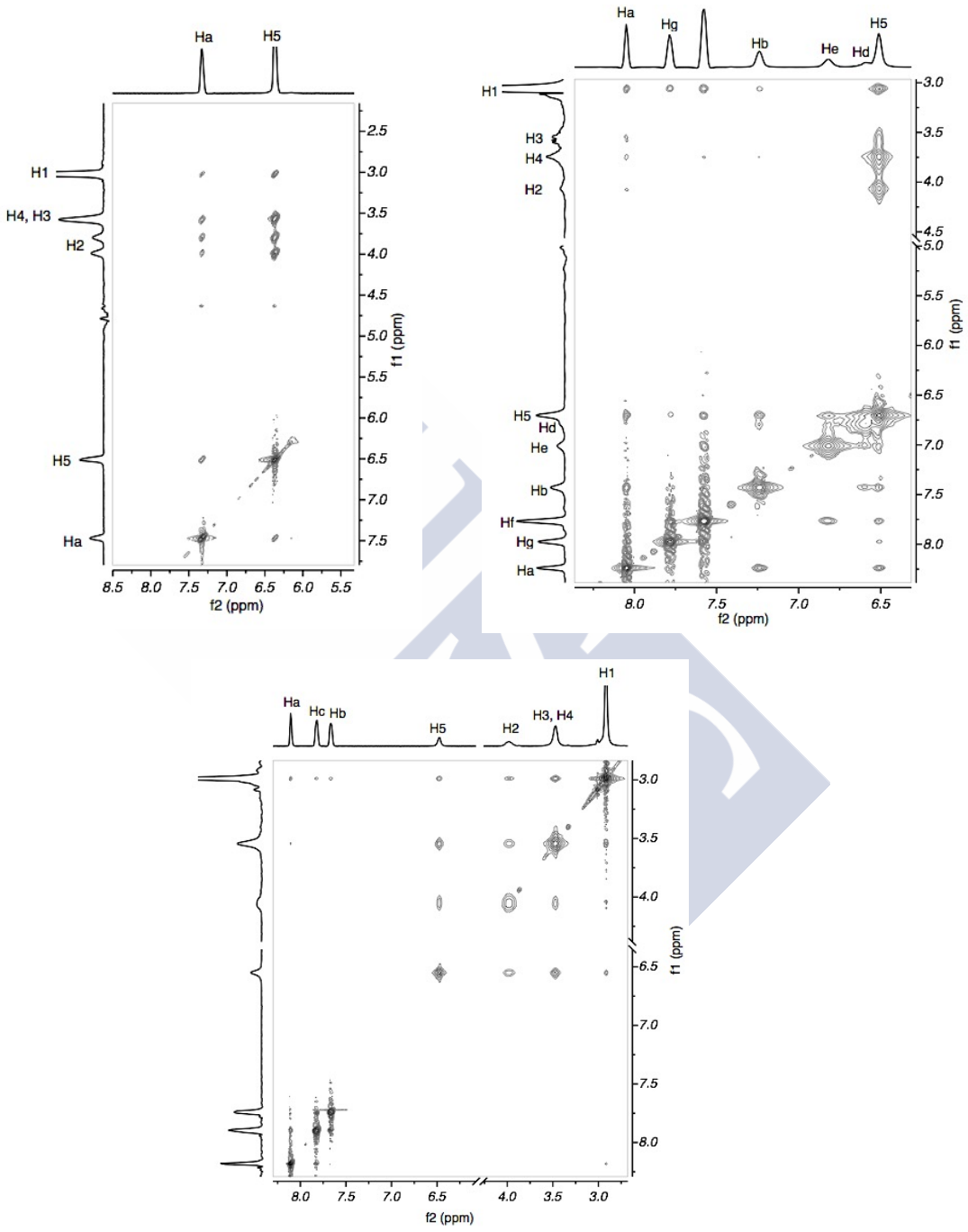


Figura 3.7. Espectros RMN 2D NOESY de (a) **H** + **G1**, (b) **H** + **G2** y (c) **H** + **G3** en D_2O con un tiempo de mezcla de 500 ms y a 5 ºC. La concentración de *host* es de 2.0 mM y la de *guest* es de 5.0 mM para **G1** y de 8.0 mM para **G2** y **G3**.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE ASOCIACIÓN Y LA ESTEQUIOMETRÍA POR ITC

Para estudiar cuantitativamente la complejación de **H** con cada *guest*, así como para obtener la estequiometría exacta de las asociaciones, se realizaron experimentos de ITC a 25 ºC y bajo condiciones acuosas neutras. Para ello, cada titulación calorimétrica se realizó mediante la adición sucesiva de una disolución de *guest* sobre una disolución de *host* en la celda de muestra. En ninguno de los experimentos los resultados de la valoración consiguieron ajustarse a un modelo de complejación simple 1:1, sin embargo, sí que se obtuvieron buenos ajustes de los resultados utilizando un modelo de complejación que tuviese en cuenta la formación de complejos *host-guest* con estequiometría 1:2. A modo de ejemplo, en la Figura 3.8 se muestra el resultado de la valoración calorimétrica obtenida para el caso de **G1**, y en la Tabla 3.2 se exponen los parámetros termodinámicos de los experimentos realizados para los 3 *guests*.

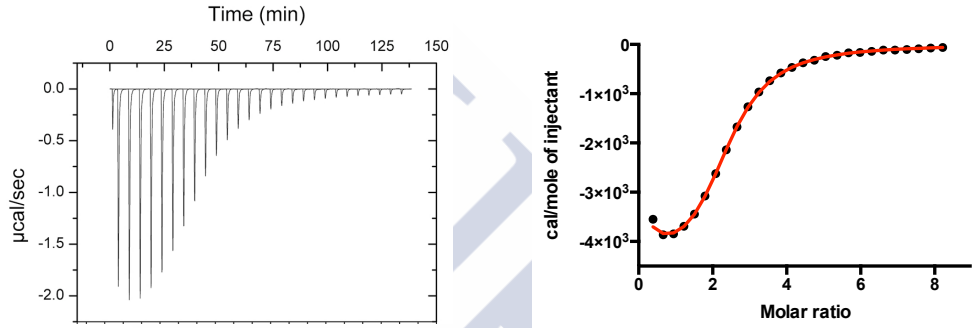


Figura 3.8. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G1** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **G1** (1.6 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (derecha) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (izquierda) y ajustado a un modelo de complejación 1:2.

En química supramolecular se sabe que interacciones como las π-π, las C-H···π, de van der Waals o la formación de enlaces de hidrógeno contribuyen favorablemente a los cambios entálpicos, mientras que la deshidratación parcial de las zonas polares de anfitrión y huésped lo hacen de manera desfavorable. En cuanto a los cambios de entropía, las interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y los procesos de desolvatación resultan en una contribución positiva, mientras que la pérdida de libertad conformacional de las especies genera una contribución negativa al proceso.

Tabla 3.2. Constantes de asociación obtenidas por ITC de la complejación de los tres *guests* con **H** (0.04 mM) en agua y a 25 ºC. Los valores obtenidos presentan un error máximo del 15%.

Guest	K(M^{-1})	ΔG^o(kJ mol^{-1})	ΔH^o(kJ mol^{-1})	$T\Delta S^o$(kJ mol^{-1})
G1	$K_{1:1}=1.04\times10^5$	-28.6	-17.5	11.1
	$K_{1:2}=6.76\times10^4$	-27.5	-26.9	0.60
G2	$K_{1:1}=4.09\times10^4$	-26.3	-20.4	5.90
	$K_{1:2}=3.20\times10^3$	-20.0	-25.4	-5.43
G3	$K_{1:1}=1.36\times10^4$	-23.6	-13.0	10.6
	$K_{1:2}=2.56\times10^2$	-13.7	-39.2	-25.5

Como se muestra en la Tabla 3.2, las constantes de asociación obtenidas confirman la formación de complejos *host-guest* altamente estables, siendo mayor la fortaleza de unión en los complejos 1:1 que en los de estequiometría 1:2. Los datos termodinámicos obtenidos indican que la complejación de **G1** por **H** está dirigida principalmente por cambios entálpicos favorables, tanto en el complejo 1:1 como en el 1:2. Sin embargo, en el caso del complejo con estequiometría 1:1 la ganancia entálpica es contrarrestada en

parte por un cambio de entropía positivo, seguramente relacionado con la liberación de las moléculas de agua que solvatan las especies. La diferencia observada en los valores entrópicos para los complejos 1:1 y 1:2 muestra que en la complejación de la primera molécula huésped los efectos de desolvatación de las partes polares de *host* y *guest* son más importantes que la pérdida de la libertad conformacional de los mismos, mientras que para la complejación de la segunda molécula de **G1** debe ocurrir lo contrario. Así, puede decirse que existen evidencias, también apoyadas por los resultados de los experimentos de RMN, de la formación de un complejo 1:2 entre **H** y **G1**, en el cual las dos moléculas huésped están bien insertadas en la cavidad del macrociclo. En el capítulo 2 se mostró un estudio detallado sobre la complejación de **H** con el *p*-toluensulfonato sódico, un *guest* que sólo se diferencia de **G1** por la presencia del grupo metilo en posición *para*.[33] En dicho estudio se concluyó que sólo una molécula de *p*-toluensulfonato se adentra en la cavidad del macrociclo, mientras que la segunda molécula huésped se compleja de manera externa. Comparando el cambio de los desplazamientos químicos de los protones en posición *meta* al grupo sulfonato de **G1** ($\Delta\delta$=-1.46 ppm) y del *p*-toluensulfonato ($\Delta\delta$=-2.37 ppm) en un relación molar *host*:*guest* 2:1, puede deducirse que **G1** está menos afectado por el espacio rico en electrones, o lo que es lo mismo, que está menos adentrado en la cavidad aromática del macrociclo, de tal forma que permite al *host* complejar internamente a las dos moléculas de **G1** de manera interna dado el menor grado de impedimento estérico.

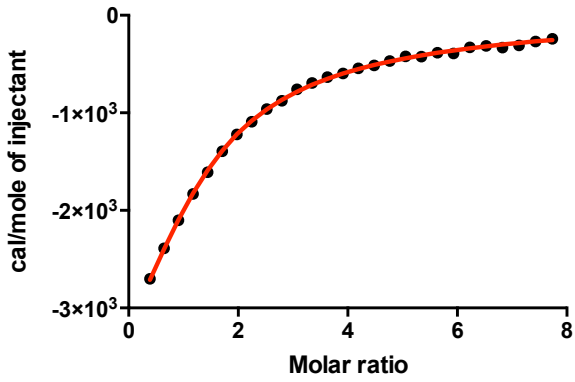


Figura 3.9. Calor "neto" producido por la complejación de **H** con **G2** ajustado a un modelo de complejación 1:2.

Como puede verse en la Tabla 3.2, las constantes de asociación obtenidas para la formación de los complejos 1:1 y 1:2 entre **H** y **G2** siguen la misma tendencia que con **G1** ($K_{1:1}$>$K_{1:2}$) (Figura 3.9). No obstante, la constante de asociación para la formación del complejo 1:1 es del orden de 2.5 veces mayor en el caso de **H**:**G1** que en el complejo **H**:**G2**. Por lo tanto, aunque **G2** tiene un anillo bencénico más que **G1**, lo que supone un mayor sistema π conjugado que podría dar lugar a más y mayores interacciones π-π con la cavidad del *host*,[33] las titulaciones calorimétricas indican que el *guest* de menor tamaño se acomoda mejor en la cavidad del *host*. El análisis de los parámetros termodinámicos revela que la diferencia en el término entrópico es la causa del decaimiento en la constante de asociación, incluso estando la complejación de la primera molécula de **G2** acompañada de un cambio entálpico altamente favorable. Además, también puede deducirse que, de manera similar a lo que ocurre con **G1**, en la formación del complejo entre **H** y **G2**, los efectos de desolvatación son más importantes en la formación del complejo 1:1, mientras que la pérdida de libertad conformacional cobra mayor importancia en la complejación de la segunda molécula de **G2**. Teniendo en cuenta que el tamaño de la cavidad de **H** es similar al de una α-ciclodextrina o al de un cucurbit[6]urilo, es razonable pensar que dos moléculas de naftaleno son demasiado voluminosas como para ser encapsuladas dentro

de la cavidad del *host*.[2,46,47] Por esta razón, lo que se propone es un modo de complejación diferente para la segunda molécula de **G2**: mientras que la primera molécula se compleja internamente en la cavidad de **H**, la inclusión de la segunda molécula de **G2** debería de ocurrir en una posición más externa del portal opuesto del macrociclo.

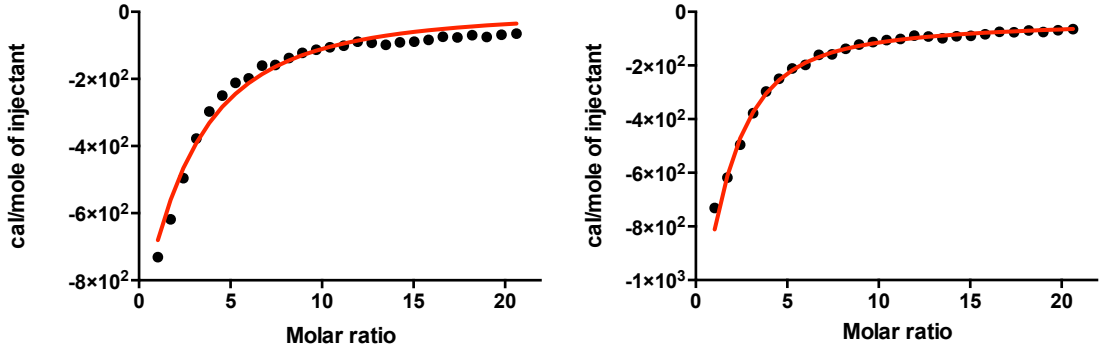


Figura 3.10. Calor "neto" producido por la complejación de **H** con **G3** ajustado a un modelo de complejación 1:1 (izquierda) y 1:2 (derecha).

Por último, en cuanto a la complejación de **G3** por **H**, aunque en un principio se intentó ajustar los resultados de la valoración microcalorimétrica a un modelo de complejación simple 1:1 (Figura 3.10), sólo se consiguió un buen ajuste empleando un modelo que considerase la complejación de dos moléculas de **G3**. Aunque para un receptor molecular con dos sitios de enlace idénticos e independientes se espera que la constante de asociación para el complejo 1:1 sea del orden de 4 veces mayor que la correspondiente al complejo 1:2, los resultados obtenidos (Tabla 3.2) muestran que ese no es el caso del pilar[5]areno. La interacción de **G1** con **H** resulta en la formación de dos complejos de inclusión con relación $K_{1:1}/K_{1:2}$=1.5, indicando un claro efecto cooperativo que podría resultar tanto de la desolvatación del *host* como de las interacciones π-π entre las 2 moléculas huésped incluidas en la cavidad del pilar[5]areno. La interacción de **G2** con **H** da lugar a la formación de un complejo interno y otro externo con relación de constantes $K_{1:1}/K_{1:2}$=12.7, como consecuencia de los diferentes modos de enlace. La complejación de **G3** por **H** exhibe una relación mucho mayor, $K_{1:1}/K_{1:2}$=53, la cual podría explicarse teniendo en cuenta las repulsiones electrostáticas entre los dos *guests* externos responsables de su disposición perpendicular.

Aunque de la complejación de **H** con **G2** y **G3** se obtienen valores similares de la constante de asociación para la formación del complejo 1:1, como se vio anteriormente los experimentos de RMN (^{1}H y NOESY) excluyen la posibilidad de que **G3** se adentre en la cavidad de **H** para formar un complejo tipo pseudorotaxano. Así, la similaridad de las constantes debería de estar principalmente relacionada con la fuerte cooperatividad de las fuerzas de atracción electrostática entre los dos grupos sulfonato y el portal catiónico de **H**.[48,49] El decaimiento observado en la constante de asociación de la segunda molécula de **G3** puede atribuirse a la contribución entrópica negativa, de tal forma que la complejación de la primera molécula de **G3** afecta considerablemente a la complejación de la segunda, pues tiene lugar una considerable pérdida de libertad conformacional.

3.3.3 SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR

Las simulaciones de dinámica molecular con relaciones molares 1:1 y 1:2 se realizaron con el objetivo de explorar las estructuras más probables que se forman por la interacción de **H** con cada uno de los *guests*.

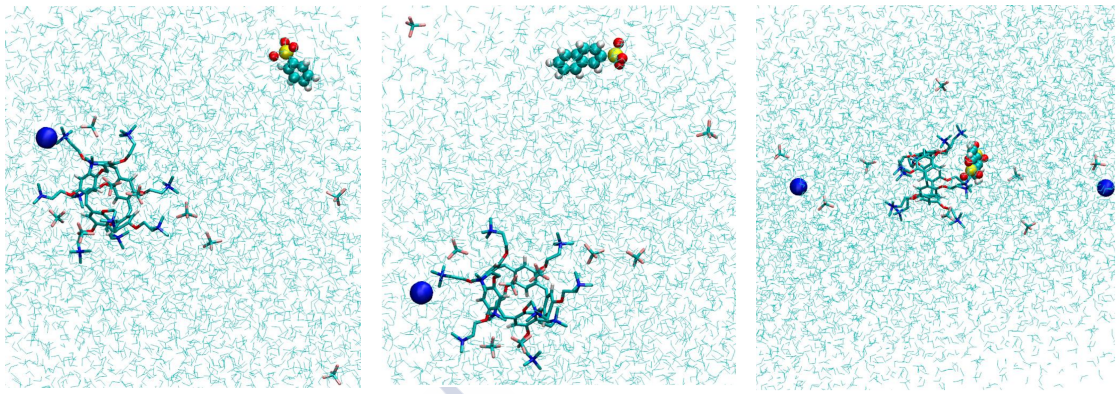


Figura 3.11. Puntos de partida para las simulaciones de dinámica molecular con **G1**, **G2** y **G3** en representación CPK y **H** en representación *stick*. Esquema de colores: carbono=cian, hidrógeno=blanco, nitrógeno=azul, azufre=amarillo y oxígeno=rojo (excepto el del agua). El tetrafluoroborato se muestra en representacion *stick* y el sodio en representación VDW. Los átomos de boro, flúor y sodio se muestran en cian, rosa y azul, respectivamente. Por simplicidad, las moléculas de agua se representan con líneas en azul claro.

La duración de cada simulación fue de 25 ns y la metodología y condiciones utilizadas son las descritas en la sección experimental. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron empezando por la incorporación de **G1**, **G2** y **G3** y los contraiones sodio en el sistema pre-equilibrado conteniendo una molécula de **H** y sus 10 contraiones tetrafluoroborato solvatados con 5300 moléculas de agua (Figura 3.11).

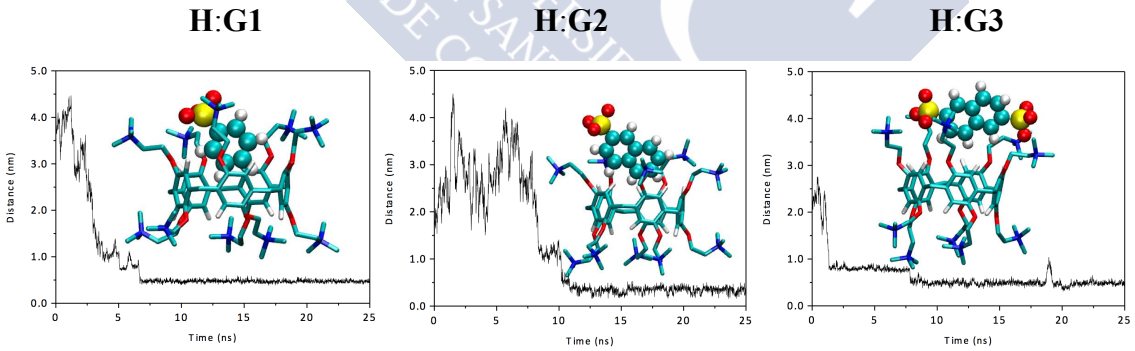
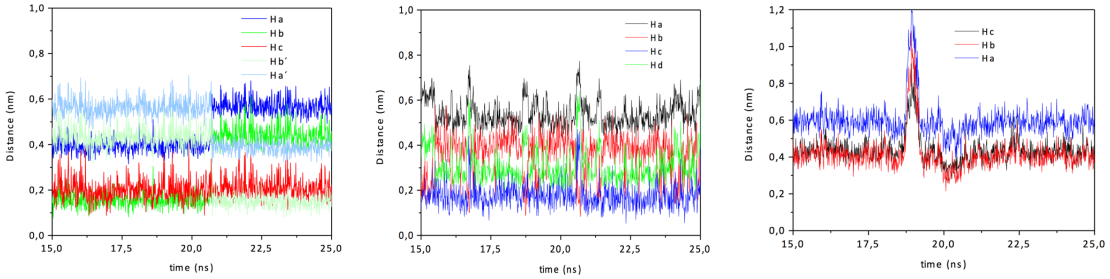


Figura 3.12. Gráficas de la distancia entre el centro de la cavidad de **H** y los carbonos Hc (**G1**), Hd (**G2**) y Hb (**G3**) en función del tiempo de cálculo. En el interior se muestra una instantánea de los complejos *host-guest* 1:1 una vez alcanzado el equilibrio.

En la Figura 3.12 se muestran los sistemas correspondientes a la estequiometría de enlace 1:1, que es la más probable bajo condiciones experimentales en las que la concentración de *host* es mucho mayor que la de *guest*. En todos los casos, el modelo muestra una interacción electrostática inicial entre los grupos sulfonato de las moléculas huésped y los grupos trimetilamonio del macrociclo. La inclusión de cada *guest* dentro de la cavidad de **H** se observa a un tiempo de trayectoria variable. La Figura 3.13 muestra las gráficas de las distancias entre los protones de los *guests* y el centro de **H** durante los últimos 10 ns de simulación. La distancia de equilibrio entre los protones Hc de **G1**, **G2** y **G3** y el centro de la cavidad es de 0.20 nm, 0.19 nm y 0.42 nm, respectivamente, dando evidencias de la formación de complejos supramoleculares estables tras alcanzar el

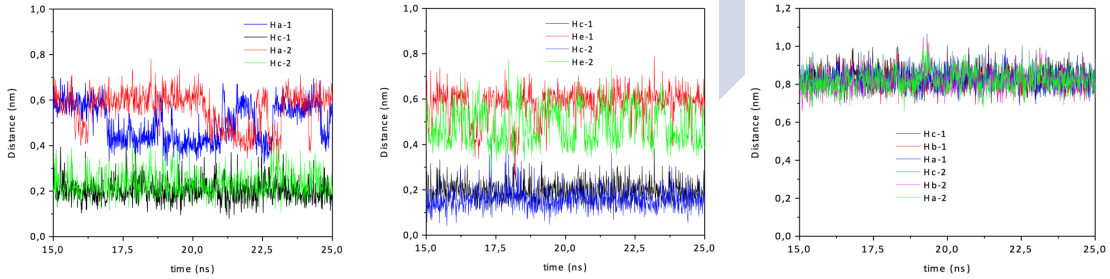
equilibrio. Adicionalmente, las distancias encontradas para los sistemas **H**:**G1** y **H**:**G2** están en concordancia con los resultados obtenidos de los experimentos de RMN, corroborando la formación de un complejo 1:1 interno de estos *guests* con **H**. La distancia observada para el sistema **H**:**G3** apoya la conclusión de que el *guest* dianiónico estará menos incluido en la cavidad del macrociclo.



H:G1 **H:G2** **H:G3**

Figura 3.13. Gráficas de la distancia entre el centro de la cavidad de **H** y los hidrógenos seleccionados de **G1**, **G2** y **G3** para el complejo host-guest 1:1, en función del tiempo de cálculo (15-25 ns).

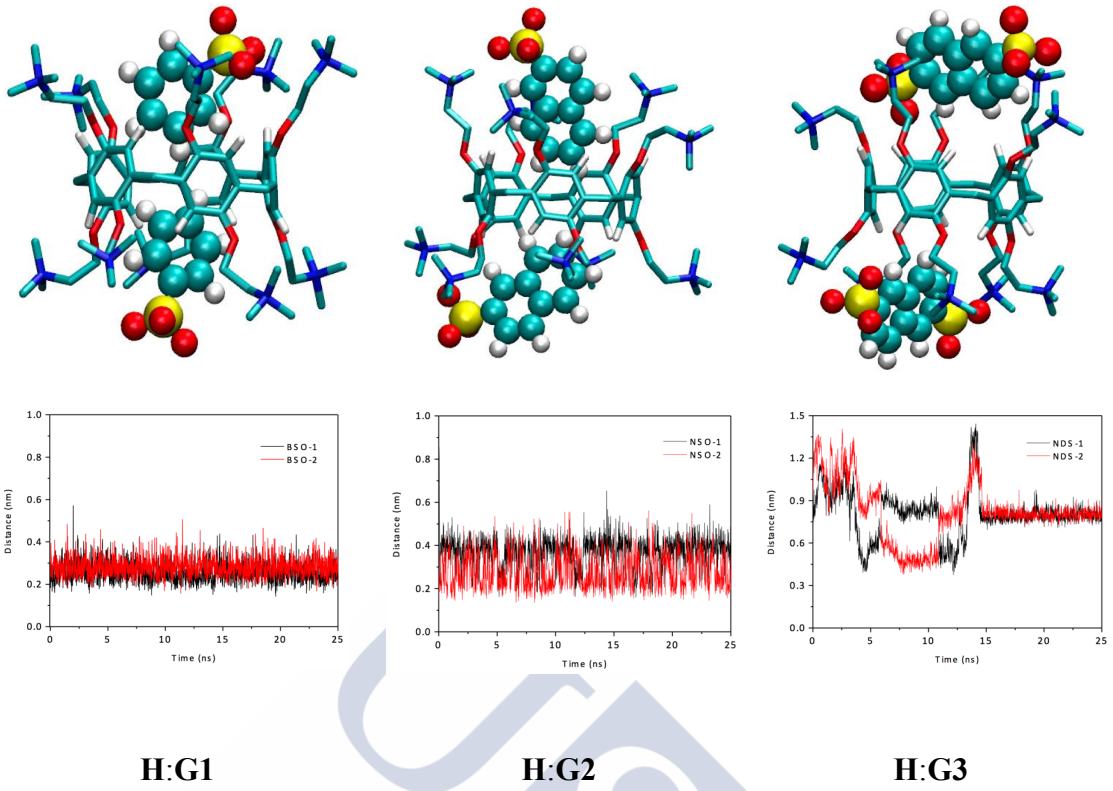
Para observar la formación de complejos supramoleculares de dos moléculas huésped con **H** se utilizaron condiciones experimentales en las que los *guests* se encuentran en un amplio exceso en comparación con el macrociclo. Con el objetivo de acelerar los cálculos, se utilizó una configuración inicial con las dos moléculas huésped dentro de la cavidad del anfitrión. Así, las distancias de equilibrio (Figura 3.14) obtenidas para las dos moléculas de **G1** fueron de 0.2 nm, apoyando así la conclusión de que ambos *guests* forman complejos de inclusión internos con **H**. Las distancias de equilibrio entre la cavidad de **H** y los protones Hc en las dos moléculas de **G2** presentan dos valores, uno ligeramente superior a 0.2 nm y otro ligeramente inferior a 0.2 nm. Sin embargo, también los protones He de **G2** presentan dos valores, de media, de 0.45 nm y de 0.6 nm para cada molécula de **G2**. Adicionalmente, la segunda molécula de **G2** muestra una mayor distribución a través de la cavidad, evidenciando así la formación de otro complejo 1:2 de menor estabilidad que el 1:1. De nuevo, estas observaciones están de acuerdo con los resultados previos obtenidos por los experimentos tanto de RMN como de ITC.



H:G1 **H:G2** **H:G3**

Figura 3.14. Gráficas de la distancia entre el centro de la cavidad de **H** y los hidrógenos seleccionados de **G1**, **G2** y **G3** para el complejo *host-guest* 1:2, en función del tiempo de cálculo (15-25 ns).

Por último, para el complejo formado entre **H** y las dos moléculas de **G3**, las distancias de equilibrio obtenidas se sitúan en el rango (0.70-0.90) nm para todos los hidrógenos, corroborando así la formación de complejos externos tanto con la primera como con la segunda molécula de **G3** (Figura 3.15).



H:**G1** **H**:**G2** **H**:**G3**

Figura 3.15. Arriba: instantáneas de los complejos *host-guest* 1:2 tras alcanzar el equilibrio. Abajo: gráficas de la distancia entre el centro de la cavidad de **H** y los carbonos Hc (**G1**), Hd (**G2**) y Hb (**G3**) en función del tiempo de cálculo.

3.4 CONCLUSIONES

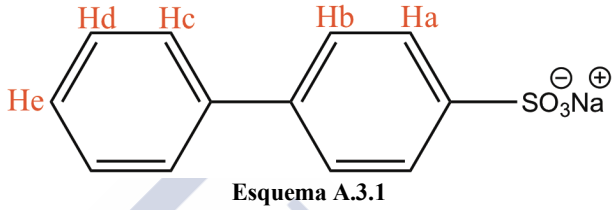
En resumen, en este capítulo se han estudiado los diferentes modos de complejación de un derivado catiónico del pilar[5]areno, el tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) con tres *guests*. Los resultados obtenidos evidencian la alta capacidad del pilarareno para formar complejos *host-guest*. Aunque la estequiometría de enlace es independiente del *guest* utilizado, se encontraron diferentes tipos de inclusión en el proceso de complejación. Los estudios de ITC y RMN demostraron una inclusión interna para los complejos 1:1 y 1:2 al utilizar **G1**, una complejación interna y otra semi-externa para **G2** y en el caso de **G3** las dos moléculas fueron complejadas externamente por el macrociclo. Hasta el momento, esta es la primera evidencia de que el pilarareno puede asociarse con dos *guests* de manera externa. Los diferentes modos de reconocimiento molecular entre el pilarareno y los *guests* podrían ser aplicados en la preparación y desarrollo de nuevos sistemas supramoleculares funcionales, incluyendo sistemas de liberación y polímeros supramoleculares sensibles a estímulos solubles en agua, medio en el que tienen lugar la gran mayoría de los procesos biológicos.

3.5 APÉNDICE

3.5.1 Complejación con otros *guests*

A continuación se muestran valoraciones de ITC y de RMN de protón que ponen de manifiesto la afinidad del tetrafluoroborato de bis[(trimetilamonio)etoxi]pilar[5]areno (**H**) hacia *guests* aniónicos de diferente forma y tamaño para la formación de complejos de inclusión.

3.5.1.1 Complejación con el 4-bifenilsulfonato sódico



Esquema A.3.1

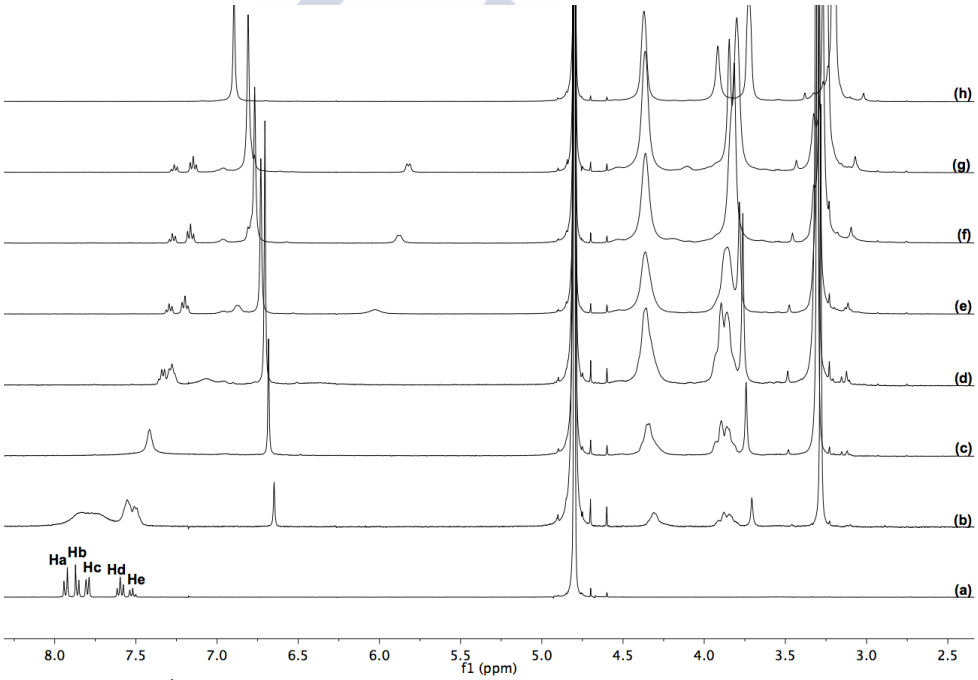


Figura A.3.1. Espectros ^{1}H RMN del 4-bifenilsulfonato sódico (1.5 mM) en presencia de mayores cantidades de **H** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.1 mM, (c) 0.5 mM, (d) 1.0 mM, (e) 1.5 mM, (f) 2.0 mM y (g) 3 mM. El espectro (h) se corresponde con **H** libre (1.5 mM).

La Figura A.3.1 muestra la valoración ^{1}H RMN del 4-bifenilsulfonato sódico (Esquema A.3.1) con **H**, de tal forma que, a una muestra de concentración constante del *guest* se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **H**. Como puede verse, los principales cambios en las señales tienen que ver con los protones del *guest*. Los protones Hd y He son los que sufren una menor variación del desplazamiento químico ($\Delta\delta$), de -0.45 y -0.27 ppm, respectivamente, mientras que los protones Ha, Hb y Hc son los más perturbados por el efecto de las corrientes de los anillos aromáticos tras la adición de **H**. Teniendo en cuenta el tamaño y la forma del 4-bifenilsulfonato sódico y por comparación con los similares experimentos realizados con el *p*-toluensulfonato sódico (ver capítulo 2), en los que la variación del desplazamiento químico varía en el orden

$\Delta\delta_{para}>\Delta\delta_{meta}>\Delta\delta_{orto}$, puede deducirse que el *guest* se sitúa bien insertado en la cavidad del *host,* con el grupo aniónico sulfonato interaccionando electrostáticamente con los grupos catiónicos trimetilamonio del *host*, Hb y Hc ubicados dentro de la cavidad aromática y Hd y He sobresaliendo por la cara opuesta del receptor macrocíclico, lo que dificultaría la complejación de una segunda molécula huésped.

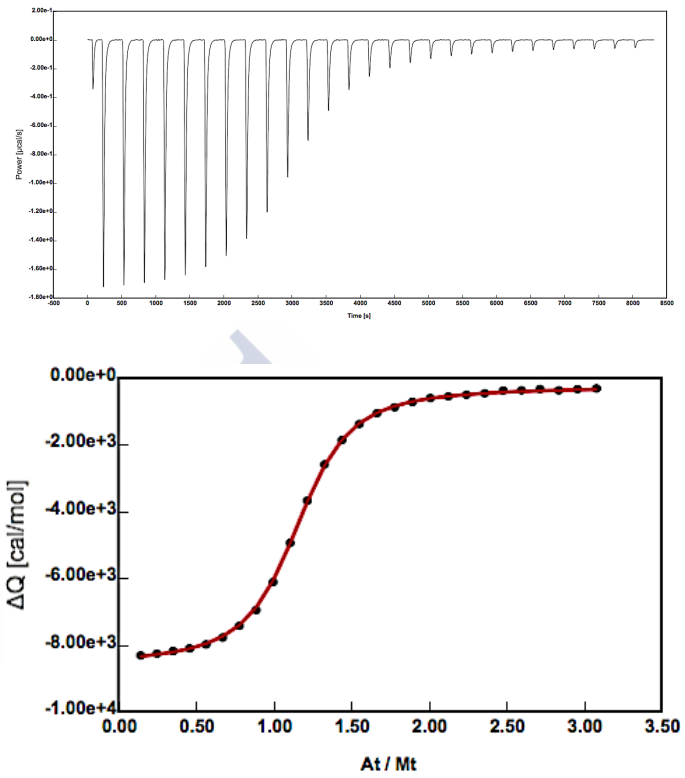
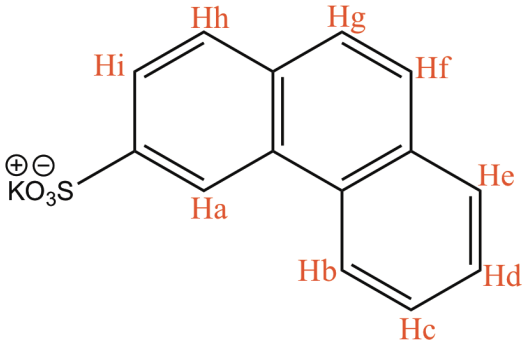


Figura A.3.2. Valoración microcalorimétrica de **H** con 4-bifenilsulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de 4-bifenilsulfonato (0.6 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

En la Figura A.3.2 se muestra el resultado de la valoración microcalorimétrica cuando, a 1459 µL de una disolución 0.04 mM de **H** se le añadieron 270 µL de una disolución 0.6 mM de 4-bifenilsulfonato sódico (añadidos gradualmente, 10 µL cada 5 minutos). Como puede verse, el calor de reacción va disminuyendo después de cada inyección de *guest*, ya que cada vez menos moléculas de *host* están disponibles para formar complejos de inclusión. Además, puede comprobarse que la isoterma de unión se ajusta perfectamente a un modelo de complejación 1:1 *"one set of binding sites",* del que se obtuvo una constante de asociación entre especies de $K = (9.53\pm0.05)\times10^5$ M^{-1}, confirmando la formación de un complejo de inclusión altamente estable.

3.5.1.2 Complejación con el 3-fenantrensulfonato potásico



Esquema A.3.2

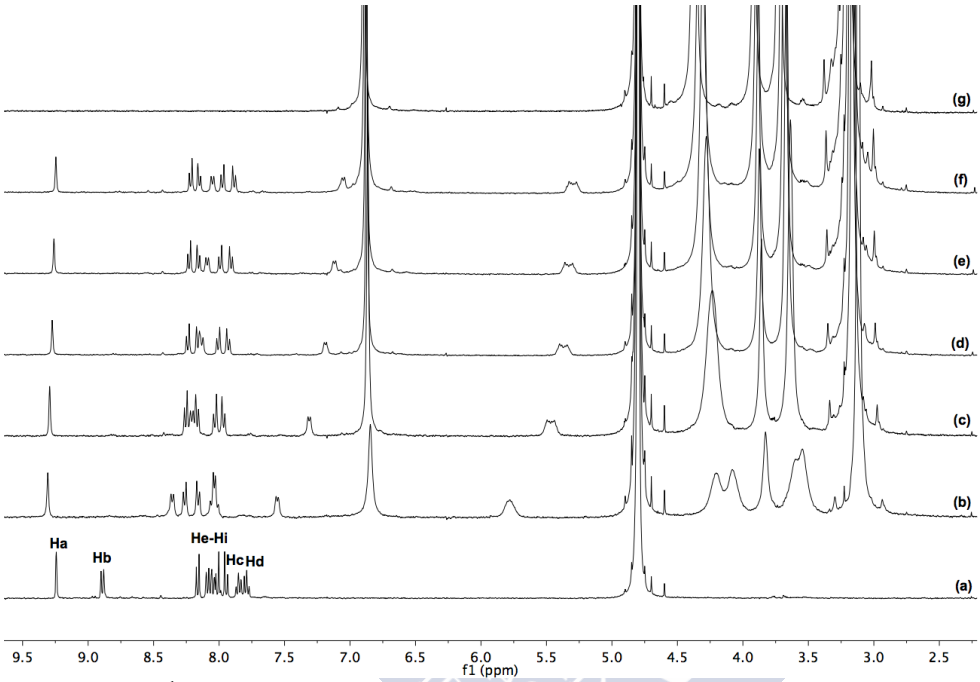


Figura A.3.3. Espectros ^{1}H RMN del 3-fenantrensulfonato potásico (1 mM) en presencia de mayores cantidades de **H** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.5 mM, (c) 1 mM, (d) 1.5 mM, (e) 2 mM y (f) 3 mM. El espectro (g) se corresponde con **H** libre (1.5 mM).

En la Figura A.3.3 se muestra la valoración ^{1}H RMN del 3-fenantrensulfonato potásico (Esquema A.3.2) con **H** de tal forma que, a una muestra de concentración constante del *guest* se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **H**. En este caso, las señales más afectadas por la formación del complejo de inclusión son las asignadas como Hc y Hd, situadas, respectivamente, en 7.85 y 7.79 ppm cuando la especie se encuentra libre en disolución acuosa y desplazándose conjuntamente a campo alto hasta 5.30 ppm cuando la concentración de macrociclo triplica la de huésped, evidenciando su localización en el interior aromático del receptor.

En la Figura A.3.4 se muestra el resultado de la valoración microcalorimétrica cuando, a 1459 µL de una disolución 0.04 mM de **H** se le añadieron 270 µL de una disolución 1.7 mM de 3-fenantrensulfonato potásico (añadidos gradualmente, 8 µL cada 5 minutos). A diferencia de lo que ocurre en la valoración son el 4-bifenilsulfonato, en este caso la isoterma de unión no pudo ajustarse a un modelo simple de complejación 1:1, sin embargo, como puede observarse, dicha isoterma si se ajusta perfectamente a un modelo de complejación que considera la asociación de dos moléculas de *guest* al receptor macrocíclico, obteniendo una constante de asociación de $K_{1:1} = (4.95\pm0.29)\times10^4$ M^{-1} para

la complejación de la primera molécula de 3-fenantrensulfonato y de $K_{1:2}$ = (4.32±0.31)×10^4 M^{-1} para la complejación de la segunda molécula por la cara opuesta. Así, el alto valor y la similaridad entre ambas constantes, junto con la información recabada durante este trabajo, hace pensar que la mezcla de **H** con el 3-fenantrensulfonato potásico produce la formación de un complejo con estequiometría 1:2 similar al que ocurre con **G1**, en el cual ambas moléculas huésped se encuentran bien insertadas en el interior de la cavidad del macrociclo.

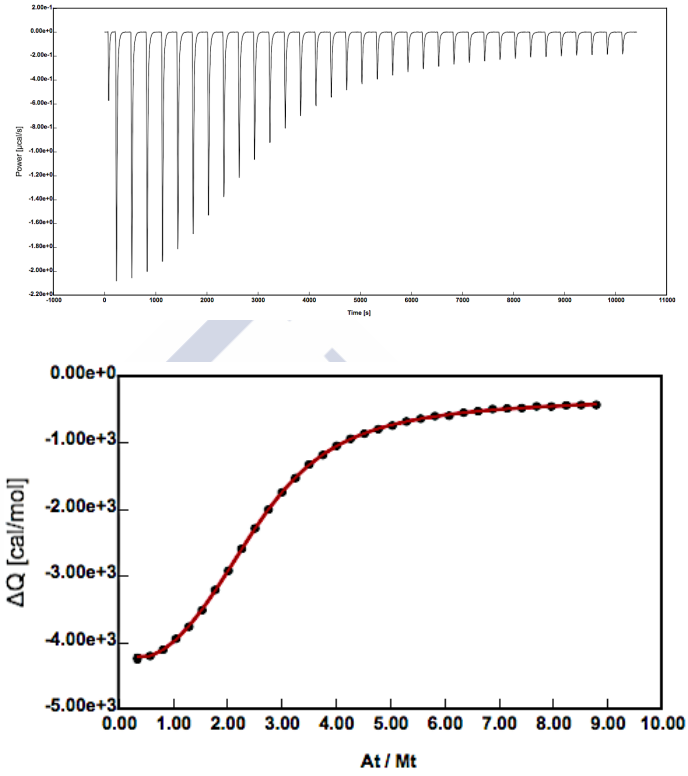
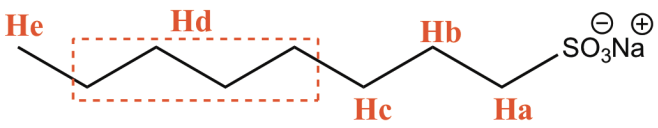


Figura A.3.4. Valoración microcalorimétrica de **H** con 3-fenantrensulfonato potásico en agua a 25 ºC. Resultado para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de 3-fenantrensulfonato (1.7 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

3.5.1.3 Complejación con alcanosulfonatos lineales

Teniendo en cuenta la alta afinidad de **H** hacia pequeñas moléculas orgánicas cargadas negativamente, se decidió estudiar la influencia del efecto hidrofóbico en la formación de los complejos de inclusión con el pilarareno utilizando una serie de alcanosulfonatos lineales con diferente longitud de cadena.



Esquema A.3.3

En la Figura A.3.5 se muestra la valoración ^{1}H RMN de **H** con el 1-octanosulfonato sódico (Esquema A.3.3) de tal forma que, a una muestra de concentración constante de

host se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de *guest*. Como puede verse, como consecuencia de la complejación, todos los protones del *guest* lineal se desplazan más o menos marcadamente hacia campo alto, sugiriendo así que éste se sitúa atravesando la cavidad del receptor macrocíclico para formar una especie de [2]pseusorotaxano. De manera similar a lo que sucede utilizando el 4-bifenilsulfonato sódico, la menor variación del desplazamiento químico se da para los protones He ($\Delta\delta$ = -0.14 ppm), mientras que el valor es muy superior para los protones asignados como Hd, que en la especie libre se encuentran agrupados en una sola señal localizada a 1.33 ppm y que, tras la adición de **H**, se desplaza hacia campo alto desdoblándose en cuatro señales bien separadas, llegando a alcanzar un valor de $\Delta\delta$ de hasta -3.60 ppm. Para el resto de señales, la variación del desplazamiento químico sigue el orden Hc>Hb>Ha, quedando definida la estructura del complejo de inclusión, con el grupo sulfonato negativo cercano a los grupos trimetilamonio positivos, los cuatro grupos metilénicos (Hd) localizados en la cavidad aromática y los protones terminales del *guest* (He) fuera de la cavidad por el portal opuesto.

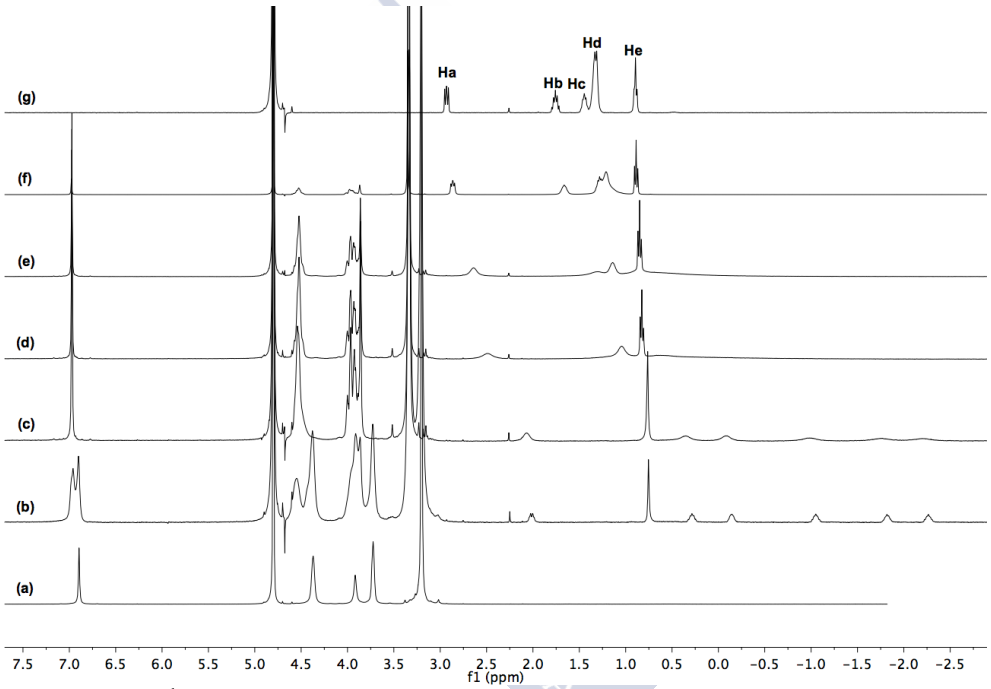


Figura A.3.5. Espectros ^{1}H RMN de **H** (1.5 mM) en presencia de mayores cantidades de 1-octanosulfonato sódico en D_2O a 25 ºC: (a) 0 mM, (b) 0.5 mM, (c) 1.5 mM, (d) 3 mM, (e) 6 mM y (f) 25 mM. El espectro (g) se corresponde con el 1-octanosulfonato sódico libre (1.5 mM).

En la Figura A.3.6 se muestra el resultado de la valoración microcalorimétrica cuando, a 1459 µL de una disolución 0.04 mM de **H** se le añadieron 270 µL de una disolución 1.7 mM de 1-octanosulfonato (añadidos gradualmente, 10 µL cada 5 minutos). Como puede observarse, la isoterma de unión se ajusta perfectamente a un modelo de complejación 1:1 *"one set of binding sites"*. Seguramente, al igual que sucede con el 4-bifenilsulfonato, el tamaño del *guest* sumado a la forma en la que éste se inserta en la cavidad del receptor macrocíclico impide la posible formación de un complejo con estequiometría superior. Además, la constante de asociación obtenida para dicho experimento (K = $(4.79\pm0.19)\times10^7$ M^{-1}) supone uno de los valores más altos obtenidos para la complejación de *guests* en disolución acuosa por este pilar[5]areno cargado positivamente. La formación del complejo podría estar dirigido principalmente por interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, pues la cavidad aromática hidrofóbica de **H** puede contener favorablemente la larga cadena alquílica del *guest* (interacciones C-H···π) y los grupos

catiónicos trimetilamonio del receptor pueden enlazarse electrostáticamente al grupo sulfonato negativo del huésped.

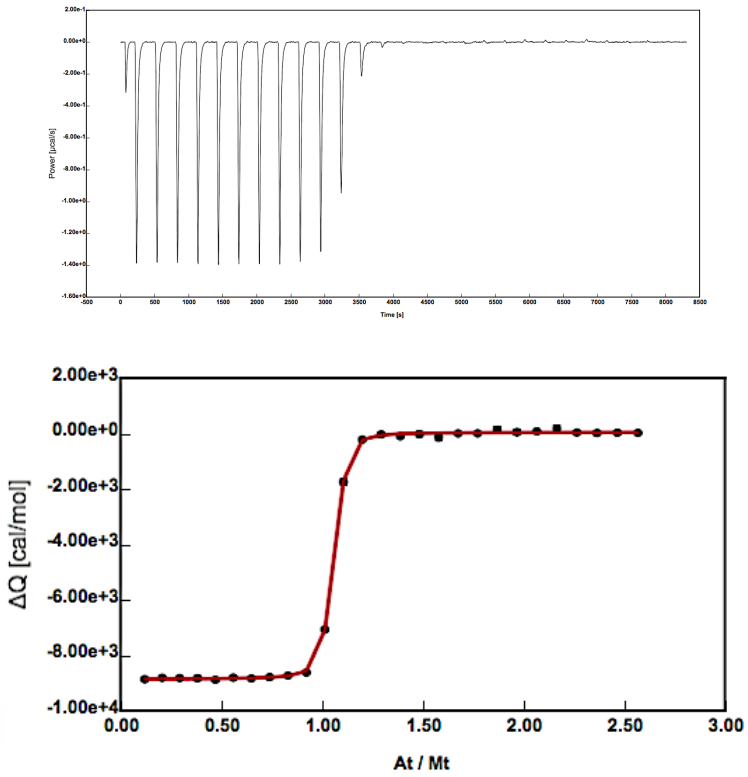
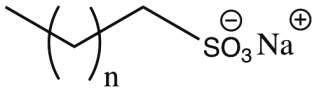


Figura A.3.6. Valoración microcalorimétrica de **H** con 1-octanosulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de 1-octanosulfonato (0.5 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).



n = 4 1-hexanosulfonato sódico
n = 3 1-pentanosulfonato sódico
n = 2 1-butanosulfonato sódico
n = 1 1-propanosulfonato sódico

Esquema A.3.4

Vistos los resultados obtenidos con el 1-octanosulfonato sódico, se decidió realizar valoraciones microcalorimétricas de **H** con alcanosulfonatos análogos de diferente longitud de cadena (Esquema A.3.4) para comprobrar el efecto de la misma en la formación de los complejos de inclusión. Los resultados se muestran en las Figuras A.3.7, A.3.8, A.3.9 y A.3.10. En todos los casos se obtuvo un buen ajuste al modelo de complejación 1:1 *"one set of binding sites"*. La Tabla A.3.1 resume las constantes de asociación obtenidas para los complejos formados entre **H** y los alcanosulfonatos lineales. Como puede verse, la constante disminuye marcadamente a medida que lo hace la longitud de la cadena del *guest* como consecuencia del peor acomodo (menos interacciones no covalentes) en la cavidad del receptor macrocíclico.

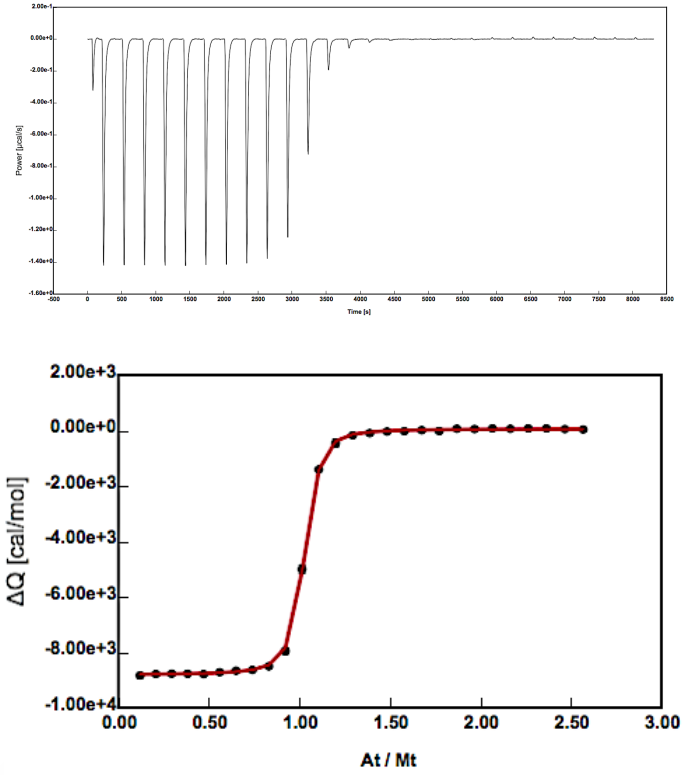


Figura A.3.7. Valoración microcalorimétrica de **H** con 1-hexanosulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de 1-hexanosulfonato (0.5 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

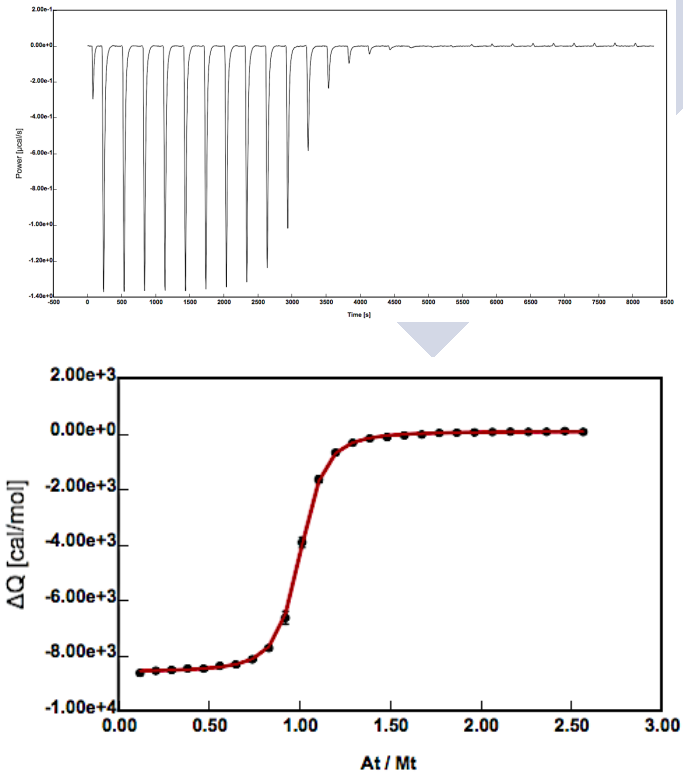


Figura A.3.8. Valoración microcalorimétrica de **H** con 1-pentanosulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de 1-pentanosulfonato (0.5 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

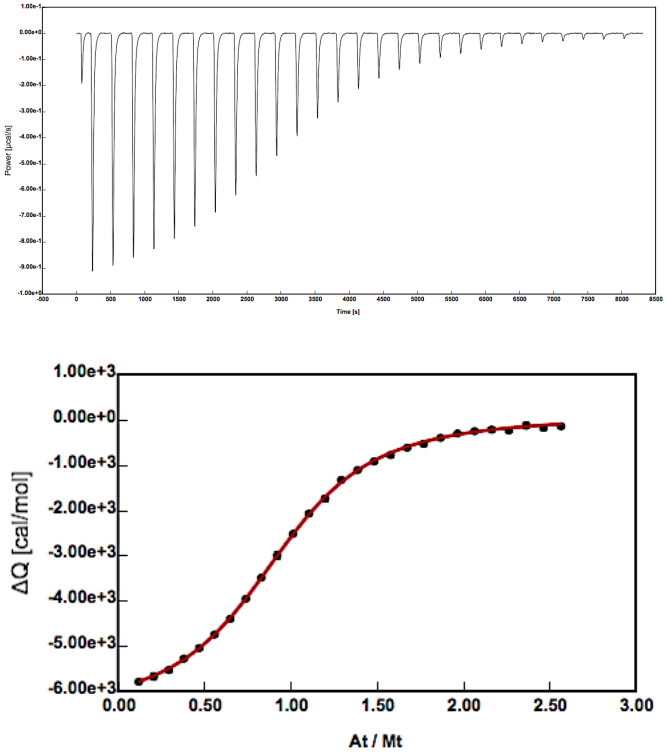


Figura A.3.9. Valoración microcalorimétrica de **H** con 1-butanosulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de 1-butanosulfonato (0.5 mM) sobre una disolución de **H** (0.04 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

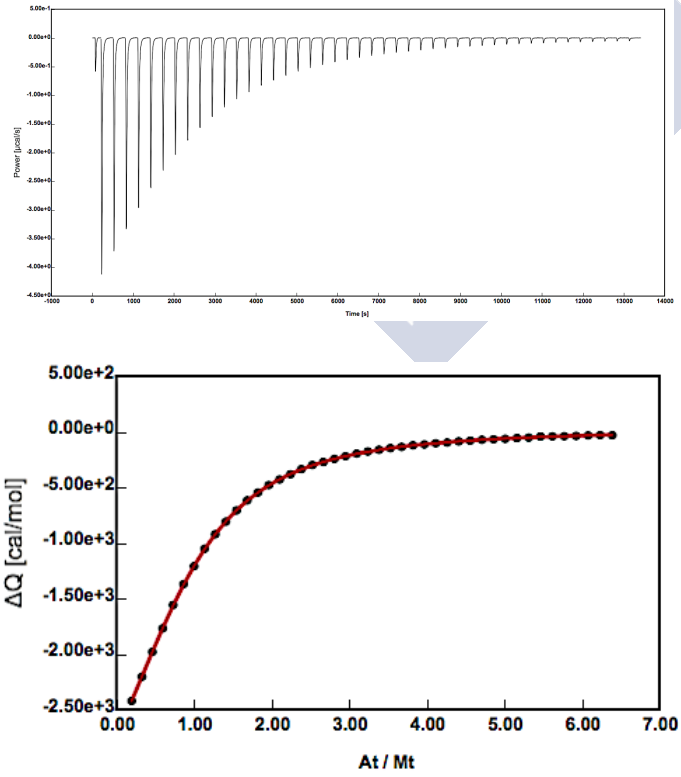


Figura A.3.10. Valoración microcalorimétrica de **H** con 1-hexanosulfonato sódico en agua a 25 ºC. Resultado para 45 inyecciones secuenciales (6 µL por inyección) de una disolución de 1-hexanosulfonato (8 mM) sobre una disolución de **H** (0.25 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

Tabla A.3.1. Valores de las constantes de asociación obtenidas por ITC para la complejación de diferentes alcanosulfonatos lineales con **H** en agua a 25 ºC.

Guest	*K* (M^{-1})
1-octanosulfonato	$(4.79\pm0.19)\times10^{7}$
1-hexanosulfonato	$(1.67\pm0.03)\times10^{7}$
1-pentanosulfonato	$(5.89\pm0.04)\times10^{6}$
1-butanosulfonato	$(2.63\pm0.02)\times10^{5}$
1-propanosulfonato	$(7.22\pm0.01)\times10^{3}$

En la Figura A.3.11 se muestran representadas las constantes de asociación obtenidas para cada alcanosulfonato tanto en presencia de **H** como de β-ciclodextrina.[50] Comparando ambos casos, además de que en todos la afinidad es mucho mayor utilizando el pilarareno que empleando el receptor macrocíclico derivado de monosacáridos, puede verse que también existe una fuerte relación entre *K* y la longitud de la cadena de los surfactantes. Con el aumento de la cadena alquílica de los *guests* aumenta también el carácter hidrofóbico y, consecuentemente, lo hace su afinidad por el interior del *host*. Por lo tanto, a la vista de los resultados, puede decirse que la formación de fuertes complejos *host-guest* entre **H** y los alcanosulfonatos lineales no sólo se debe a las interacciones electrostáticas, sino que el efecto hidrofóbico también parece tener un papel muy importante en la estabilidad de los mismos.

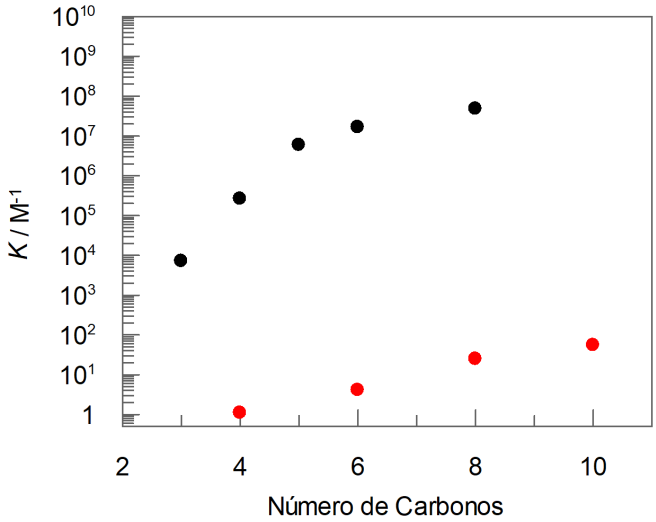


Figura A.3.11. Valores de las constantes de asociación para cada alcanosulfonato en presencia de **H** (en negro) y de β-CD (en rojo). Los datos de la β-CD se obtuvieron de la bibliografía (Ref. 50).

3.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Davis, F.; Higson, S. *Macrocycles: Construction, Chemistry and Nanotechnology Applications,* John Wiley & Sons, Ltd, Hoboken, **2011**.

(2) Xue, M. I. N.; Yang, Y.; Chi, X.; Zhang, Z.; Huang, F. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1294-1308.

(3) Cragg, P. J.; Sharma, K. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 597-607.

(4) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *15*, 2961-2975.

(5) Cao, D.; Meier, H. *Asian J. Org. Chem.* **2014**, *3*, 244-262.

(6) Zhang, H.; Zhao, Y. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16862-16879.

(7) Tan, L.-L.; Yang, Y.-W. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2015**, *81*, 13-33.

(8) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Schneebeli, S. T.; Stoddart, J. F. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2631-2642.

(9) Ogoshi, T.; Ueshima, N.; Sakakibara, F.; Yamagishi, T.-A.; Haino, T. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2896-2899.

(10) Li, C.; Shu, X.; Li, J.; Chen, S.; Han, K.; Xu, M.; Hu, B.; Yu, Y.; Jia, X. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8458-8465.

(11) Zhang, H.; Ma, X.; Nguyen, K. T.; Zhao, Y. *ACS Nano* **2013**, *7*, 7853-7863.

(12) Yu, G.; Yu, W.; Mao, Z.; Gao, C.; Huang, F. *Small* **2015**, *11*, 919-925.

(13) Deng, H.; Shu, X.; Hu, X.; Li, J.; Jia, X.; Li, C. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4609-4612.

(14) Shu, X.; Chen, S.; Li, J.; Chen, Z.; Weng, L.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2967-2969.

(15) Han, C.; Gao, L.; Yu, G.; Zhang, Z.; Dong, S.; Huang, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2529-2532.

(16) Kou, Y.; Cao, D.; Tao, H.; Wang, L.; Liang, J.; Chen, Z.; Meier, H. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2013**, *77*, 279-289.

(17) Han, C.; Yu, G.; Zheng, B.; Huang, F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1712-1715.

(18) Li, C.; Chen, S.; Li, J.; Han, K.; Xu, M.; Hu, B.; Yu, Y.; Jia, X. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11294-11296.

(19) Asfari, Z.; Bohmer, V.; Harrowfield, J.; Vicens, J. *Calixarenes*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **2001**.

(20) Kim, K.; Selvapalam, N.; Oh, D. H. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2004**, *50*, 31-36.

(21) Kim, K.; Selvapalam, N.; Ko, Y. H.; Park, K. M.; Kim, D.; Kim, J. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 267-279.

(22) Li, C. J.; Ma, J. W.; Zhao, L.; Zhang, Y. Y.; Yu, Y. H.; Shu, X. Y.; Li, J.; Jia, X.

S. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1924-1926.

(23) Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710.

(24) Yu, G.; Zhou, X.; Zhang, Z.; Han, C.; Mao, Z.; Gao, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19489-19497.

(25) Hu, X.-B.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J.-L. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696.

(26) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(27) Zhang, Z.; Luo, Y.; Chen, J.; Dong, S.; Yu, Y.; Ma, Z.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1397-1401.

(28) Li, C. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12420-12433.

(29) Wang, S.; Wang, Y.; Chen, Z.; Lin, Y.; Weng, L.; Han, K.; Li, J.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 3434-3437.

(30) Li, C.; Wang, Y.; Ping, G. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 9858-9872.

(31) Ma, Y.; Xue, M.; Zhang, Z.; Chi, X.; Huang, F. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4532-4535.

(32) Wu, G.; Shi, B.; Lin, Q.; Li, H.; Zhang, Y.; Yao, H.; Wei, T. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 4958-4963.

(33) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; García-Río, L.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12123-12132.

(34) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(35) Ma, Y.; Yang, J.; Li, J.; Chi, X.; Xue, M. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 23953-23956.

(36) Yakimova, L. S.; Shurpik, D. N.; Gilmanova, L. H.; Makhmutova, A. R.; Rakhimbekova, A.; Stoikov, I. I. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 4233-4238.

(37) Ma, Y.; Xue, M.; Zhang, Z.; Chi, X.; Huang, F. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 4532-4535.

(38) Pronk, S.; Pálll, S.; Schulz, R.; Larsson, P.; Bjelkmar, P.; Apostolov, R.; Shirts, M. R.; Smith, J. C.; Kasson, P. M.; Van Der Spoel, D.; Hess, B.; Lindahl, E. *Bioinformatics* **2013**, *29*, 845-854.

(39) Schmid, N.; Eichenberger, A. P.; Choutko, A.; Riniker, S.; Winger, M.; Mark, A. E.; Van Gunsteren, W. F. *Eur. Biophys. J.* **2011**, *40*, 843-856.

(40) Berendsen, H. J. C.; Grigera, J. R.; Straatsma, T. P. *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 6269-6271.

(41) Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; Van Gunsteren, W. F.; DiNola, A.; Haak, J. R. *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684-3690.

(42) Hess, B.; Bekker, H.; Berendsen, H. J. C.; Fraaije, J. G. E. M. *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 1463-1472.

(43) Miyamoto, S.; Kollman, P. A. *J. Comput. Chem.* **1992**, *13*, 952-962.

(44) Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 10089-10092.

(45) Arena, G.; Gentile, S.; Gulino, F. G.; Sciotto, D.; Sgarlata, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7091-7094.

(46) Hapiot, F.; Tilloy, S.; Monflier, E. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 767-781.

(47) Lee, J. W.; Samal, S.; Selvapalam, N.; Kim, H.-J.; Kim, K. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 621-630.

(48) Chen, W.; Zhang, Y.; Li, J.; Lou, X.; Yu, Y.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7956-7958.

(49) Qian, H.; Guo, D.-S.; Liu, Y. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 5087-5095.

(50) Cepeda, M.; Daviña, R.; García-Río, L.; Parajó, M. *Chem. Phys. Lett.* **2010**, *499*, 70-74.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 4

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 4

4. RECONOCIMIENTO DE ANIONES POR PILAR[5]ARENOS CATIÓNICOS

4.1 INTRODUCCIÓN

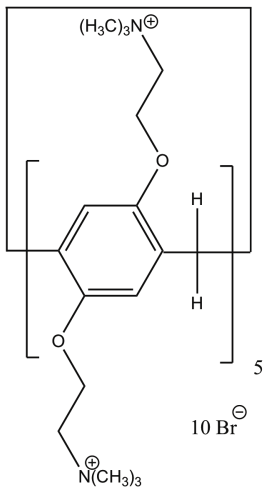
Los pilar[5]arenos son una nueva familia de receptores macrocíclicos con forma de pilar formados por la unión de unidades aromáticas. Vistos de costado, los pilar[5]arenos muestran una estructura cilíndrica completamente simétrica, mientras que una vista desde lo alto enseña una estructura pentagonal regular altamente simétrica.[1–3] Mientras que en los calixarenos las unidades fenólicas están unidas entre sí a través de puentes metileno en sus posiciones *meta*, en los pilararenos las unidades repetitivas se conectan entre sí mediante puentes metileno en sus posiciones 2- y 5- (posiciones *para*), siendo ésta la diferencia que hace que los pilararenos posean portales "abiertos" a ambos lados. Como resultado de que los pilararenos estén formados por anillos preorganizados de hidroquinona, éstos poseen una cavidad rica en electrones π que le permite interaccionar fuertemente con especies pobres en electrones. Además, la sustitución en ambos portales afecta a sus propiedades físicas, tales como la solubilidad, la conformación y las propiedades *host-guest*.[4] Los pilararenos con unidades funcionalizadas con bromo, las cuales pueden obtenerse mediante la ciclación de 1,4-dialcoxibenceno con dos grupos bromo, son buenos compuestos intermedios ya que mediante eterificaciones y cationizaciones dan lugar a varios *hosts* per-funcionalizados, de tal forma que la reacción del análogo decabromado con piridina, 1-metilimidazol, amina y tributilfosfina proporciona los respectivos pilar[5]arenos catiónicos.[5–9] Así, los pilararenos conteniendo unidades iónicas en todas sus posiciones de reconocimiento adquieren solubilidad en agua y, consecuentemente, su complejación con una gran variedad de diferentes moléculas *guest* ya ha sido investigada en medio acuoso. Como era de esperar, cuando se evaluaron moléculas iónicas cargadas opuestamente como *guests* con *hosts* de este tipo, se encontró que las interacciones electrostáticas catión/anión contribuyen significativamente a la estabilización de los complejos resultantes. De esta forma, los pilar[5]arenos solubles en agua poseyendo sustituyentes catiónicos pueden formar fuertes complejos *host-guest* con una gran variedad de aniones,[8,10,11] en los cuales la combinación tanto de interacciones electrostáticas como de interacciones hidrofóbicas/hidrofílicas son responsables de la alta estabilidad de los complejos formados, permitiendo de esta forma que los pilar[5]arenos catiónicos sean considerados como unos excelentes receptores de aniones en agua pura.

El reconocimiento de aniones por receptores moleculares sintéticos se ha convertido en una de las áreas más importantes de la química supramolecular debido al importante rol que juegan éstos en numerosos procesos biológicos y medioambientales.[12–14] El reconocimiento, transporte o transformación de aniones son procesos que están involucrados en cierto nivel en casi todas las operaciones biomédicas concebibles. Por ejemplo, es esencial en la formación de la mayoría de los complejos enzima-sustrato y enzima-cofactor, así como en la interacción entre proteínas y el ADN o el ARN. Los

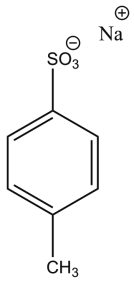
canales y transportadores de aniones están implicados en el transporte de pequeños aniones como cloruro, fosfato o sulfato que sirven para regular el flujo de importantes metabolitos dentro y fuera de las células, manteniendo así el balance osmótico. La naturaleza usa muchas de las herramientas, como los enlaces de hidrógeno, las interacciones electrostáticas, la complementariedad forma/tamaño, la formación de complejos metal-anión o la hidrofobicidad, las cuales los químicos actualmente emplean para llevar a cabo el reconocimiento de aniones. El diseño de receptores de aniones es un reto particularmente desafiante cuando se compara con el diseño de receptores para cationes.[15] La química de coordinación de aniones en agua está dominada principalmente por receptores cargados positivamente,[16] a menudo conteniendo múltiples cargas o empleando coordinación de un metal para enlazar aniones debido a que generalmente se creyó que sólo los tipos de interacción más fuerte podrían permitir al receptor competir con la solvatación de los aniones.

La gran mayoría de componentes moleculares que son diseñados para juntarse en forma de complejos supramoleculares y sistemas mecanoestereoquímicos típicamente poseen uno o más átomos formalmente cargados en el *host*, el *guest*, o incluso en ambos.[17–19] Estas especies cargadas participan activamente, con sus contraiones asociados, en la formación de sistemas ordenados de más tamaño. La competición entre el *guest* y los contraiones por los sitios de enlace de los *hosts* catiónicos también puede contribuir a los efectos observados del contraión. Si los contraiones, como los PF_6^-, son débilmente coordinantes, rigurosos estudios cuantitativos han revelado que la complejación *host-guest* no se ve relativamente afectada por la presencia de contraiones, indicando que no existe una competencia entre el *guest* y el contraión por el *host*.[20] Por supuesto, estas conclusiones son específicas para el *host*, el *guest*, el contraión y las condiciones de la investigación, de tal forma que cada sistema necesita ser estudiado de forma individual con el objetivo de determinar los efectos competitivos, si los hay, del contraión. Si la disociación del par iónico debe de tener lugar antes de que ocurra la asociación *host-guest*,[21,22] entonces debe de existir un proceso competitivo entre el *guest* y el contraión por las especies *hosts*, el cual debe de contribuir significativamente a los fenómenos de asociación *host-guest* observados.

P5A



TS



Esquema 4.1

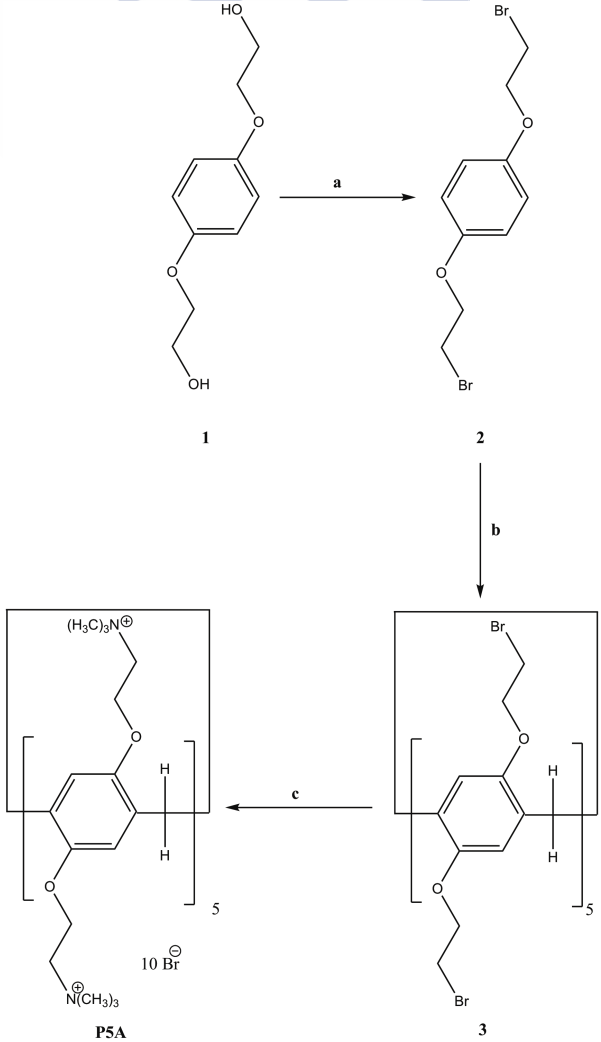
Así, este capítulo está dedicado al análisis de la complejación del contraión por el **P5A** y su efecto en el reconocimiento de aniones orgánicos en medio acuoso. Como se mostrará, el **P5A** tiene la capacidad de incorporar hasta diez contraiones Br^-, resultando

en una familia de receptores catiónicos **P5A** con carga neta que va desde 10^+ hasta la neutra según aumenta la concentración de pilarareno. El estudio muestra que la complejación de Br^- por el **P5A** en agua pura puede ser tan eficiente como la de los criptandos,[23,24] con constantes de asociación que van disminuyendo según la incorporación consecutiva de iones bromuro. La adición de un *guest* aniónico externo, el *p*-toluensulfonato sódico (**TS**) (Esquema 4.1), resulta en unas constantes de asociación aparentes que están fuertemente afectadas por la concentración de pilarareno. Este efecto es consecuencia de la diferente capacidad de reconocimiento del pilarareno en función de su carga neutralizada por el contraión.

4.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención del **P5A** se muestra en el Esquema 4.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice del capítulo 2 (2.5.1).



Esquema 4.2

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN fueron adquiridos a 25 ºC en un espectrómetro Varian Inova 400. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular las constantes de complejación del sistema (K), se utilizó el *software* AFFINIMETER partiendo de la curva de valoración. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

Electrodo Selectivo de Iones. Para estudiar la capacidad del **P5A** de enlazar iones se utilizó un electrodo selectivo de iones bromuro (Mettler Toledo, DX280-Br).

Fluorescencia. Todas las medidas de fluorescencia se realizaron en disoluciones acuosas en cubetas de cuarzo de 1 cm^2 utilizando un fluorímetro Varian Cary Eclipse equipado con portacubetas múltiple y termostatizado a una temperatura constante de 25 ºC y a una longitud de onda de excitación de 368 nm.

Absorción. Los espectros de absorción se registraron en un espectrofotómetro UV-Visible Varian Cary 500 equipado con un sistema de termostatización de cubetas por flujo de agua que garantiza una temperatura constante (± 0.1 ºC).

Notación utilizada a lo largo del capítulo:

- Constante de asociación del bromuro al $(P5A)^{10+}$ (con unidades M^{-1}): $K^{Br}_{(P5A)^{10+}}$
- Constante de intercambio iónico toluensulfonato/bromuro al $(P5ABr)^{9+}$ (adimensional): $K^{TS/Br}_{(P5ABr)^{9+}}$
- Constante de asociación entre el toluensulfonato y el $(P5ABr)^{9+}$ (con unidades M^{-1}): $K^{TS}_{(P5ABr)^{9+}}$
- Constantes microscópicas de asociación del bromuro a una cara vacía u ocupada (con unidades M^{-1}): K_0^{Br}, K_1^{Br} , K_2^{Br} , etc.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Uno de los problemas que presenta la utilización de receptores cargados es la omnipresencia de los contraiones, los cuales compiten con el sustrato de interés para su complejación. Por esta razón, en primer lugar, se decidió estudiar el grado de complejación del Br^- con el **P5A** y su consecuente neutralización de carga, de tal forma que, una vez se cuantifica el porcentaje de las diferentes estructuras **P5A**:$(Br^-)_n$ presentes en las condiciones experimentales, el reconocimiento de un *guest* externo puede ser analizado correctamente.

4.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN BROMURO

Un electrodo selectivo de iones (ESI) contiene una membrana sensible que responde más o menos selectivamente a un determinado ion, y que está en contacto por una parte con una disolución del ion a determinar y, por otra, generalmente con una disolución del mismo (a una actividad fija), la cual está a su vez en contacto con un electrodo de referencia, cuya función es proporcionar un potencial constante frente al que poder medir las variaciones debidas al electrodo selectivo indicador, de tal forma que cuando se sumerge el electrodo selectivo en la muestra, en su membrana se desarrolla un potencial debido a una reacción selectiva y espontánea, que es función de la composición de las disoluciones en ambos lados.

Cuando se utiliza un ESI, una de las interferencias del método tiene que ver con el estado en el que se encuentra el ion a determinar. Si la especie a medir no está "libre", es decir está enlazada o adsorbida a otras especies, ésta no puede ser medida. De esta forma, el bromuro sin complejar (libre) en disoluciones de **P5A** puede ser obtenido con un ESI de Br^- por comparación con una curva de calibrado obtenida con NaBr (ver apéndice 4.5.1 y 4.5.2). Como puede observarse, el potencial obtenido en presencia de **P5A** (considerando la estequiometría total, la concentración de bromuro es 10 veces mayor que la concentración de pilarareno) es siempre mayor que los valores obtenidos para la curva de calibrado, indicando que no todo el contraión bromuro está disociado. Así, con simples consideraciones estequiométricas se puede calcular la concentración de contraiones bromuro que está asociada al macrociclo, con la consecuente neutralización parcial de las cargas. El porcentaje de contraión asociado, o lo que es lo mismo, el porcentaje de carga neutralizada por el pilarareno, aumenta con la concentración de **P5A** debido a su estequiometría, que resulta en que el bromuro total es igual a 10 veces la concentración de pilarareno.

La Figura 4.1 muestra la concentración de contraión enlazado, siendo ésta importante en todo el rango de concentraciones de pilarareno comprendidas entre 0.1 μM y 5 mM. Un análisis más detallado muestra que 0.26 contraiones bromuro están siendo enlazados al receptor macrocíclico para una concentración de **P5A** de 0.31 μM, que aumenta hasta 5 contraiones bromuro enlazados cuando la concentración de **P5A** es superior a 1 mM. En el capítulo 2 se mostró, mediante experimentos RMN-DOSY de ^{19}F, que el **P5A** (con aniones tetrafluoroborato como contraiones) llegaba a enlazar hasta el 50 % de sus contraiones.[10] En el mismo, la necesidad de altas concentraciones para los experimentos de RMN hizo imposible el estudio cuantitativo que se muestra en este capítulo utilizando contraiones bromuro.

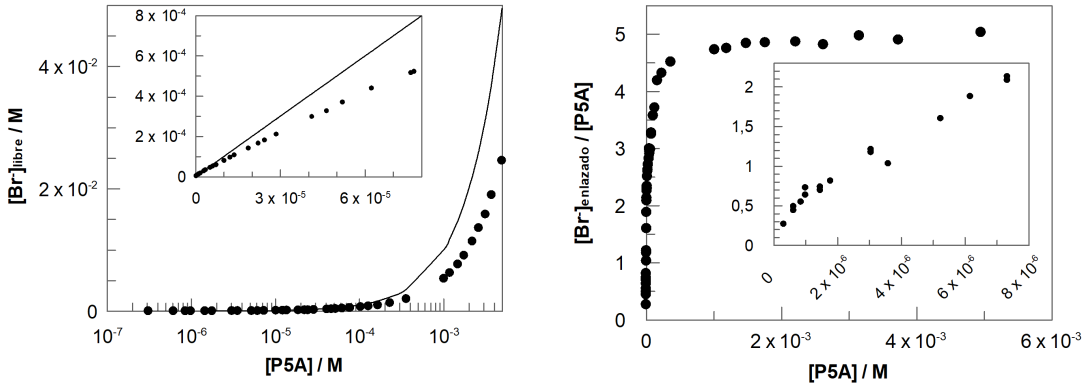
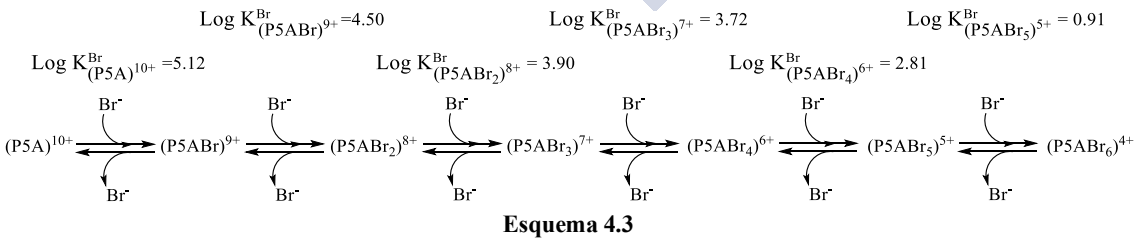


Figura 4.1. Izquierda: Influencia de la concentración de **P5A** en la cantidad de bromuro sin complejar. La línea negra muestra dicha influencia si todo el bromuro estuviese libre. Derecha: Número de contraiones bromuro enlazados por receptor macrocíclico.

La inhibición de la fluorescencia de la lucigenina por iones cloruro y bromuro ha sido ampliamente utilizada para investigar el transporte a través de bicapas.[25–28] Esta metodología puede ser utilizada para analizar la concentración de iones bromuro disociados en función de la concentración de **P5A**. De esta forma, se encontró una concordancia cuantitativa entre las concentraciones de iones bromuro asociados al **P5A** obtenidos con el ESI y mediante la metodología de *quenching* de la lucigenina (ver apéndice 4.5.4). Debido a la mayor sensibilidad de la metodología del ESI en comparación con el *quenching* de la fluorescencia de la lucigenina, se centrará en esta técnica para la determinación de las constantes de complejación de los contraiones.

A la vista de los resultados, puede decirse que cuando tenemos el **P5A** en disolución, en realidad lo que tenemos es una mezcla de receptores catiónicos con diferente fracción de carga neutralizada, que incluyen desde el receptor totalmente libre disponiendo de 10 cargas positivas, $(\boldsymbol{P5A})^{\mathbf{10+}}$, para muestras muy diluidas, hasta su análogo con 5 bromuros enlazados, $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{\mathbf{5+}}$, para muestras más concentradas. Este no es un hecho trivial, pues es lógico pensar que, a la hora de enlazarse con otros guests, en nuestro caso de estudio con el *p*-toluensulfonato sódico, la especie $(\boldsymbol{P5A})^{\mathbf{10+}}$ formará complejos de inclusión más fuertes y estables que la especie $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{\mathbf{5+}}$. Así, el análisis cuantitativo de los resultados mostrados en la Figura 4.1 se realizó proponiendo la complejación consecutiva de contraiones bromuro por el **P5A** que se muestra en el Esquema 4.3. El grado de contraión enlazado superior al 60 % no se tiene en cuenta, de acuerdo a los resultados de la Figura 4.1 (ver apéndice 4.5.3).



Esquema 4.3

Tabla 4.1. Constantes de equilibrio para la complejación del bromuro al pilarareno diferentemente cargado.

$K^{Br}_{(P5A)^{10+}}$ /M^{-1}	$K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}}$ /M^{-1}	$K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}}$ /M^{-1}	$K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}}$ /M^{-1}	$K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}$ /M^{-1}	$K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}$ /M^{-1}
(1.32±0.20)x10^5	(3.16±0.18)x10^4	(7.89±0.34)x10^3	(5.25±0.21)x10^3	(6.47±0.17)x10^2	8.21±1.36

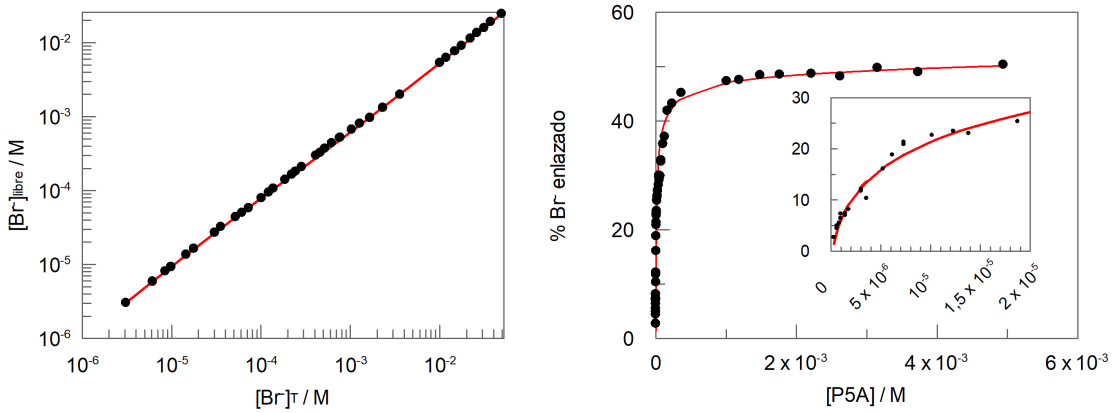


Figura 4.2. Izquierda: Concentración de bromuro libre en función del bromuro total. La línea roja representa los valores calculados según el modelo. Derecha: Porcentaje de contraión bromuro enlazado al pilarareno en función de la concentración del mismo. Los puntos se corresponden con los valores calculados a partir de los datos experimentales. La línea roja representa el ajuste de los datos al modelo.

El análisis de la concentración de contraión libre en función de la concentración del **P5A** (Figura 4.2) permite obtener las constantes de asociación del bromuro que se muestran en el Esquema 4.3 y en la Tabla 4.1 una vez que los datos se ajustan a un modelo que considera la complejación sucesiva de 5 contraiones por el macrociclo (Figura 4.2 y apéndice 4.5.3). De las mismas puede destacarse el notable descenso de su valor conforme disminuye la carga neta del pilarareno. También debe de mencionarse que las constantes de asociación del bromuro son similares a las que se obtienen utilizando criptandos,[23,24] pero con la ventaja de que el **P5A** actúa como receptor independientemente de cual sea el pH del medio.

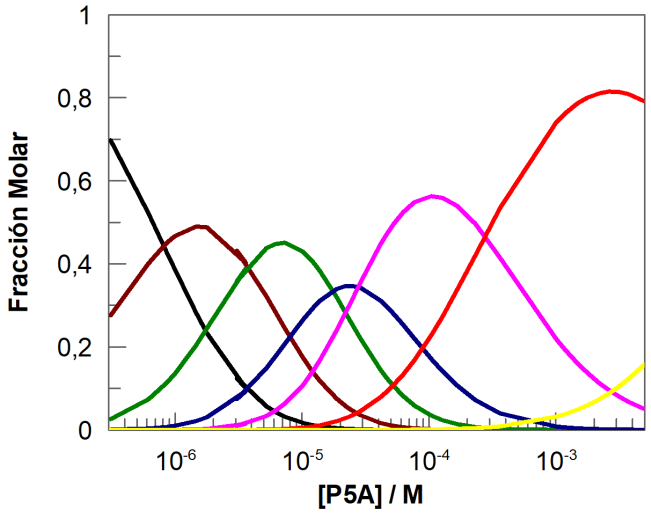


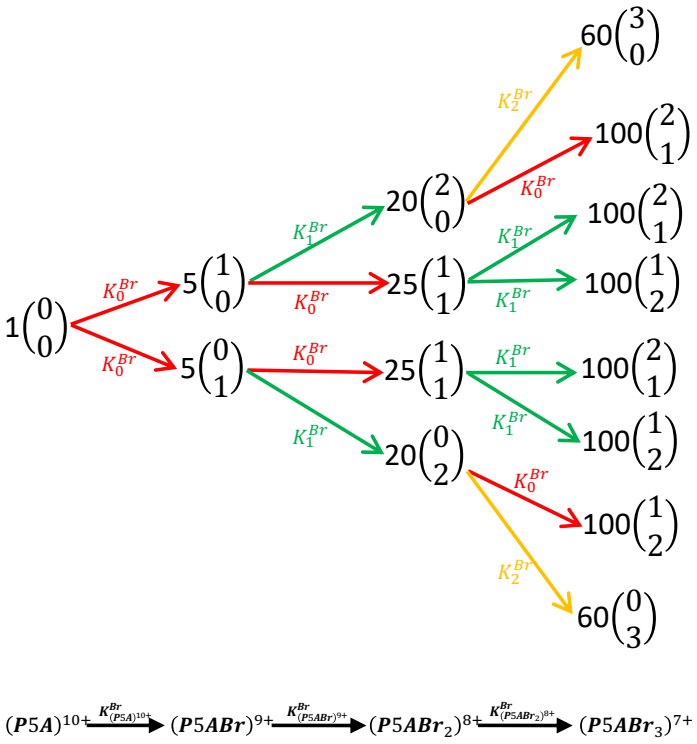
Figura 4.3. Distribución de especies por la incorporación de hasta seis contraiones bromuro, en disolución acuosa y a 25 ºC, en función de la concentración de **P5A**: negro $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$, marrón $(\boldsymbol{P5ABr})^{9+}$, verde $(\boldsymbol{P5ABr_2})^{8+}$ azul $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{7+}$ fucsia $(\boldsymbol{P5ABr_4})^{6+}$, rojo $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$ y amarillo $(\boldsymbol{P5ABr_6})^{4+}$.

La Figura 4.3 muestra la distribución de especies en función de la concentración del **P5A**. Como puede verse, en el amplio rango de concentraciones de pilarareno estudiado (aproximadamente desde $3x10^{-7}$ M hasta $5x10^{-3}$M), en disolución acuosa y a temperatura ambiente existe una mezcla más o menos compleja de pilararenos con distinta fracción de carga neutralizada, por lo que su comportamiento como receptor catiónico necesariamente se verá afectado. Por ejemplo, a la vista de los resultados, si se quisiese utilizar el **P5A** disponiendo libre de sus 10 posiciones de reconocimiento, $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$, para complejar aniones, necesariamente habría que trabajar en un rango de

concentraciones muy bajas, al menos del orden de 10^{-8} ó 10^{-9} M y en donde solo las técnicas analíticas más sensibles podrían utilizarse para medir y estudiar el sistema. En el extremo opuesto, para disoluciones acuosas concentradas de macrociclo, generalmente empleadas para los estudios de RMN, las especies predominantes son la $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$ y la $(\boldsymbol{P5ABr_6})^{4+}$, es decir, aquellas que tienen 5 y 6 bromuros enlazados respectivamente y que, a diferencia de $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$, sufren procesos de intercambio iónico en la formación de complejos *host-guest*. En la zona central de concentraciones, que además coincide con el rango de concentraciones en los que suelen realizarse los experimentos de ITC para el estudio de sistemas *host-guest*, el sistema es más complejo todavía ya que en disolución estarán presentes mezclas de especies $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{7+}$, $(\boldsymbol{P5ABr_4})^{6+}$ y $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$ que se van formando sucesivamente con la concentración de macrociclo. Teniendo en cuenta que las interacciones electrostáticas son seguramente la fuerza conductora mayoritaria en el reconocimiento de aniones por macrociclos cargados, es esperable una diferente capacidad de reconocimiento para cada receptor, tal y como queda reflejado por el descenso de la habilidad de enlazar contraiones conforme disminuye la carga neta del pilararenо. La determinación de la capacidad de asociación *host-guest* para este tipo de receptores típicamente se lleva a cabo variando la concentración de macrociclo. Debido a que el grado de complejación del contraión está fuertemente afectado por la concentración de *host*, la determinación de las constantes de asociación debería de realizarse a concentración constante de receptor, como ya se mostró en nuestro grupo de investigación en el caso de los sulfonatocalixarenos.[29–32] En el caso del **P5A**, la asociación de múltiples contraiones convierte la situación en un caso más complejo, por lo que, incluso haciéndolo a una concentración constante de macrociclo, más de una especie receptora debería de ser considerada.

4.3.2 ESPECIACIÓN DE LOS SITIOS DE RECONOCIMIENTO

La Figura 4.3 muestra la distribución de especies en función del grado de carga neutralizada del pilararenо. No obstante, el **P5A** posee dos caras indistinguibles con cinco grupos cargados positivamente (posiciones de reconocimiento) en cada una. Por esta razón, los pilararenos con diferente carga son una combinación de diferentes especies microscópicas resultantes de la asociación de iones bromuro a las diferentes caras del **P5A**. Por ejemplo, la especie $(\boldsymbol{P5ABr_2})^{8+}$, que es aquella que tiene enlazada 2 bromuros, estará formada por una mezcla de 2 microespecies, la que tiene ambos bromuros por la misma cara y la que tiene uno ocupando cada cara. Con el objetivo de entender un poco más el comportamiento del **P5A** e intentar descubrir cómo es realmente el proceso que tiene lugar durante la complejación, se decidió dar un paso más allá proponiendo un modelo de complejación microscópico coherente entre el macrociclo y esos 6 contraiones bromuro que estadísticamente tuviese en cuenta todas y cada una de las microespecies que están presentes en una disolución acuosa de **P5A**.

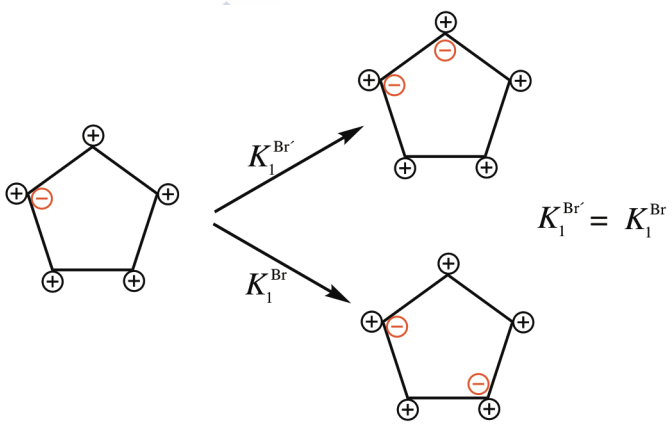


Esquema 4.4

En el Esquema 4.4 se muestra el modelo de complejación microscópico propuesto desde el $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$ libre hasta que enlaza sus tres primeros contraiones, $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{7+}$ (el esquema completo considerando la complejación de 6 de sus 10 contraiones se muestra en el apéndice 4.5.5). El macrociclo totalmente libre de iones bromuro, $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$, puede ser designado como $\binom{0}{0}$, indicando la ausencia de Br^- en ambas caras del pilarareno. Sólo una microespecie, la $\binom{0}{0}$, representa al $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$. Cuando se vaya a enlazar el primer contraión existirán diez posibles productos: cinco microespecies $\binom{1}{0}$ para el contraión enlazado al portal superior y otras cinco microespecies $\binom{0}{1}$ para las del portal inferior (notar que cada microespecie se corresponde al bromuro interaccionando con cada una de las cinco cargas positivas en ambos portales del pilarareno, el superior y el inferior). Debido a que todas las microespecies son equivalente e indistinguibles, sólo una constante de asociación microscópica, K_0^{Br} (el subíndice representa el número de iones bromuro ya asociados a los sitios de reconocimiento del pilarareno), es necesaria para describir la complejación. La constante de asociación microscópica, K_0^{Br}, puede ser calculada por corrección estadística de $K^{Br}_{(P5A)^{10+}}$, simplemente considerando que $K_0^{Br} = K^{Br}_{(P5A)^{10+}}/10$.

De la misma forma, la evolución de $(\boldsymbol{P5ABr})^{9+}$ a $(\boldsymbol{P5ABr_2})^{8+}$ podrá tener lugar a través de dos vías paralelas. Por un lado, el segundo ion bromuro puede incorporarse a la cara todavía vacía, $\binom{1}{0}$ y $\binom{0}{1}$, resultando en 50 microespecies $\binom{1}{1}$ indistinguibles. Considerando que las asociaciones del anión al portal superior e inferior son independientes, este proceso también puede ser descrito por K_0^{Br}. Por otro lado, la incorporación del segundo bromuro también puede ocurrir por la cara en la cual ya un

bromuro había sido incorporado previamente, resultando en 40 microespecies, $\binom{2}{0}$ y $\binom{0}{2}$. Cabe comentar que, como aproximación y por razones de simplicidad, en el modelo planteado se consideran equivalentes entre sí microespecies que estrictamente no lo son, pues la incorporación de un segundo bromuro a una cara ya ocupada por otro contraión podría ocurrir en cualquiera de las 4 posiciones de reconocimiento que quedan todavía libres (Esquema 4.5). De esta forma, la incorporación de un ion bromuro a la cara ya ocupada por otro Br^- estará descrita por la constante de asociación microscópica K_1^{Br} (ver apéndice 4.5.5.1 para la derivación del valor de K_1^{Br}). El valor obtenido para K_1^{Br} fue de 315 M^{-1}, lo que supone una reducción de casi 50 veces con respecto al obtenido para la K_0^{Br}. Esta reducción es un reflejo de la diferente capacidad de asociación del pilarareno poseyendo una cara con cinco cargas positivas en comparación con la que tiene ya un bromuro en ella y, consecuentemente, sólo dispone de cuatro cargas positivas. El mismo procedimiento se utilizó para obtener la gran cantidad de microestructuras generadas por la incorporación de bromuros adicionales.



Esquema 4.5

Definiendo K_0^{Br}, K_1^{Br}, K_2^{Br}, K_3^{Br} y K_4^{Br} como las constantes de equilibrio microscópicas para la incorporación del ion bromuro en una cara vacía, una cara conteniendo sólo un Br^-, y en caras conteniendo 2, 3 y 4 contraiones respectivamente, se derivó un modelo para computar todas las microespecies posibles que pueden existir en una disolución de **P5A**. La contribución de las microespecies $\binom{4}{0}$, $\binom{4}{1}$ y $\binom{5}{0}$ al sistema global es despreciable, de tal forma que las constantes de equilibrio microscópicas K_3^{Br} y K_4^{Br} no pueden obtenerse. Así, quince microespecies deberían de ser consideradas: $\binom{0}{0}$, $\binom{1}{0}$, $\binom{2}{0}$, $\binom{1}{1}$, $\binom{3}{0}$, $\binom{2}{1}$, $\binom{2}{2}$, $\binom{3}{1}$, $\binom{3}{2}$, $\binom{3}{3}$, $\binom{4}{0}$, $\binom{5}{0}$, $\binom{4}{1}$, $\binom{5}{1}$ y $\binom{4}{2}$ para definir la evolución desde el $(\boldsymbol{P5A})^{\mathbf{10+}}$ al $(\boldsymbol{P5ABr_6})^{\mathbf{4+}}$. Sin embargo, el número de microespecies puede ser reducido si se tienen en cuenta sus constantes de equilibrio de formación y su peso estadístico. Por ejemplo, un pilarareno con seis cargas positivas, $(\boldsymbol{P5ABr_4})^{\mathbf{6+}}$, puede ser descrito como la suma de las microespecies $\binom{4}{0}$, $\binom{3}{1}$ y $\binom{2}{2}$. Simplemente por inspección del número de microespecies equivalente e indistinguibles, se obtiene una relación de 1:10:10 para la microespecies $\binom{4}{0}$, $\binom{3}{1}$ y $\binom{2}{2}$, respectivamente. Además, la constante de equilibrio para la formación de la microespecie $\binom{4}{0}$ se obtiene por el producto $K_1^{Br}K_2^{Br}K_3^{Br}K_4^{Br}$, en comparación con $(K_1^{Br}K_2^{Br})^2$ para la microespecies $\binom{2}{2}$.

Como resultado, las microespecies asimétricas altamente cargadas, como la $\binom{4}{0}$ y $\binom{5}{0}$, pueden ser descartadas en la descripción del modelo de asociación del contraión al pilarareno. Consecuentemente, la concentración de pilarareno debería de ser considerada como la suma de las microespecies más probables: $[P5A]_T = \binom{0}{0} + \binom{1}{0} + \binom{1}{1} + \binom{2}{0} + \binom{3}{0} + \binom{2}{1} + \binom{3}{1} + \binom{2}{2} + \binom{3}{2} + \binom{3}{3}$.

De esta forma, la evolución desde el $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$ al $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$ puede ser descrita simplemente por tres constantes de equilibrio microscópicas: K_1^{Br}, K_2^{Br} y K_3^{Br}. La Figura 4.4 muestra la distribución de microespecies debida a la incorporación del contraión bromuro al pilarareno (ver apéndice 4.5.5.2). Más específicamente, el modelo microscópico predice que las microespecies predominantes para las concentraciones de **P5A** estudiadas son las $\binom{0}{0}$, $\binom{1}{0}$, $\binom{1}{1}$, $\binom{2}{1}$, $\binom{2}{2}$ y $\binom{3}{2}$. A la vista de los resultados, también puede concluirse que la complejación sucesiva de contraiones bromuro por el pilarareno ocurre alternativamente en cada cara del macrociclo. Por ejemplo, cuando el macrociclo enlaza el segundo contraión, es mucho más favorable que lo haga por la cara que todavía permanece libre a que lo haga por la cara que ya posee un ion bromuro enlazado. Además, como puede observarse, la contribución de las microespecies $\binom{3}{0}$ y $\binom{3}{1}$ es despreciable en comparación con la de la microespecie $\binom{2}{1}$ para describir el estado $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{7+}$.

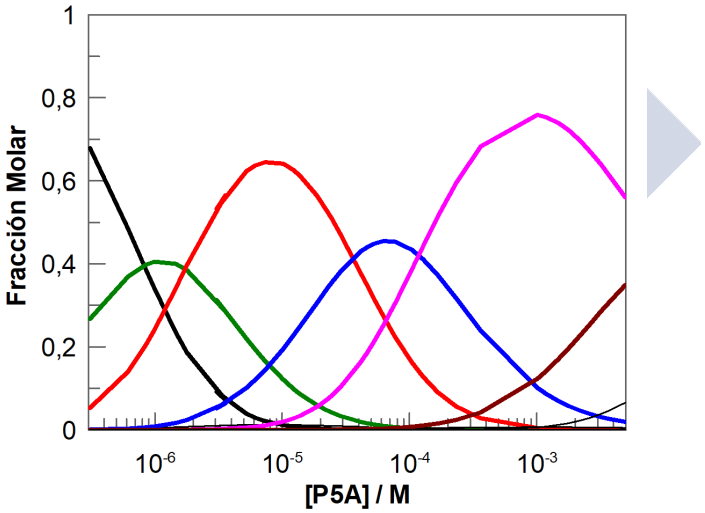


Figura 4.4. Distribución de microespecies por la incorporación de contraiones bromuro, en disolución acuosa y a 25 ºC, en función de la concentración de **P5A**: negro $\binom{0}{0}$; verde $\binom{1}{0}$; rojo $\binom{1}{1}$; azul $\binom{2}{1}$; fucsia $\binom{2}{2}$ y marrón $\binom{3}{2}$.

4.3.3 RECONOCIMIENTO DE UN ANIÓN EXTERNO COMO UN PROCESO DE INTERCAMBIO IÓNICO

Como se mostró en el capítulo 2, el *p*-toluensulfonato sódico (**TS**) es un *guest* apropiado para interactuar con el **P5A** poseyendo aniones tetrafluoroborato como contraión.[10] La caracterización del complejo *host-guest* por ^{1}H RMN y experimentos de

STD indica que el **TS** está profundamente incluido en la cavidad del pilarareno, con el grupo metilo mostrando una variación del desplazamiento químico hacia campo alto inducido por la complejación de $\Delta\delta \approx -3$ ppm. Tal y como se muestra en la Figura 4.5 (ver también apéndice 4.5.8), idénticas conclusiones pueden obtenerse cuando se analizan las valoraciones de ^{1}H RMN entre el **TS** y el **P5A** con aniones bromuro como contraión.

Por otro lado, las valoraciones microcalorimétricas para conocer las constantes de asociación utilizando el **P5A** con BF_4^- como contraión mostraron que existe una fuerte dependencia con la concentración de pilarareno. Más concretamente, las constantes de asociación disminuyen desde 1.36×10^6 M^{-1} hasta 3.18×10^4 M^{-1} cuando la concentración de macrociclo se aumenta desde 0.01 mM hasta 1 mM, como consecuencia del equilibrio competitivo que genera la complejación del contraión. Sin embargo, inesperadamente, las titulaciones de ITC para estudiar la incorporación del **TS** al **P5A** con bromuro como contraión no pudieron ajustarse a un modelo de complejación sencillo 1:1 "*one set of binding sites*". Notar que dicho modelo sí se ajusta de forma precisa a la valoración cuando se utiliza el **P5A** con BF_4^- como contraión (Figura 4.6 y apéndice 4.5.6). Seguramente, la imposibilidad de ajustar la titulación a un modelo de complejación sencillo tenga que ver con el mejor alcance de contraión enlazado al utilizar Br^- que al hacerlo con BF_4^-.

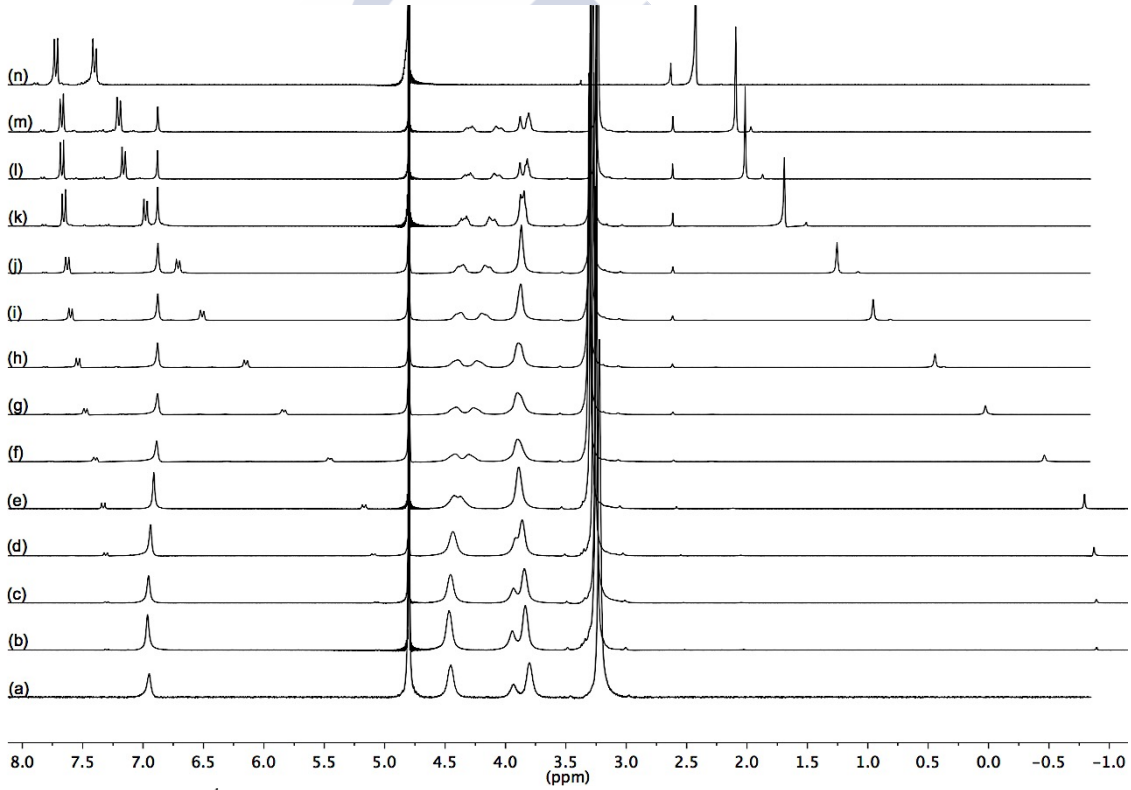


Figura 4.5. Espectros ^{1}H RMN del **P5A** (5 mM) en presencia de mayores cantidades de *p*-toluensulfonato sódico en D_2O a 25 ºC: (b) 0.5 mM, (c) 1 mM, (d) 2 mM, (e) 4 mM, (f) 6 mM, (g) 8 mM, (h) 10 mM, (i) 14 mM, (j) 18 mM, (k) 30 mM, (l) 55 mM y (m) 70 mM. Los espectros (a) y (n) se corresponden con el **P5A** (1 mM) y el *p*-toluensulfonato sódico (18 mM) libres, respectivamente.

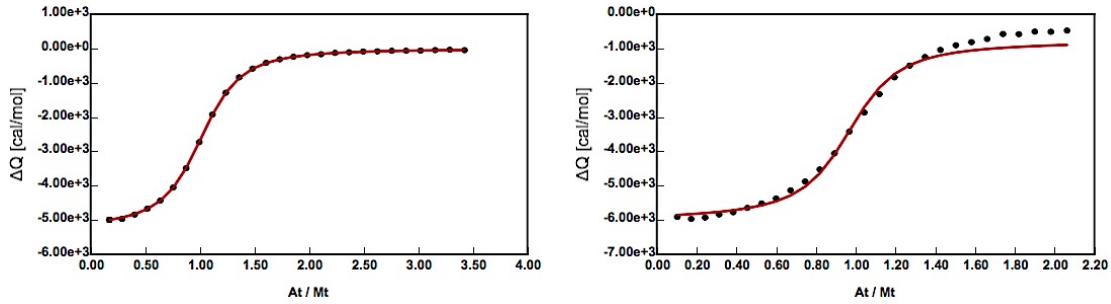


Figura 4.6. Entalpogramas obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación del P5A con el p-toluensulfonato sódico. Izquierda: 0.05 mM (de P5A con BF_4^- como contraión) con 0.83 mM. Derecha: 0.05 mM (de P5A con Br^- como contraión) con 0.5 mM. El calor de reacción se ajustó en ambos casos al modelo "one set of binding sites".

El análisis de la complejación del **TS** con el **P5A** utilizando un ESI de Br^- se muestra en la Figura 4.7. Como puede observarse, la incorporación del **TS** en la cavidad del pilararenо está acompañada por la expulsión de un ion bromuro al medio tras la adición de 2.5 equivalentes de **TS** (los mismos equivalentes necesarios que para la valoración ITC). Un resultado similar se obtuvo cuando el experimento se realizó con un *guest* neutro, el 1-pentanol. Por lo tanto, puede decirse que el proceso de reconocimiento del huéspedes cargados o neutros debería de ser considerado como un equilibrio de intercambio, de tal forma que la incorporación del *guest* al **P5A** debe de estar acompañada por la liberación de un ion bromuro, manteniendo la distribución de las especies cargadas del pilararenо.

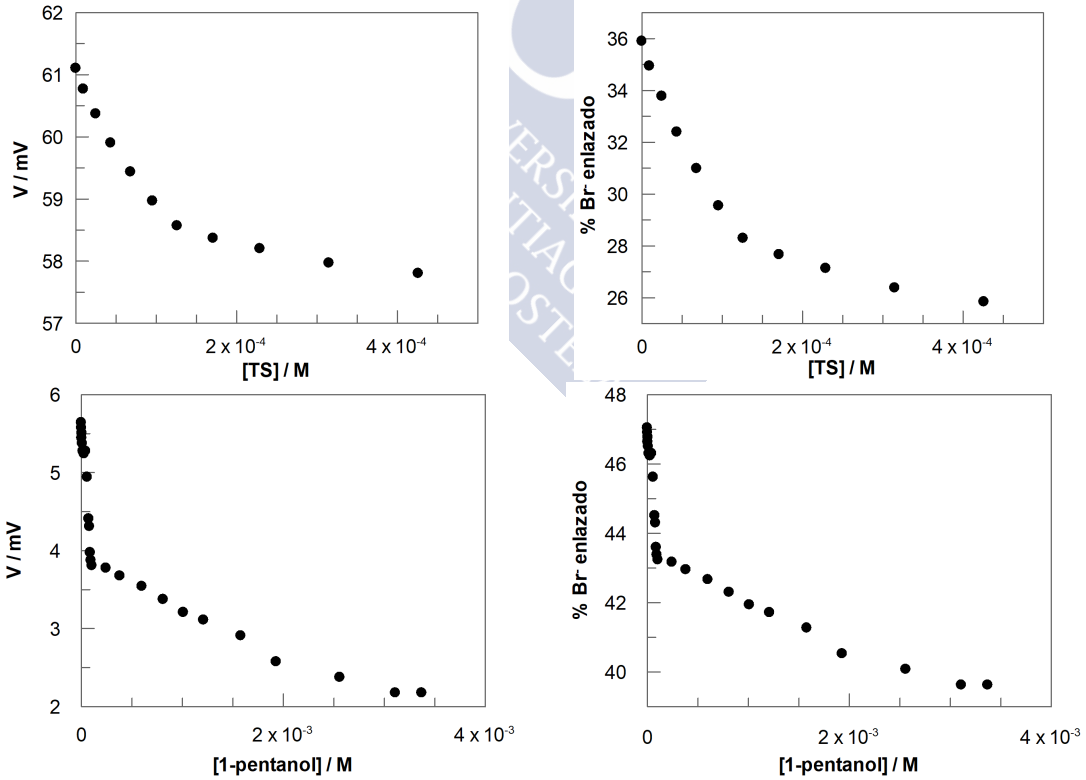


Figura 4.7. Arriba, Izquierda: Curva de potencial obtenida para una muestra de **P5A** (1×10^{-4} M) en función de la concentración de *p*-toluensulfonato sódico. Arriba, Derecha: Porcentaje de contraiones bromuro enlazados al pilararenо en función de la concentración de *p*-toluensulfonato sódico. Abajo, Izquierda: Curva de potencial obtenida para una muestra de **P5A** (1×10^{-3} M) en función de la concentración de 1-pentanol. Abajo, Derecha: Porcentaje de contraiones bromuro enlazados al pilararenо en función de la concentración de 1-pentanol.

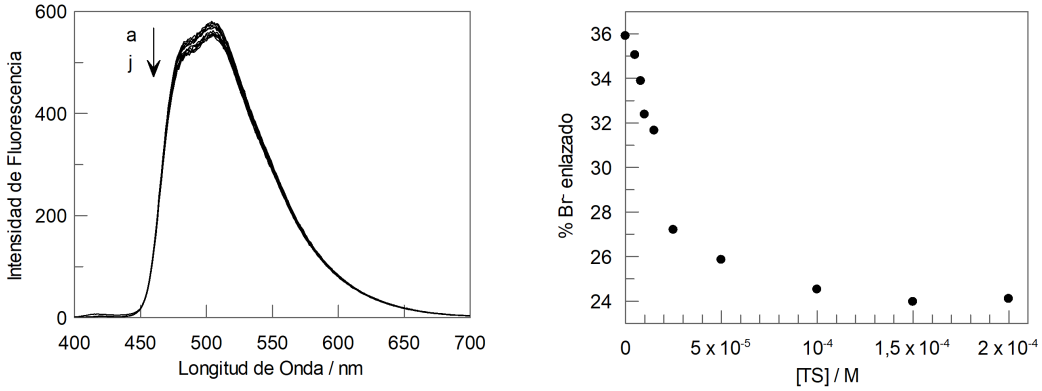


Figura 4.8. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M; [P5A]=1×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de toluensulfonato (desde a=0 hasta j=2×10^{-4} M). Derecha: Porcentaje de contraiones bromuro enlazados al pilarareno en función de la concentración del *p*-toluensulfonato añadido.

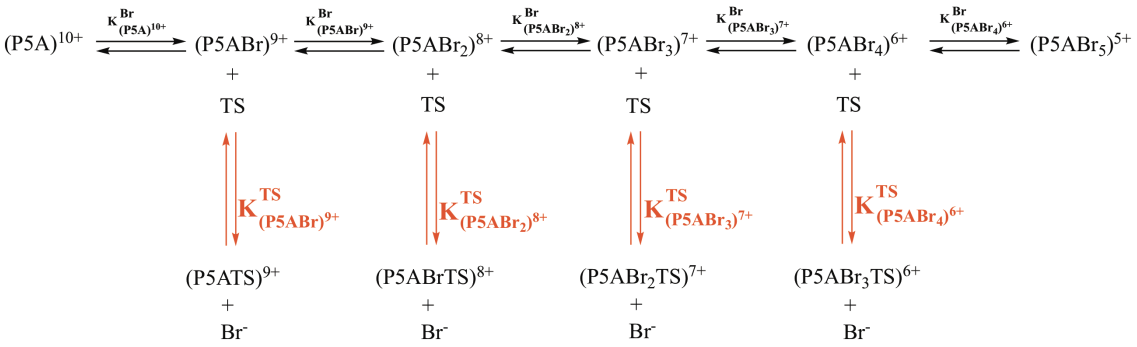
La misma conclusión se obtiene utilizando la metodología de *quenching* de fluorescencia con la lucigenina. Como se muestra en la Figura 4.8, cuando a una muestra de concentración constante de **P5A** y lucigenina se le añaden sucesivamente mayores cantidades de **TS**, tiene lugar una inhibición de la fluorescencia de la sonda que necesariamente tiene que deberse a la interacción con el bromuro que es expulsado de la cavidad del macrociclo tras la complejación con el *guest* externo. Antes de la realización del experimento, se comprobó que el **TS** no influye en la fluorescencia de la sonda a la longitud de onda de excitación utilizada (368 nm) (ver apéndice 4.5.9). Además, el análisis cuantitativo de los datos obtenidos confirma el intercambio de un contraión por molécula de toluensulfonato, de tal forma que se mantenga la distribución de especies cargadas del pilarareno.

En el apéndice 4.5.10 se muestra el resultado de experimentos análogos utilizando diferentes aniones inorgánicos que confirman que la formación de complejos con el **P5A** ocurre a través de un proceso de intercambio iónico.

Previamente, se mostró que una disolución de pilarareno está constituida por diferentes receptores con carga neta que varía desde $(\boldsymbol{P5A})^{\mathbf{10+}}$ a $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{\mathbf{5+}}$. El estudio detallado de la complejación del ion bromuro por las diferentes especies muestra que las constantes de equilibrio disminuyen aproximadamente 10^4 veces al pasar del $(\boldsymbol{P5A})^{\mathbf{10+}}$ al $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{\mathbf{5+}}$, por lo tanto, es de esperar que el **TS** presente diferente afinidad por las distintas especies que componen la disolución de **P5A**. Los experimentos de ITC para estudiar la incorporación del **TS** se llevaron a cabo mediante la adición de *guest* a la celda de muestra conteniendo al *host*, procedimiento adoptado con el objetivo de minimizar los cambios en la concentración de **P5A**, evitando así una gran modificación de la distribución de especies conforme a la Figura 4.3.

Dichos experimentos se realizaron en un rango de concentraciones de **P5A** que abarca desde 2.5×10^{-5} M hasta 4.5×10^{-3} M. Atendiendo a la distribución de especies, en dicho rango el pilarareno existe como una combinación de $(\boldsymbol{P5ABr})^{\mathbf{9+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_2})^{\mathbf{8+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{\mathbf{7+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_4})^{\mathbf{6+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{\mathbf{5+}}$ y $(\boldsymbol{P5ABr_6})^{\mathbf{4+}}$. Con el objetivo de simplificar el análisis, se realizó un ajuste global simultáneo de los datos de ITC obtenidos en el rango de concentraciones de pilarareno comprendido entre 2.5×10^{-5} M hasta 4.0×10^{-4} M. Bajo estas condiciones experimentales, el pilarareno está representado principalmente como una contribución de $(\boldsymbol{P5ABr})^{\mathbf{9+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_2})^{\mathbf{8+}}$, $(\boldsymbol{P5ABr_3})^{\mathbf{7+}}$ y

$(\boldsymbol{P5ABr_4})^{6+}$. Consecuentemente, el ajuste global simultáneo de los datos sólo considera la complejación del **TS** por estas estructuras (Esquema 4.6).



Esquema 4.6

La complejación del **TS** por la especie $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$ se omitió en dicho ajuste tratando de obtener unos valores más precisos para los otros procesos de asociación, pues dicha suposición parece razonable teniendo en cuenta que su contribución es de menos del 50 % del pilarareno receptor total y que es esperable que su constante de asociación sea mucho menor que las de las estructuras altamente cargadas, tal y como se vio para la complejación del contraión bromuro.

La Figura 4.9 muestra el excelente ajuste global en comparación con el del modelo "*one set of binding sites*". Las constantes de asociación obtenidas a partir de las valoraciones calorimétricas se muestran en la Tabla 4.2. Dichas constantes están en el rango de 10^6 M^{-1} para los pilararenos altamente cargados y disminuyen para $(\boldsymbol{P5ABr_4})^{6+}$.

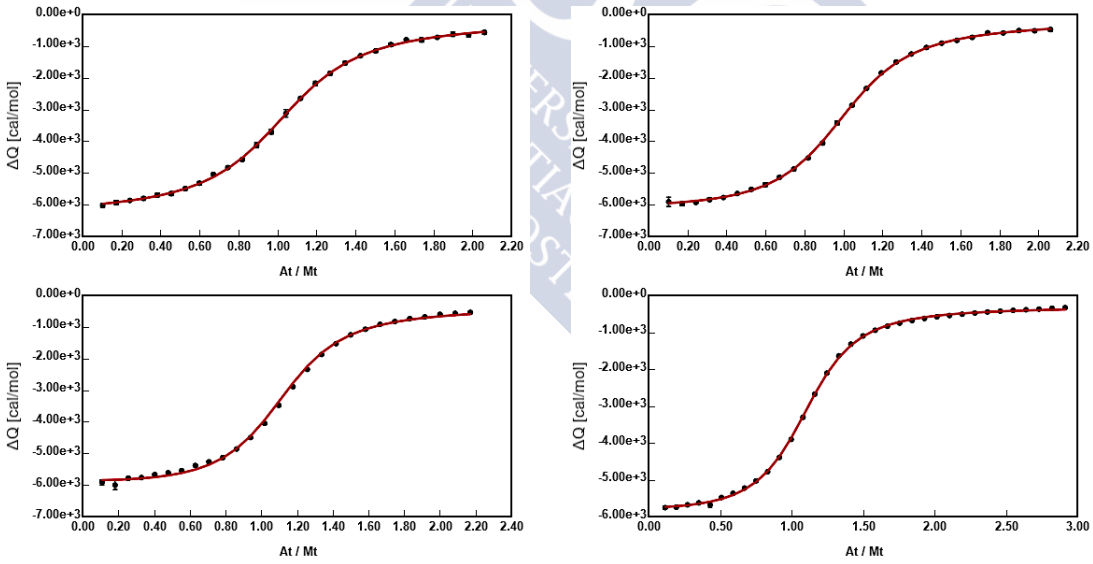


Figura 4.9. Entalpogramas obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación del **P5A** con el **TS**. Concentraciones de macrocicloe: 2.5×10^{-5} M (arriba, izquierda), 5×10^{-5} M (arriba, derecha), 1×10^{-4} M (abajo, izquierda) y 4×10^{-4} M (abajo, derecha). El calor de reacción se ajustó, de manera global y simultánea, al modelo representado en el Esquema 4..

Para mayores concentraciones de **P5A**, esto es 8.0×10^{-4}, 3.0×10^{-3} y 4.5×10^{-3} M, se realizaron titulaciones calorimétricas adicionales. En este caso, el modelo de complejación es una versión expandida del que se muestra en el Esquema 4.6 (ver apéndice 4.5.7). Para concentraciones superiores a 5.0×10^{-4} M, el porcentaje de especie $(\boldsymbol{P5ABr})^{9+}$ es despreciable (Figura 4.3) y por lo tanto dicha especie fue excluida del

modelo de complejación. Por otro lado, la especie $(\boldsymbol{P5ABr_5})^{5+}$, que es el componente mayoritario para concentraciones de **P5A** superiores a 1.0×10^{-3} M, sí se incluyó en el modelo. Las constantes de asociación $K^{TS/Br}_{(P5ABr_2)^{8+}}$ y $K^{TS/Br}_{(P5ABr_3)^{7+}}$ se mantuvieron fijas durante el procedimiento de ajuste. Los valores obtenidos para $K^{TS/Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}$ y $K^{TS/Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}$ también se muestran en la Tabla 4.2, siendo todos ellos valores obtenidos independientemente de la concentración de **P5A** utilizada.

La inspección de la distribución de microespecies en función de la concentración de **P5A** (Figura 4.4) revela que el microestado $\binom{2}{1}$ es la especie predominante en el rango de concentraciones utilizado para las titulaciones calorimétricas. La microespecie $\binom{2}{2}$ es la más importante para una concentración de **P5A** de 2.0×10^{-4} M. La diferente capacidad de reconocimiento de las cavidades con uno o dos contraiones bromuro enlazados explica el pequeño valor para $K^{TS/Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}$ en comparación con los pilararenos altamente cargados. En comparación con las especies altamente cargadas, puede observarse un importante descenso en el valor de las constantes de complejación de intercambio iónico del **TS**, $K^{TS/Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}$ y $K^{TS/Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}$. La distribución de microespecies (Figura 4.4) indica que la microestructura $\binom{2}{2}$ es predominante para una concentración de **P5A** de 1 mM, mientras que la $\binom{3}{2}$ representa casi el 50 % del receptor total para una concentración de 5 mM.

Tabla 4.2. Constantes de equilibrio del intercambio iónico para la complejación del *p*-toluensulfonato sódico por pilararenos cargados diferentemente.

$K^{TS/Br}_{(P5ABr)^{9+}}$	$K^{TS/Br}_{(P5ABr_2)^{8+}}$	$K^{TS/Br}_{(P5ABr_3)^{7+}}$	$K^{TS/Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}$	$K^{TS/Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}$
$(2.90\pm0.06)\times10^{6}$	$(1.50\pm0.02)\times10^{6}$	$(1.30\pm0.01)\times10^{6}$	$(9.2\pm0.6)\times10^{4}$	$(5.6\pm0.4)\times10^{2}$

Finalmente, las constantes de equilibrio de asociación del **TS** (en unidades de M^{-1}) por pilararenos con diferente fracción de carga neutralizada pueden obtenerse fácilmente mediante la combinación de las obtenidas para el intercambio iónico con las obtenidas para la complejación del contraión bromuro, tal y como se muestra en el Esquema 4.7. Es remarcable que la constante de asociación del **TS** por el $(\boldsymbol{P5A})^{10+}$, $K^{TS}_{(P5A)^{10+}}$, puede ser obtenida, resultando en un elevado valor de $K^{TS}_{(P5A)^{10+}}=3.83\times10^{11}M^{-1}$ (Tabla 4.3). Como era de esperar, la complejación de un *guest* aniónico externo por el **P5A** es fuertemente dependiente de la carga del receptor (aproximadamente unas 10^6 veces).

$$(P5ABr)^{9+} + TS \rightleftharpoons (P5ATS)^{9+} + Br^- \qquad K^{TS}_{(P5ABr)^{9+}}$$

$$(P5A)^{10+} + Br \rightleftharpoons (P5ABr)^{9+} \qquad K^{Br}_{(P5A)^{10+}}$$

$$(P5A)^{10+} + TS \rightleftharpoons (P5ATS)^{9+} \qquad K^{TS}_{0} = K^{TS}_{(P5ABr)^{9+}} \; K^{Br}_{(P5A)^{10+}}$$

Esquema 4.7

Tabla 4.3. Constantes de complejación del *p*-toluensulfonato sódico con los diferentes pilararenos cargados.

$K^{TS}_{(P5A)^{10+}}$ /M^{-1}	$K^{TS}_{(P5ABr)^{9+}}$ /M^{-1}	$K^{TS}_{(P5ABr_2)^{8+}}$ /M^{-1}	$K^{TS}_{(P5ABr_3)^{7+}}$ /M^{-1}	$K^{TS}_{(P5ABr_4)^{6+}}$ /M^{-1}	$K^{TS}_{(P5ABr_5)^{5+}}$ /M^{-1}
$3.83\text{x}10^{11}$	$4.74\text{x}10^{10}$	$1.02\text{x}10^{10}$	$4.83\text{x}10^{8}$	$3.62\text{x}10^{5}$	----

4.4 CONCLUSIONES

Una desventaja inherente al uso de receptores macrocíclicos iónicos es la presencia de contraiones, lo que implica la existencia en el medio de un nuevo potencial *guest* que competirá con los otros *guests* externos por acomodarse en la cavidad del macrociclo. Sin embargo, este fenómeno suele pasarse por alto en la mayoría de estudios sobre complejación *host-guest*. En este capítulo, utilizando un electrodo selectivo de iones y lucigenina como sonda fluorescente, se pone de manifiesto la capacidad de los pilar[5]arenos solubles en agua para complejar alrededor del 50 % de sus contraiones. Utilizando la misma metodología se comprobó que la complejación de *guests* externos por parte del **P5A** tiene lugar a través de un proceso de intercambio iónico. Sabiendo que en disolución el macrociclo está presente como una compleja mezcla de receptores con diferente fracción de carga neutralizada, se propuso un modelo de complejación de los contraiones que permitiese conocer la cantidad que existe de cada especie cargada diferentemente en función de la concentración de macrociclo para, finalmente, utilizar modelos de complejación que reflejan la situación real que tiene lugar cuando el **P5A** compleja un *guest* externo en disolución.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.5 APÉNDICE

4.5.1 Calibración del ESI con NaBr

Se consideró que la curva experimental obtenida viene descrita por un polinomio de grado 3 del tipo $y=a+bx+cx^2+dx^3$, en donde y es el potencial medido (V) y x el logaritmo de la concentración de bromuro libre (log $[Br^-]_{libre}$).

Tabla A.4.1. Resultados obtenidos para la calibración del ESI con NaBr.

[NaBr] / M	log [Br^-]	V_{exp} / mV	V_{calc} / mV
$1{,}190\times10^{-6}$	-5,9245	200,533	202,582
$2{,}376\times10^{-6}$	-5,6241	192,1	192,917
$3{,}087\times10^{-6}$	-5,5104	192,5	188,722
$3{,}212\times10^{-6}$	-5,4932	184,6	188,064
$3{,}560\times10^{-6}$	-5,4485	185,867	186,323
$4{,}741\times10^{-6}$	-5,3241	181,1	181,263
$5{,}920\times10^{-6}$	-5,2277	176,9	177,134
$6{,}155\times10^{-6}$	-5,2108	177,433	176,392
$7{,}094\times10^{-6}$	-5,1491	173,433	173,638
$8{,}266\times10^{-6}$	-5,0827	170,2	170,598
$9{,}436\times10^{-6}$	-5,0252	167,333	167,903
$9{,}904\times10^{-6}$	-5,0042	166,778	166,905
$1{,}107\times10^{-5}$	-4,9559	163,8	164,581
$1{,}454\times10^{-5}$	-4,8373	158,022	158,718
$1{,}524\times10^{-5}$	-4,8171	157,133	157,697
$1{,}777\times10^{-5}$	-4,7503	158,6	154,279
$2{,}029\times10^{-5}$	-4,6928	151,9	151,286
$2{,}573\times10^{-5}$	-4,5895	146,733	145,793
$3{,}044\times10^{-5}$	-4,5165	140,811	141,828
$3{,}156\times10^{-5}$	-4,5009	141,8	140,972
$3{,}577\times10^{-5}$	-4,4465	140,467	137,964
$3{,}776\times10^{-5}$	-4,423	137,833	136,654
$4{,}430\times10^{-5}$	-4,3536	134,6	132,748
$5{,}118\times10^{-5}$	-4,2909	132,3	129,173
$5{,}837\times10^{-5}$	-4,2338	130,633	125,883
$6{,}152\times10^{-5}$	-4,211	125,8	124,560
$7{,}303\times10^{-5}$	-4,1365	119,489	120,204
$1{,}013\times10^{-4}$	-3,9942	112,6	111,748
$1{,}063\times10^{-4}$	-3,9733	108,4	110,493
$1{,}962\times10^{-4}$	-3,7074	93,2	94,261
$2{,}230\times10^{-4}$	-3,6517	89,667	90,810
$2{,}496\times10^{-4}$	-3,6028	81,1	87,768
$3{,}090\times10^{-4}$	-3,5101	82,167	81,975
$3{,}417\times10^{-4}$	-3,4663	74,633	79,228
$4{,}651\times10^{-4}$	-3,3325	71,511	70,803
$5{,}979\times10^{-4}$	-3,2234	63,3333	63,909
$1{,}034\times10^{-3}$	-2,9853	46,5	48,849
$1{,}189\times10^{-3}$	-2,925	43	45,042

$1{,}357\times10^{-3}$	-2,8673	39,7	41,406
$1{,}540\times10^{-3}$	-2,8126	36,5	37,966
$1{,}733\times10^{-3}$	-2,7611	33,5	34,735
$1{,}938\times10^{-3}$	-2,7126	30,7	31,701
$2{,}152\times10^{-3}$	-2,6671	28	28,862
$2{,}374\times10^{-3}$	-2,6246	25,6	26,219
$2{,}602\times10^{-3}$	-2,5847	23,4	23,745
$2{,}835\times10^{-3}$	-2,5474	21,267	21,439
$2{,}850\times10^{-3}$	-2,5452	18,6	21,303
$3{,}072\times10^{-3}$	-2,5126	19,3	19,294
$3{,}312\times10^{-3}$	-2,4799	17,5	17,285
$3{,}553\times10^{-3}$	-2,4494	15,6	15,416
$3{,}795\times10^{-3}$	-2,4208	13,9	13,669
$5{,}431\times10^{-3}$	-2,2651	6,633	4,257
$7{,}773\times10^{-3}$	-2,1094	2,2	-4,967
$8{,}032\times10^{-3}$	-2,0952	-6,767	-5,797
$8{,}692\times10^{-3}$	-2,0609	-5,1	-7,796
$1{,}355\times10^{-2}$	-1,868	-16,033	-18,815
$1{,}827\times10^{-2}$	-1,7382	-26,233	-25,996
$2{,}793\times10^{-2}$	-1,554	-33,6	-35,820
$3{,}333\times10^{-2}$	-1,4772	-40,567	-39,778
$3{,}503\times10^{-2}$	-1,4555	-33,8	-40,880
$3{,}734\times10^{-2}$	-1,4278	-40,7	-42,278
$4{,}815\times10^{-2}$	-1,3174	-46,733	-47,727
$5{,}286\times10^{-2}$	-1,2769	-51,433	-49,678
$6{,}030\times10^{-2}$	-1,2197	-51,933	-52,386
$7{,}369\times10^{-2}$	-1,1326	-56,467	-56,401
$7{,}644\times10^{-2}$	-1,1167	-60,067	-57,119
$8{,}825\times10^{-2}$	-1,0543	-60,6	-59,894
$1{,}036\times10^{-1}$	-0,9848	-67,167	-62,900
$1{,}039\times10^{-1}$	-0,9835	-64,333	-62,955

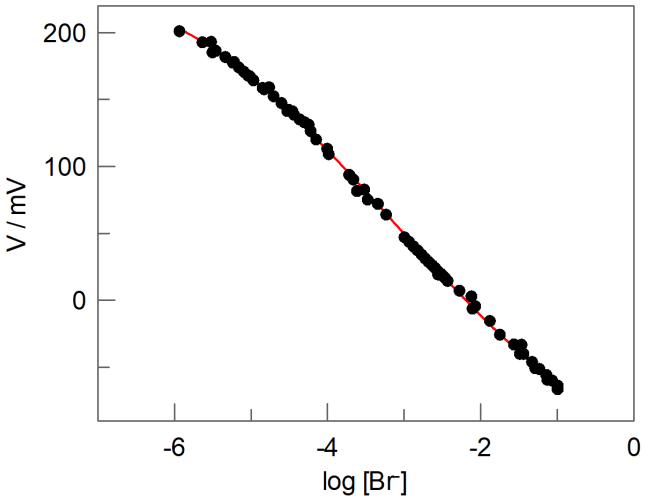


Figura A.4.1. Potencial a diferentes concentraciones para una muestra de NaBr con su ajuste a un polinomio de tercer grado (línea roja).

Parámetros obtenidos de la curva de calibrado:

a= -94,0891 ± 2,6614×10^{-8}

b= -19,3127 ± 2,9451×10^{-8}

c= 14,0152 ± 9,6557×10^{-9}

d= 1,4892 ± 9,6456×10^{-10}

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.5.2 Cálculo de la concentración de bromuro libre

Conociendo los parámetros ***a***, ***b***, ***c*** y ***d***, mediante el método de Newton-Raphson,[33] se puede resolver numéricamente la ecuación de tercer grado que para cada medida de potencial de **P5A** nos proporcione el log $[Br^-]_{libre}$.

Tabla A.4.2. Resultados obtenidos de la valoración del **P5A** con el ESI de bromuro.

[P5A] / M	$[Br^-]$ / M	log $[Br^-]$	V_{exp} / mV	log $[Br^-]_{libre}$	$[Br^-]_{libre}$ / M
$3{,}10\times10^{-7}$	$3{,}10\times10^{-6}$	-5,5086	189,100	-5,5203	$3{,}02\times10^{-6}$
$6{,}17\times10^{-7}$	$6{,}17\times10^{-6}$	-5,2097	177,300	-5,2315	$5{,}87\times10^{-6}$
$6{,}17\times10^{-7}$	$6{,}17\times10^{-6}$	-5,2097	177,200	-5,2292	$5{,}90\times10^{-6}$
$8{,}53\times10^{-7}$	$8{,}53\times10^{-6}$	-5,0692	171,100	-5,0936	$8{,}06\times10^{-6}$
$9{,}93\times10^{-7}$	$9{,}93\times10^{-6}$	-5,0031	168,200	-5,0315	$9{,}30\times10^{-6}$
$9{,}93\times10^{-7}$	$9{,}93\times10^{-6}$	-5,0031	168,400	-5,0357	$9{,}21\times10^{-6}$
$1{,}46\times10^{-6}$	$1{,}46\times10^{-5}$	-4,8356	160,300	-4,8689	$1{,}35\times10^{-5}$
$1{,}46\times10^{-6}$	$1{,}46\times10^{-5}$	-4,8356	160,200	-4,8669	$1{,}36\times10^{-5}$
$1{,}78\times10^{-6}$	$1{,}78\times10^{-5}$	-4,7490	156,100	-4,7857	$1{,}64\times10^{-5}$
$3{,}59\times10^{-6}$	$3{,}59\times10^{-5}$	-4,4451	140,500	-4,4923	$3{,}22\times10^{-5}$
$3{,}05\times10^{-6}$	$3{,}05\times10^{-5}$	-4,5151	144,700	-4,5692	$2{,}70\times10^{-5}$
$3{,}05\times10^{-6}$	$3{,}05\times10^{-5}$	-4,5151	144,800	-4,5711	$2{,}68\times10^{-5}$
$5{,}24\times10^{-6}$	$5{,}24\times10^{-5}$	-4,2807	132,900	-4,3563	$4{,}40\times10^{-5}$
$6{,}17\times10^{-6}$	$6{,}17\times10^{-5}$	-4,2097	129,700	-4,3001	$5{,}01\times10^{-5}$
$7{,}33\times10^{-6}$	$7{,}33\times10^{-5}$	-4,1349	126,030	-4,2363	$5{,}80\times10^{-5}$
$7{,}33\times10^{-6}$	$7{,}33\times10^{-5}$	-4,1349	126,179	-4,2389	$5{,}77\times10^{-5}$
$1{,}02\times10^{-5}$	$1{,}02\times10^{-4}$	-3,9928	118,300	-4,1042	$7{,}87\times10^{-5}$
$1{,}23\times10^{-5}$	$1{,}23\times10^{-4}$	-3,9101	113,630	-4,0256	$9{,}43\times10^{-5}$
$1{,}38\times10^{-5}$	$1{,}38\times10^{-4}$	-3,8595	110,467	-3,9729	$1{,}06\times10^{-4}$
$1{,}88\times10^{-5}$	$1{,}88\times10^{-4}$	-3,7270	103,167	-3,8524	$1{,}40\times10^{-4}$
$2{,}23\times10^{-5}$	$2{,}23\times10^{-4}$	-3,6517	98,900	-3,7827	$1{,}65\times10^{-4}$
$2{,}45\times10^{-5}$	$2{,}45\times10^{-4}$	-3,6114	96,500	-3,7437	$1{,}80\times10^{-4}$
$2{,}87\times10^{-5}$	$2{,}87\times10^{-4}$	-3,5422	92,567	-3,6800	$2{,}09\times10^{-4}$
$4{,}13\times10^{-5}$	$4{,}13\times10^{-4}$	-3,3836	83,067	-3,5275	$2{,}97\times10^{-4}$
$4{,}65\times10^{-5}$	$4{,}65\times10^{-4}$	-3,3325	80,530	-3,4871	$3{,}26\times10^{-4}$
$5{,}21\times10^{-5}$	$5{,}21\times10^{-4}$	-3,2832	77,230	-3,4345	$3{,}68\times10^{-4}$
$5{,}21\times10^{-5}$	$5{,}21\times10^{-4}$	-3,2832	77,100	-3,4324	$3{,}69\times10^{-4}$
$6{,}24\times10^{-5}$	$6{,}24\times10^{-4}$	-3,2051	72,467	-3,3589	$4{,}38\times10^{-4}$
$7{,}63\times10^{-5}$	$7{,}63\times10^{-4}$	-3,1175	68,000	-3,2881	$5{,}15\times10^{-4}$
$7{,}74\times10^{-5}$	$7{,}74\times10^{-4}$	-3,1113	67,700	-3,2834	$5{,}21\times10^{-4}$
$1{,}04\times10^{-4}$	$1{,}04\times10^{-3}$	-2,9823	60,800	-3,1743	$6{,}69\times10^{-4}$
$1{,}28\times10^{-4}$	$1{,}28\times10^{-3}$	-2,8938	55,789	-3,0951	$8{,}03\times10^{-4}$
$1{,}66\times10^{-4}$	$1{,}66\times10^{-3}$	-2,7791	50,700	-3,0146	$9{,}67\times10^{-4}$
$2{,}32\times10^{-4}$	$2{,}32\times10^{-3}$	-2,6345	42,200	-2,8799	$1{,}32\times10^{-3}$
$3{,}62\times10^{-4}$	$3{,}62\times10^{-3}$	-2,4413	31,033	-2,7019	$1{,}99\times10^{-3}$
$1{,}01\times10^{-3}$	$1{,}01\times10^{-2}$	-1,9960	4,800	-2,2742	$5{,}32\times10^{-3}$
$1{,}19\times10^{-3}$	$1{,}19\times10^{-2}$	-1,9256	0,700	-2,2055	$6{,}23\times10^{-3}$
$1{,}48\times10^{-3}$	$1{,}48\times10^{-2}$	-1,8283	-4,600	-2,1157	$7{,}66\times10^{-3}$
$1{,}76\times10^{-3}$	$1{,}76\times10^{-2}$	-1,7537	-8,900	-2,0419	$9{,}08\times10^{-3}$
$2{,}21\times10^{-3}$	$2{,}21\times10^{-2}$	-1,6548	-14,500	-1,9444	$1{,}14\times10^{-2}$
$2{,}62\times10^{-3}$	$2{,}62\times10^{-2}$	-1,5811	-18,900	-1,8665	$1{,}36\times10^{-2}$
$3{,}15\times10^{-3}$	$3{,}15\times10^{-2}$	-1,5014	-22,600	-1,8000	$1{,}58\times10^{-2}$
$3{,}73\times10^{-3}$	$3{,}73\times10^{-2}$	-1,4281	-26,967	-1,7204	$1{,}90\times10^{-2}$
$4{,}95\times10^{-3}$	$4{,}95\times10^{-2}$	-1,3058	-32,900	-1,6097	$2{,}46\times10^{-2}$

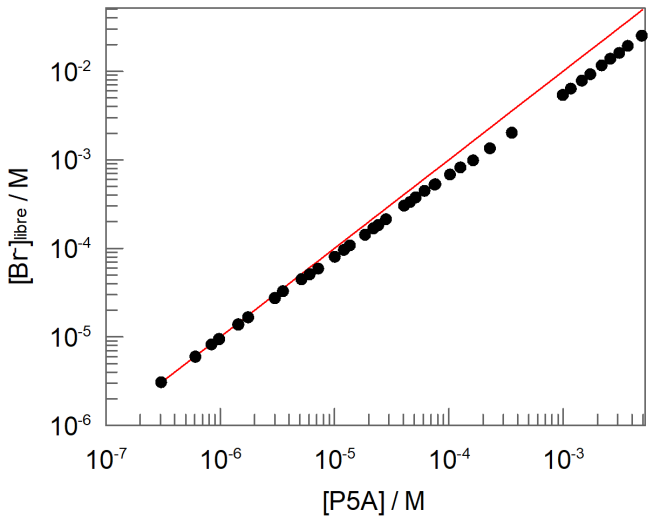


Figura A.4.2. Concentración de bromuro libre que posee el **P5A** en función de su concentración. La línea roja representa dicha influencia si todo el bromuro estuviese libre.

4.5.3 Derivación y ajuste de la ecuación para la complejación de hasta seis contraiones bromuro por el P5A

El modelo utilizado se basa en el supuesto de que se forman complejos con estequiometría 1:6 entre el **P5A** y sus contraiones bromuro.

$$(P5A)^{10+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5A)^{10+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr)^{9+}$$

$$(P5ABr)^{9+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr_2)^{8+}$$

$$(P5ABr_2)^{8+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr_3)^{7+}$$

$$(P5ABr_3)^{7+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr_4)^{6+}$$

$$(P5ABr_4)^{6+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr_5)^{5+}$$

$$(P5ABr_5)^{5+} + Br^- \underset{}{\overset{K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}}{\rightleftharpoons}} (P5ABr_6)^{4+}$$

Esquema A.4.1

De tal forma que las constantes de equilibrio de dichos complejos vendrán dadas por:

$$K^{Br}_{(P5A)^{10+}} = \frac{[(P5ABr)^{9+}]}{[(P5A)^{10+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.1)}$$

$$K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} = \frac{[(P5ABr_2)^{8+}]}{[(P5ABr)^{9+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.2)}$$

$$K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} = \frac{[(P5ABr_3)^{7+}]}{[(P5ABr_2)^{8+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.3)}$$

$$K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}} = \frac{[(P5ABr_4)^{6+}]}{[(P5ABr_3)^{7+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.4)}$$

$$K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}} = \frac{[(P5ABr_5)^{5+}]}{[(P5ABr_4)^{6+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.5)}$$

$$K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}} = \frac{[(P5ABr_6)^{4+}]}{[(P5ABr_5)^{5+}][Br^-]} \quad \text{(A.4.6)}$$

Balances de materia:

$$[P5A]_T = [(P5A)^{10+}] + [(P5ABr)^{9+}] + [(P5ABr_2)^{8+}] + [(P5ABr_3)^{7+}] + [(P5ABr_4)^{6+}] + [(P5ABr_5)^{5+}] + [(P5ABr_6)^{4+}] \quad \text{(A.4.7)}$$

$$[Br^-]_T = 10[P5A]_T = [(P5ABr)^{9+}] + 2[(P5ABr_2)^{8+}] + 3[(P5ABr_3)^{7+}] + 4[(P5ABr_4)^{6+}] + 5[(P5ABr_5)^{5+}] + 6[(P5ABr_6)^{4+}] + [Br^-] \quad \text{(A.4.8)}$$

De la combinación de las ecuaciones (A.4.7) y (A.4.8), junto con las de las constantes de equilibrio que definen el proceso ((A.4.1), (A.4.2), (A.4.3), (A.4.4), (A.4.5) y (A.4.6)), resulta un polinomio de séptimo orden (ecuación (A.4.9)) para la determinación de la concentración de bromuro libre:

$$A[Br^-]^7 + B[Br^-]^6 + C[Br^-]^5 + D[Br^-]^4 + E[Br^-]^3 + F[Br^-]^2 + G[Br^-] - 10[P5A]_T = 0 \quad \text{(A.4.9)}$$

En donde:

$$A = K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}} K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}} K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}} K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} K^{Br}_{(P5A)^{10+}} \quad \text{(A.4.10)}$$

$$B = K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}} K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}} K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} K^{Br}_{(P5A)^{10+}} (1 - 4K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}} [P5A]_T) \quad \text{(A.4.11)}$$

$$C = K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}} K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} K^{Br}_{(P5A)^{10+}} (1 - 5K^{Br}_{(P5ABr_4)^{6+}} [P5A]_T) \quad \text{(A.4.12)}$$

$$D = K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} K^{Br}_{(P5A)^{10+}} (1 - 6K^{Br}_{(P5ABr_3)^{7+}} [P5A]_T) \quad \text{(A.4.13)}$$

$$E = K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} K^{Br}_{(P5A)^{10+}} (1 - 7K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} [P5A]_T) \quad \text{(A.4.14)}$$

$$F = K^{Br}_{(P5A)^{10+}} (1 - 8K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}} [P5A]_T) \quad \text{(A.4.15)}$$

$$G = 1 - 9K^{Br}_{(P5A)^{10+}} [P5A]_T \quad \text{(A.4.16)}$$

4.5.4 Uso de la lucigenina para verificar la complejación de los contraiones bromuro por el P5A

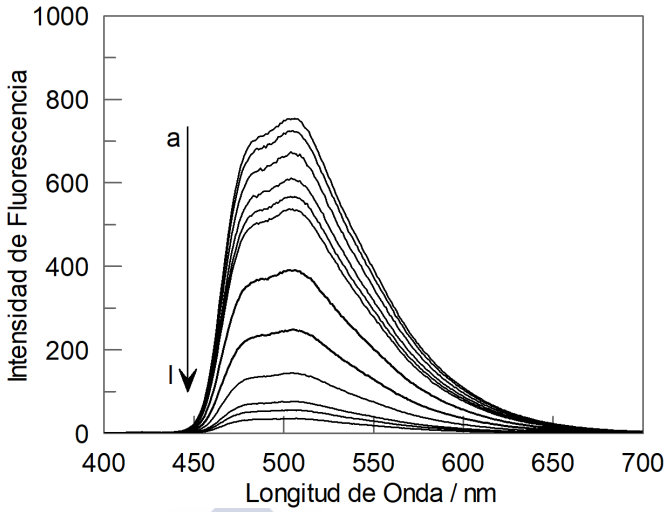


Figura A.4.3. Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) en presencia de mayores cantidades de NaBr (desde a=0 hasta l=3×10^{-2} M).

Los resultados del experimento de *quenching* de la fluorescencia de la lucigenina se ajustaron a una ecuación de Stern-Volmer de segundo orden del tipo:[34]

$$\frac{I_0}{I} = a + b[Br^-] + c[Br^-]^2 \qquad \text{(A.4.17)}$$

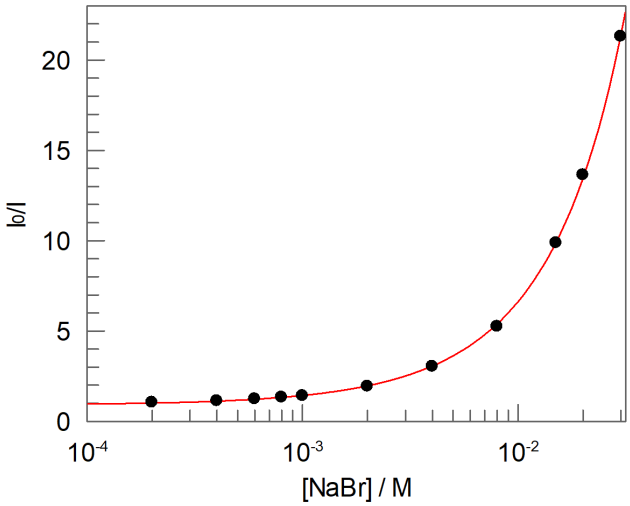


Figura A.4.4. Representación de I_o/I frente a la concentración de bromuro sódico de acuerdo a la ecuación de Stern-Volmer de segundo orden.

Tabla A.4.3. Concentración de contraión bromuro libre en función de la concentración de **P5A** obtenida por el método de *quenching* de fluorescencia de la lucigenina.

[P5A] / M	**$[Br^-]_{libre}$ / M**
$4{,}00\times10^{-5}$	$2{,}88\times10^{-4}$
$6{,}00\times10^{-5}$	$4{,}14\times10^{-4}$
$8{,}00\times10^{-5}$	$5{,}65\times10^{-4}$
$1{,}00\times10^{-4}$	$6{,}32\times10^{-4}$
$2{,}00\times10^{-4}$	$1{,}19\times10^{-3}$
$4{,}00\times10^{-4}$	$2{,}19\times10^{-3}$
$8{,}00\times10^{-4}$	$4{,}20\times10^{-3}$
$1{,}50\times10^{-3}$	$7{,}42\times10^{-3}$
$3{,}00\times10^{-3}$	$1{,}51\times10^{-2}$

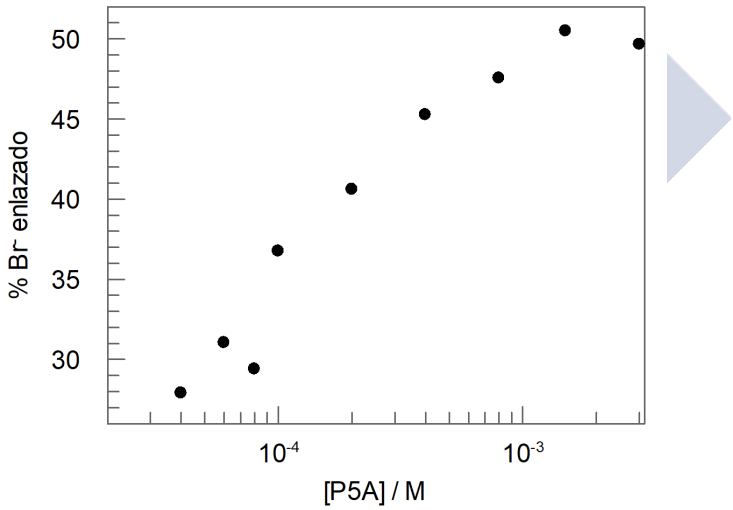


Figura A.4.5. Evolución del porcentaje de contraiones complejados, obtenidos por el método de *quenching*, en función de la concentración de macrociclo.

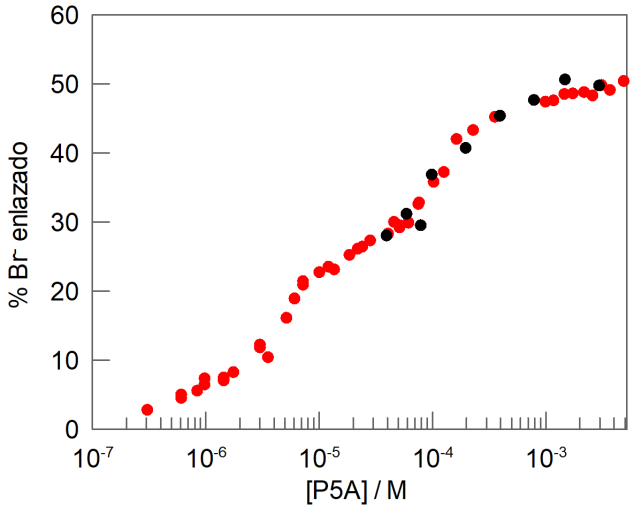


Figura A.4.6. Evolución del porcentaje de contraiones complejados en función de la concentración de macrociclo obtenidos con la lucigenina (negro) y con el ESI (rojo).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.5.5 Derivación de los microestados

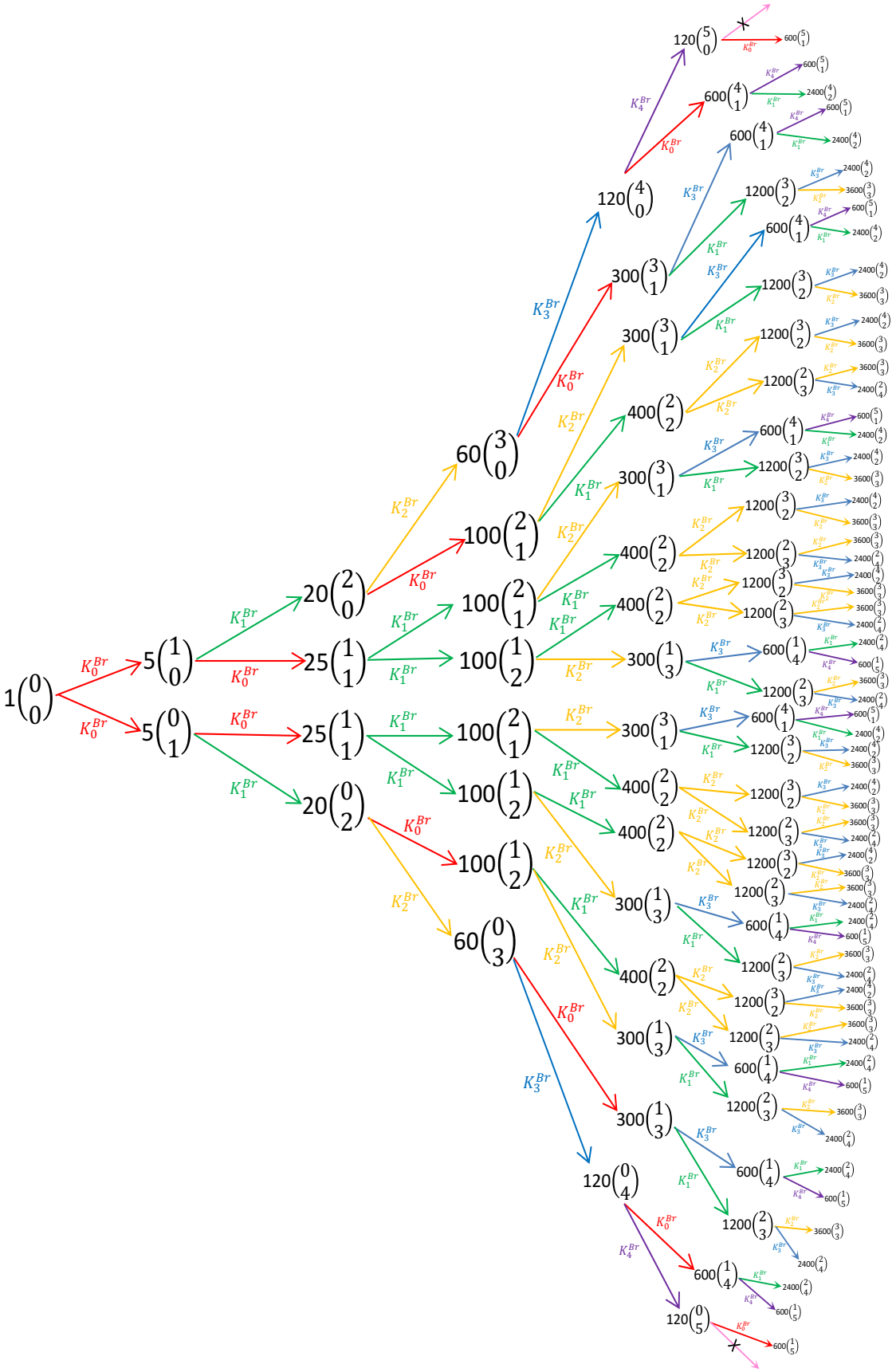


Figura A.4.7. Esquema de complejación microscópico entre el **P5A** y sus contraiones bromuro. K_0^{Br} (rojo); K_1^{Br} (verde); K_2^{Br} (amarillo); K_3^{Br} (azul); K_4^{Br} (violeta).

4.5.5.1 Relación entre las constantes microscópicas y macroscópicas

Formación de $(P5ABr)^{9+}$

La formación de la especie $(P5ABr)^{9+}$ viene definida por la ecuación (A.4.1). A la vez, dicha especie puede definirse como la contribución de los microestados:

$$[(P5ABr)^{9+}] = 5\binom{1}{0} + 5\binom{0}{1} \tag{A.4.18}$$

La constante de equilibrio de formación del microestado $\binom{1}{0}$ ó $\binom{0}{1}$ puede definirse como:

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{1}{0}}{[(P5A)^{10+}][Br^-]} \tag{A.4.19}$$

Combinando las ecuaciones (A.4.1), (A.4.18) y (A.4.19) se llega a la ecuación (A.4.20) que permite calcular el valor de K_0^{Br}.

$$K_0^{Br} = \frac{K_{(P5A)^{10+}}^{Br}}{10} \tag{A.4.20}$$

Formación de $(P5ABr_3)^{7+}$

La formación de la especie $(P5ABr_3)^{7+}$ viene definida por la ecuación (A.4.3). A la vez, dicha especie puede definirse como la contribución de los microestados:

$$[(P5ABr_3)^{7+}] = 120\binom{3}{0} + 200\binom{2}{1} + 400\binom{2}{1} \tag{A.4.21}$$

Las constantes de equilibrio de formación de los microestados $\binom{3}{0}$ y $\binom{2}{1}$ pueden definirse como:

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{2}{1}}{\binom{2}{0}[Br^-]} \tag{A.4.22}$$

$$K_1^{Br} = \frac{\binom{2}{1}}{\binom{1}{1}[Br^-]} \tag{A.4.23}$$

$$K_2^{Br} = \frac{\binom{3}{0}}{\binom{2}{0}[Br^-]} \tag{A.4.24}$$

Combinando las ecuaciones (A.4.3), (A.4.21), (A.4.22), (A.4.23) y (A.4.24) se llega a:

$$K_1^{Br}K_0^{Br}(120K_2^{Br} + 600K_0^{Br}) = K_{(P5ABr_2)^{8+}}^{Br}K_{(P5ABr)^{9+}}^{Br}K_{(P5A)^{10+}}^{Br} \tag{A.4.25}$$

Teniendo en cuenta que $K_0^{Br} \gg K_2^{Br}$, la ecuación (A.4.25) puede simplificarse para obtener la ecuación (A.4.26) que permite calcular el valor de K_1^{Br}.

$$K_1^{Br} = \frac{K^{Br}_{(P5ABr_2)^{8+}} K^{Br}_{(P5ABr)^{9+}}}{6K^{Br}_{(P5A)^{10+}}} \quad \text{(A.4.26)}$$

Formación de $(P5ABr_6)^{4+}$

La formación de la especie $(P5ABr_6)^{4+}$ viene definida por la ecuación (A.4.6). A la vez, dicha especie puede definirse como la contribución de los microestados:

$$[(P5ABr_6)^{4+}] = 1200\binom{5}{1} + 24000\binom{4}{2} + 72000\binom{3}{3} + 48000\binom{4}{2} + 6000\binom{5}{1} \quad \text{(A.4.27)}$$

Las constantes de equilibrio de formación de los microestados $\binom{5}{1}$, $\binom{3}{3}$ y $\binom{4}{2}$ pueden definirse como:

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{5}{1}}{\binom{5}{0}[Br^-]} \quad \text{(A.4.28)}$$

$$K_4^{Br} = \frac{\binom{5}{1}}{\binom{4}{1}[Br^-]} \quad \text{(A.4.29)}$$

$$K_1^{Br} = \frac{\binom{4}{2}}{\binom{4}{1}[Br^-]} \quad \text{(A.4.30)}$$

$$K_3^{Br} = \frac{\binom{4}{2}}{\binom{3}{2}[Br^-]} \quad \text{(A.4.31)}$$

$$K_2^{Br} = \frac{\binom{3}{3}}{\binom{3}{2}[Br^-]} \quad \text{(A.4.32)}$$

Combinando las ecuaciones (A.4.6), (A.4.27), (A.4.28), (A.4.29), (A.4.30), (A.4.31) y (A.4.32) se llega a la ecuación (A.4.33) que permite calcular el valor de K_2^{Br}.

$$K_2^{Br} = \frac{24K^{Br}_{(P5ABr_5)^{5+}}}{72} \quad \text{(A.4.33)}$$

4.5.5.2 Derivación de la ecuación para la complejación de hasta 6 contraiones por las diferentes microespecies del P5A

Los balances de materia del modelo propuesto en la Figura A.4.7, vendrán dados por las ecuaciones:

$$[P5A]_T = \binom{0}{0} + 10\binom{1}{0} + 40\binom{2}{0} + 50\binom{1}{1} + 120\binom{3}{0} + 200\binom{2}{1} + 400\binom{2}{1} + 240\binom{4}{0} + 600\binom{3}{1} + 1800\binom{3}{1} + 2400\binom{2}{2} + 240\binom{5}{0} + 1200\binom{4}{1} + 4800\binom{4}{1} + 9600\binom{3}{2} + 14400\binom{3}{2} + 1200\binom{5}{1} + 6000\binom{5}{1} + 24000\binom{4}{2} + 48000\binom{4}{2} + 72000\binom{3}{3} \quad \text{(A.4.34)}$$

$$[Br^-]_T = 10[P5A]_T = 10\binom{1}{0} + 80\binom{2}{0} + 100\binom{1}{1} + 360\binom{3}{0} + 1800\binom{2}{1} + 9600\binom{3}{1} + 9600\binom{2}{2} + 120000\binom{3}{2} + 432000\binom{3}{3} + 960\binom{4}{0} + 1200\binom{5}{0} + 30000\binom{4}{1} + 43200\binom{5}{1} + 432000\binom{4}{2} + [Br^-] \quad \text{(A.4.35)}$$

Además de las ecuaciones (A.4.19), (A.4.22), (A.4.23), (A.4.24), (A.4.28), (A.4.29), (A.4.30), (A.4.31) y (A.4.32), las constantes de equilibrio que rigen los diferentes procesos vendrán dadas por:

$$K_1^{Br} = \frac{\binom{2}{0}}{\binom{1}{0}[Br^-]} \quad \text{(A.4.36)}$$

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{1}{1}}{\binom{1}{0}[Br^-]} \quad \text{(A.4.37)}$$

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{3}{1}}{\binom{3}{0}[Br^-]} \quad \text{(A.4.38)}$$

$$K_2^{Br} = \frac{\binom{3}{1}}{\binom{2}{1}[Br^-]} \quad \text{(A.4.39)}$$

$$K_1^{Br} = \frac{\binom{2}{2}}{\binom{2}{1}[Br^-]} \quad \text{(A.4.40)}$$

$$K_1^{Br} = \frac{\binom{3}{2}}{\binom{3}{1}[Br^-]} \quad \text{(A.4.41)}$$

$$K_2^{Br} = \frac{\binom{3}{2}}{\binom{2}{2}[Br^-]} \quad \text{(A.4.42)}$$

$$K_3^{Br} = \frac{\binom{4}{0}}{\binom{3}{0}[Br^-]} \quad \text{(A.4.43)}$$

$$K_4^{Br} = \frac{\binom{5}{0}}{\binom{4}{0}[Br^-]} \tag{A.4.44}$$

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{4}{1}}{\binom{4}{0}[Br^-]} \tag{A.4.45}$$

$$K_3^{Br} = \frac{\binom{4}{1}}{\binom{3}{1}[Br^-]} \tag{A.4.46}$$

$$K_0^{Br} = \frac{\binom{5}{1}}{\binom{5}{0}[Br^-]} \tag{A.4.47}$$

De la combinación de las ecuaciones (A.4.34) y (A.4.35), junto con las de las constantes de equilibrio que definen el proceso ((A.4.19), (A.4.22), (A.4.23), (A.4.24), (A.4.28), (A.4.29), (A.4.30), (A.4.31), (A.4.32), (A.4.36), (A.4.37), (A.4.38), (A.4.39), (A.4.40), (A.4.41), (A.4.42), (A.4.43), (A.4.44), (A.4.45), (A.4.46) y (A.4.47)), resulta un polinomio de séptimo orden (ecuación (A.4.48)) para la determinación de la concentración de bromuro libre:

$$A[Br^-]^7 + B[Br^-]^6 + C[Br^-]^5 + D[Br^-]^4 + E[Br^-]^3 + F[Br^-]^2 + G[Br^-] - 10[P5A]_T = 0 \tag{A.4.48}$$

En donde:

$$A = 7200(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} K_4^{Br} + 72000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 K_2^{Br} K_3^{Br} + 72000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 (K_2^{Br})^2 \tag{A.4.49}$$

$$B = [(240K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} K_4^{Br} + 6000(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} + 24000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 K_2^{Br}) - (28800(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} K_4^{Br} + 288000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 K_2^{Br} K_3^{Br} - 720000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 (K_2^{Br})^2)[P5A]_T] \tag{A.4.50}$$

$$C = [(240K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} + 2400(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} + 2400(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2) - (1200K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} K_4^{Br} + 30000(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} + 120000(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2 K_2^{Br})[P5A]_T] \tag{A.4.51}$$

$$D = [(120K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} + 600(K_0^{Br})^2 K_1^{Br}) - (1440K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} K_3^{Br} + 14400(K_0^{Br})^2 K_1^{Br} K_2^{Br} + 14400(K_0^{Br})^2 (K_1^{Br})^2)[P5A]_T] \tag{A.4.52}$$

$$E = [(40K_0^{Br} K_1^{Br} + 50(K_0^{Br})^2) - (840K_0^{Br} K_1^{Br} K_2^{Br} + 4200(K_0^{Br})^2 K_1^{Br})[P5A]_T] \tag{A.4.53}$$

$$F = 10K_0^{Br} - (320K_0^{Br}K_1^{Br} + 400(K_0^{Br})^2)[P5A]_T \quad \text{(A.4.54)}$$

$$G = 1 - 90K_0^{Br}[P5A]_T \quad \text{(A.4.55)}$$

4.5.6 Titulaciones ITC "one set of binding sites" entre el *p*-toluensulfonato sódico y el P5A (con tetrafluoroborato y con bromuro como contraiones)

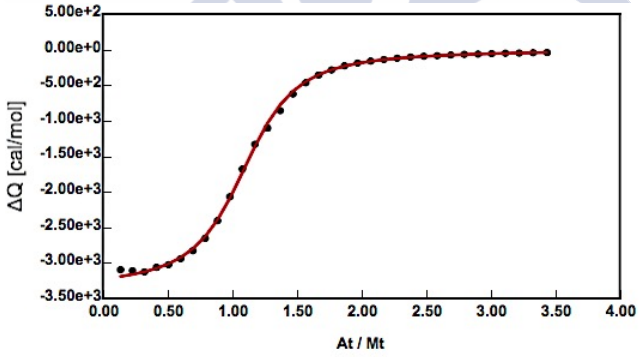


Figura A.4.8. Entalpograma obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación del **P5A** (con BF_4^- como contraión) con el *p*-toluensulfonato sódico: 0.2 mM con 3.3 mM. El calor de reacción se ajustó al modelo "*one set of binding sites*".

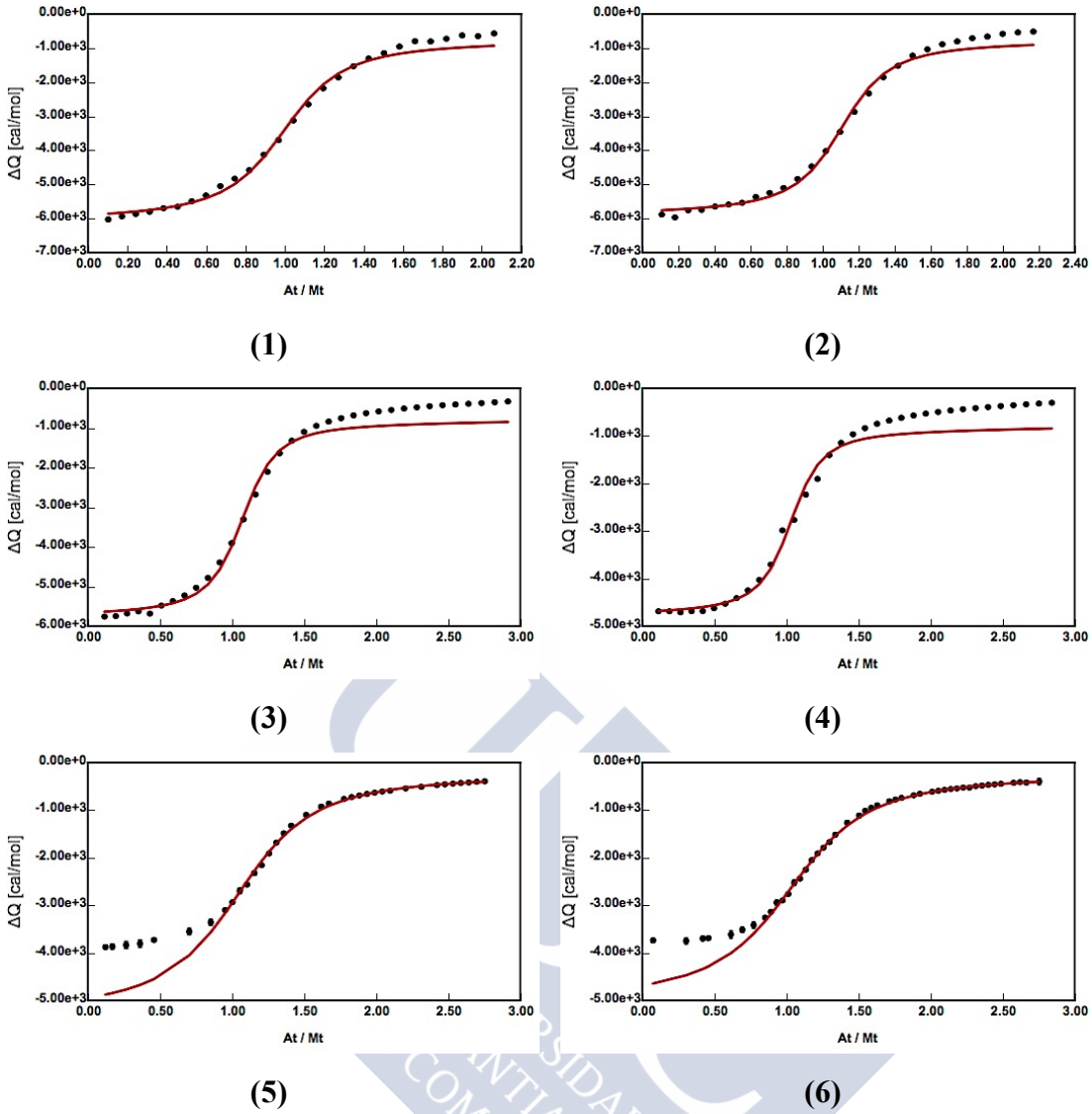
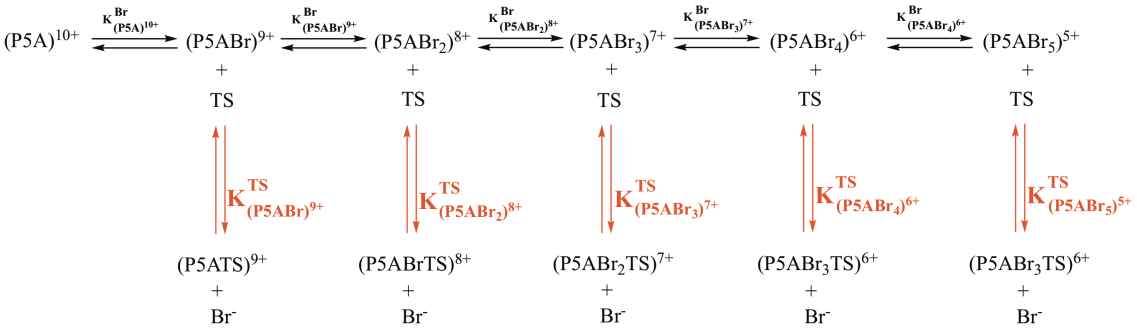


Figura A.4.9. Entalpogramas obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación del **P5A** (con Br^- como contraión) con el *p*-toluensulfonato sódico: (1) 0.025 mM con 0.25 mM, (2) 0.1 mM con 1mM, (3) 0.4 mM con 5.5 mM, (4) 0.8 mM con 11 mM, (5) 3 mM con 41 mM y (6) 4.5 mM con 62 mM. El calor de reacción se ajustó en todos los casos al modelo "*one set of binding sites*".

4.5.7 Modelo de complejación y ajuste de las titulaciones ITC para altas concentraciones de P5A



Esquema A.4.2

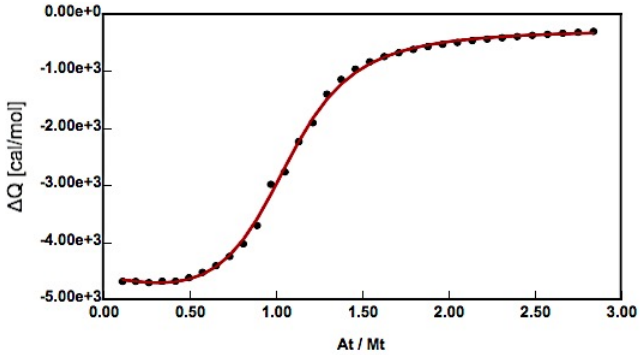
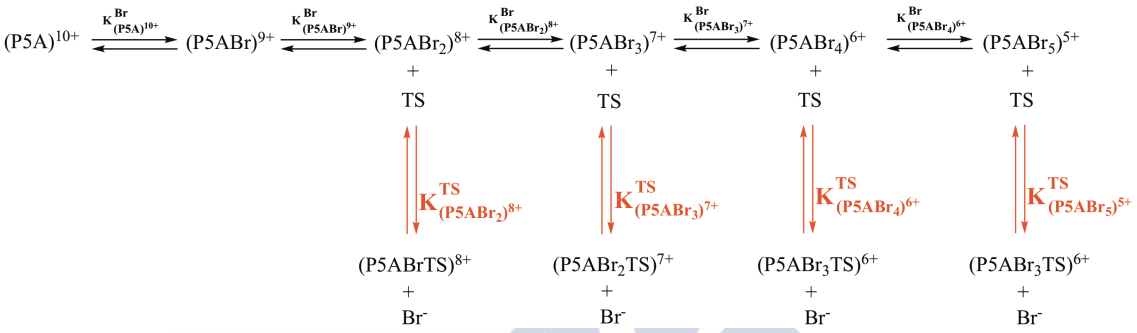


Figura A.4.10. Entalpograma obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación de **P5A** con el *p*-toluensulfonato sódico para una concentración de macrociclo de 8×10^{-4}M. El calor de reacción se ajustó al modelo representado en el Esquema A.4.2.



Esquema A.4.3

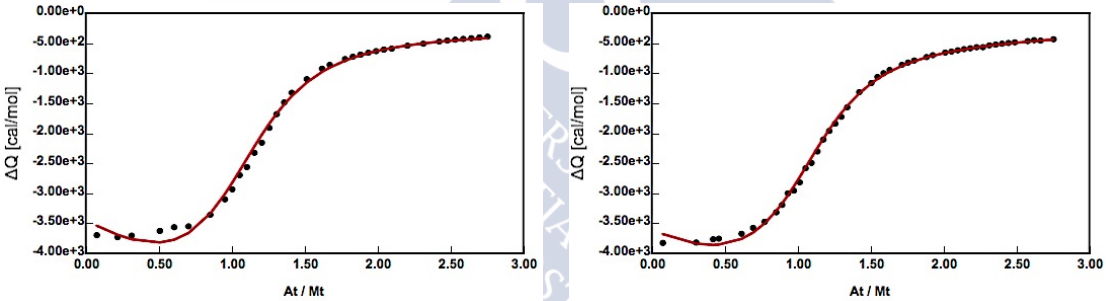


Figura A.4.11. Entalpogramas obtenidos a través de la integración del área de los picos calorimétricos de la titulación del **P5A** con el *p*-toluensulfonato sódico. Concentraciones de macrociclo: 3×10^{-3} M (izquierda) y 4.5×10^{-3} M (derecha). El calor de reacción se ajustó al modelo representado en el Esquema A.4.3.

4.5.8 Valoraciones ^{1}H RMN entre el P5A y el *p*-toluensulfonato sódico

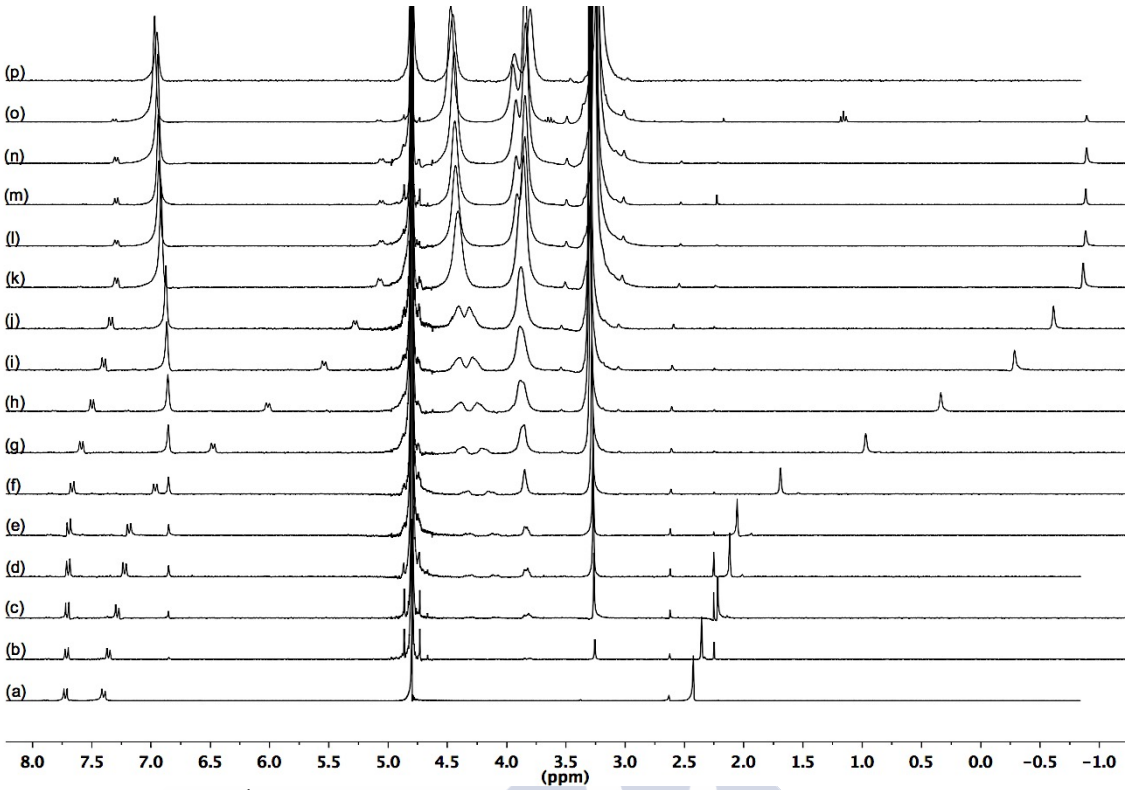


Figura A.4.12. Espectros ^{1}H RMN del *p*-toluensulfonato sódico (1 mM) en presencia de mayores cantidades de **P5A** en D_2O a 25 ºC: (b) 0.015 mM, (c) 0.05 mM, (d) 0.08 mM, (e) 0.1 mM, (f) 0.2 mM, (g) 0.4 mM, (h) 0.6 mM, (i) 0.8 mM, (j) 1 mM, (k) 2 mM, (l) 3 mM, (m) 3.5 mM, (n) 4 mM y (o) 10 mM. Los espectros (a) y (p) se corresponden con el *p*-toluensulfonato sódico (18 mM) y el P5A (1 mM) libres, respectivamente.

4.5.9 Espectro de absorción UV-Vis del TS

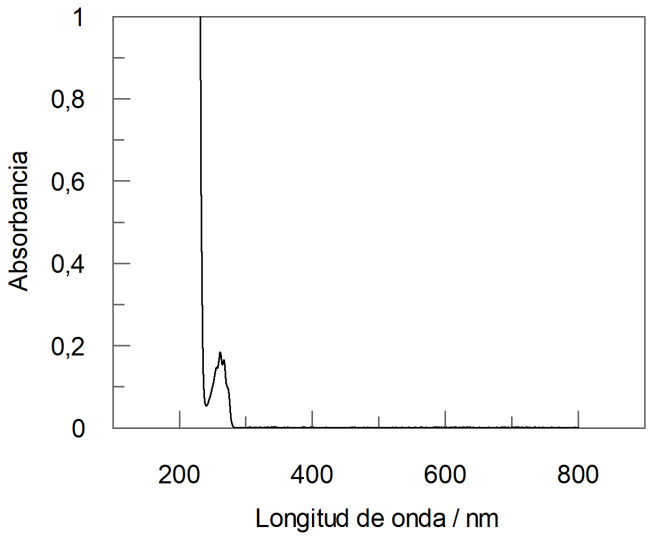


Figura A.4.13. Espectro de absorción del **TS** (0.2 mM) en H_2O a 25 ºC.

4.5.10 Uso de la lucigenina para evidenciar la complejación y el intercambio con otros aniones inorgánicos

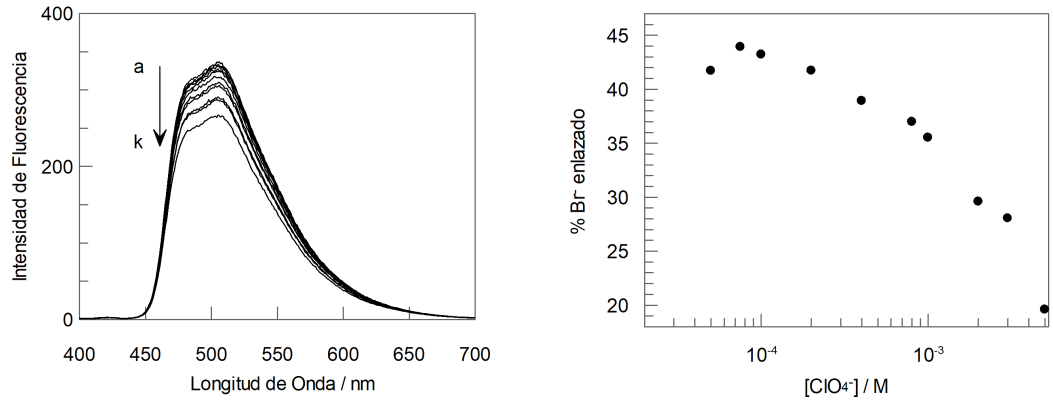


Figura A.4.14. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) con **P5A** (4×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de ClO_4^-(desde a=0 hasta k=5×10^{-3} M). Derecha: Evolución del porcentaje de contraiones Br^- complejados en función de la concentración de ClO_4^-.

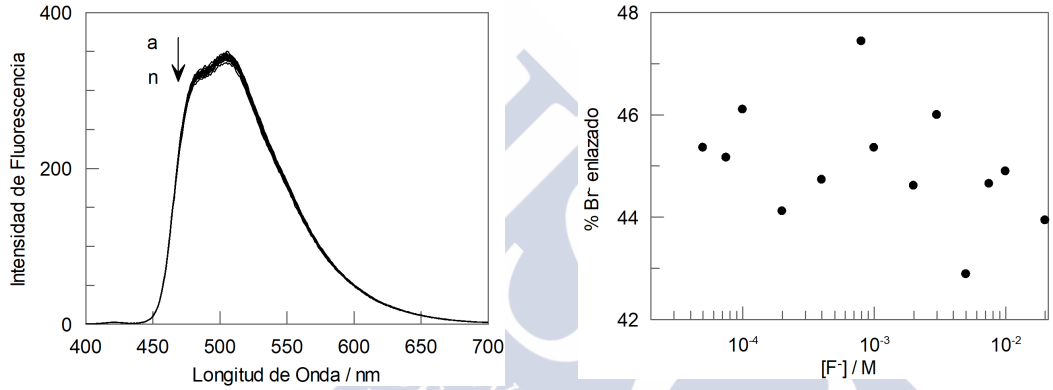


Figura A.4.15. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) con **P5A** (4×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de F^- (desde a=0 hasta n=2×10^{-2} M). Derecha: Evolución del porcentaje de contraiones Br^- complejados en función de la concentración de F^-.

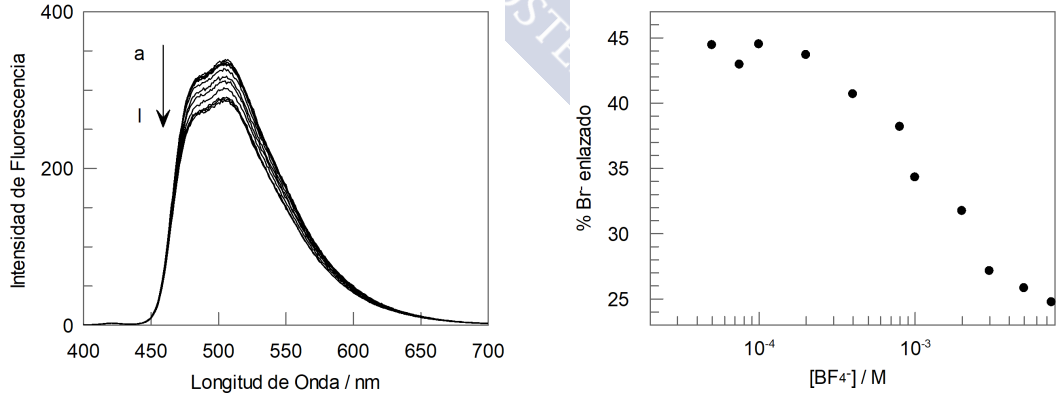


Figura A.4.16. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) con **P5A** (4×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de BF_4^-(desde a=0 hasta l=7.5×10^{-3} M). Derecha: Evolución del porcentaje de contraiones Br^- complejados en función de la concentración de BF_4^-.

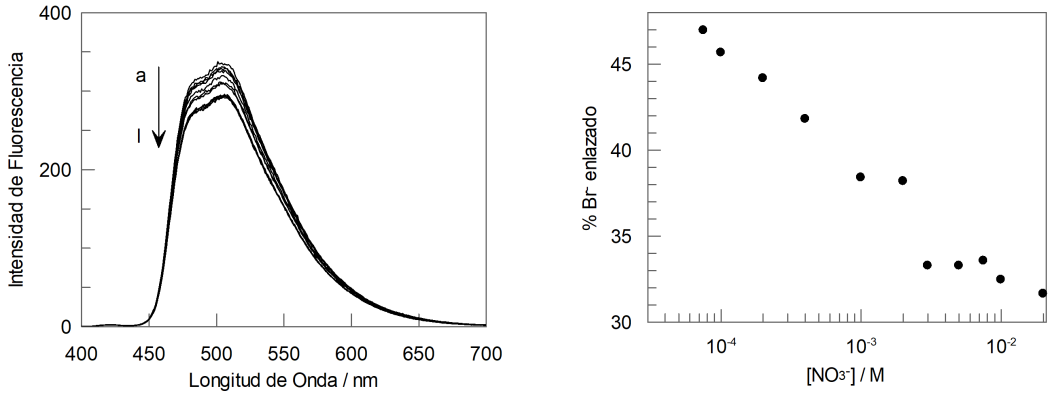


Figura A.4.17. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) con **P5A** (4×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de NO_3^-(desde a=0 hasta l=2×10^{-2} M). Derecha: Evolución del porcentaje de contraiones Br^- complejados en función de la concentración de NO_3^-.

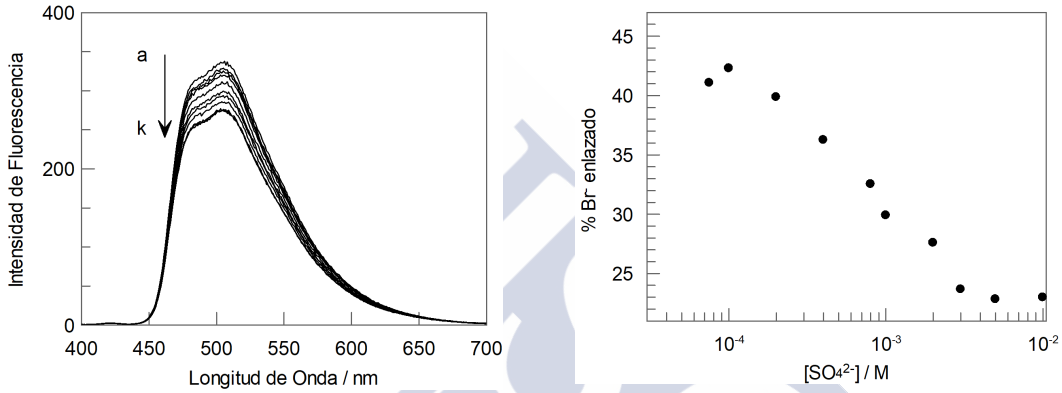


Figura A.4.18. Izquierda: Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) con **P5A** (4×10^{-4} M) en presencia de mayores cantidades de SO_4^{2-}(desde a=0 hasta k=1×10^{-2} M). Derecha: Evolución del porcentaje de contraiones Br^- complejados en función de la concentración de SO_4^{2-}.

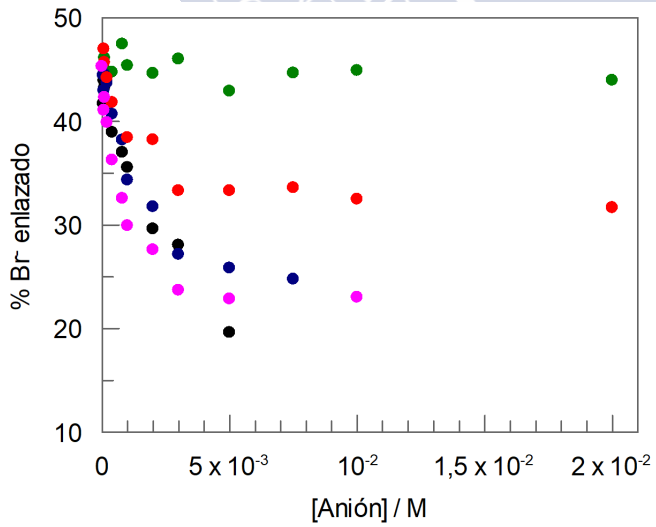


Figura A.4.19. Comparación del porcentaje de contraiones bromuro enlazados al **P5A** en función de la concentración de los diferentes aniones: (•) perclorato, (•) fluoruro, (•) tetrafluoroborato, (•) nitrato y (•) sulfato.

4.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(2) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. A.; Nakamoto, Y. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 7937-8002.

(3) Xue, M. I. N.; Yang, Y.; Chi, X.; Zhang, Z.; Huang, F. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1294-1308.

(4) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Schneebeli, S. T.; Stoddart, J. F. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2631-2642.

(5) Chen, W.; Zhang, Y.; Li, J.; Lou, X.; Yu, Y.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7956-7958.

(6) Ogoshi, T.; Ueshima, N.; Yamagishi, T.; Toyota, Y.; Matsumi, N. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3536-3538.

(7) Yao, Y.; Xue, M.; Chi, X.; Ma, Y.; He, J.; Abliz, Z.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6505-6507.

(8) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(9) Ogoshi, T.; Ueshima, N.; Yamagishi, T. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3742-3745.

(10) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; García-Río, L.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12123-12132.

(11) Gómez-González, B.; Francisco, V.; Montecinos, R.; García-Río, L. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 911-919.

(12) Evans, N. H.; Beer, P. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11716-11754.

(13) Gale, P. A.; Busschaert, N.; Haynes, C. J. E.; Karagiannidis, L. E.; Kirby, I. L. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 205-241.

(14) Santos-Figueroa, L. E.; Moragues, M. E.; Climent, E.; Agostini, A.; Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3489-3613.

(15) Kubik, S. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3648-3663.

(16) García-España, E.; Díaz, P.; Llinares, J. M.; Bianchi, A. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 2952-2986.

(17) Stoddart, J. F. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 14-15.

(18) Stoddart, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1802-1820.

(19) Gasa, T. B.; Valente, C.; Stoddart, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 57-58.

(20) Gasa, T. B.; Spruell, J. M.; Dichtel, W. R.; Sørensen, T. J.; Philp, D.; Stoddart, J. F.; Kuzmič, P. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 106-116.

(21) Huang, F.; Jones, J. W.; Slebodnick, C.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14458-14464.

(22) Jones, J. W.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7001-7004.

(23) Graf, E.; Lehn, J.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 5022-5024.

(24) Graf, E.; Lehn, J.-M. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 6403-6405.

(25) Seganish, J. L.; Fettinger, J. C.; Davis, J. T. *Supramol. Chem.* **2006**, *18*, 257-264.

(26) Moore, S. J.; Fisher, M. G.; Yano, M.; Tong, C. C.; Gale, P. A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 689-691.

(27) Bahmanjah, S.; Zhang, N.; Davis, J. T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4432-4434.

(28) Norouzy, A.; Azizi, Z.; Nau, W. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 792-795.

(29) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5308-5315.

(30) Francisco, V.; Piñeiro, A.; Nau, W. M.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 17809-17820.

(31) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 4710-4716.

(32) Lavande, N.; Acuña, A.; Basílio, N.; Francisco, V.; Malkhede, D. D.; García-Río, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19*, 13640-13649.

(33) Ben-Israel, A. *J. Math. Anal. Appl.* **1966**, *15*, 243-252.

(34) Zeng, H.; Durocher, G. *Journal of Luminescence* **1995**, *63*, 75-84.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 5

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

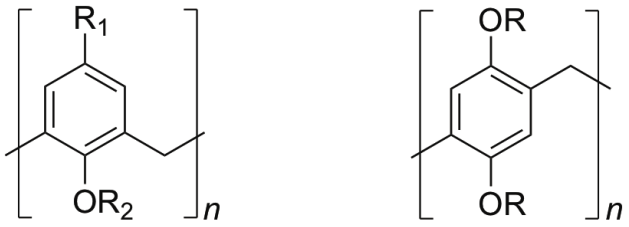
CAPÍTULO 5

5. COMPARACIÓN DE PILAR[5]ARENOS Y CALIX[4]ARENOS PARA SU USO COMO RECEPTORES MOLECULARES DE ANIONES EN MEDIO ACUOSO

5.1 INTRODUCCIÓN

Una de las áreas más fascinantes y exploradas en las últimas décadas en química supramolecular es, sin duda, la formación de complejos *host-guest*.[1] Por esta razón, también es continuado el interés en diseñar y sintetizar receptores macrocíclicos con propiedades y funciones específicas que mejoren la selectividad y afinidad a la hora de enlazar diferentes moléculas de interés. Desde el descubrimiento de las primeras moléculas *host* artificiales, los éteres corona,[2] otros macrociclos con potenciales capacidades para el reconocimiento molecular han sido sintetizados, como por ejemplo los cucurbiturilos,[3] los calixarenos[4] o, más recientemente, los pilararenos,[5] dando lugar a una gran variedad de macrociclos con diferencias en cuanto a tamaño, densidad de carga, flexibilidad y grupos funcionales.

De entre todas las clases de macrociclos utilizados en química supramolecular, los calixarenos (formados por unidades fenólicas que se unen a través de puentes metileno en posición *orto*) y los pilararenos (formados por hidroquinonas disustituidas unidas mediante puentes metileno en posición *para*) son seguramente los más similares entre sí en cuanto a composición, sin embargo, las características estructurales de cada uno de ellos dan como resultado diferencias en la simetría y flexibilidad de sus cavidades (Esquema 5.1). De esta forma, los calixarenos se caracterizan por tener una estructura flexible en forma de canasta, con un portal superior más ancho y un portal inferior más estrecho bien diferenciados, mientras que los pilararenos se caracterizan por su prácticamente perfecta simetría dando como resultado estructuras rígidas en forma de pilar con dos portales, superior e inferior, totalmente indistinguibles. Esta diferencia es muy importante en términos de reconocimiento molecular ya que, estadísticamente y en condiciones similares, un mismo *guest* tendría el doble de posibilidades de formar un complejo de inclusión con un pilarareno que de hacerlo con un calixareno.

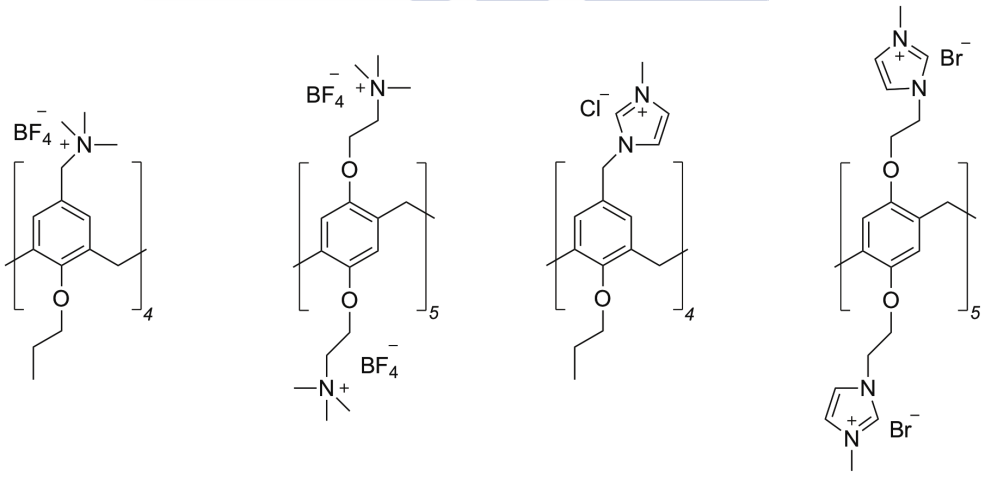


Calix[*n*]areno Pilar[*n*]areno

Esquema 5.1

Debido a que la gran mayoría de los procesos biológicos tienen lugar en medio acuoso, tendrán un mayor interés los receptores sintéticos que sean solubles en agua para así poder utilizar modelos que mimeticen dichos procesos. Sin embargo, la solubilidad tanto de calixarenos como de pilararenos en agua es reducida. Afortunadamente, una de las similitudes que presentan estas dos clases de receptores moleculares es su relativamente sencilla modificación química en comparación con otra clase de macrociclos,[6,7] de tal forma que la solubilidad en agua de este tipo de macrociclos puede lograrse funcionalizándolos con grupos funcionales altamente hidrofílicos que pueden ser iónicos (bien catiónicos, como grupos amonio o imidazolio, o bien aniónicos, como grupos carboxilato o sulfonato) o neutros como por ejemplo aminas terciarias.[8–15]

A diferencia de lo que ocurre con, por ejemplo, ciclodextrinas o cucurbiturilos, el hecho de utilizar calixarenos y pilararenos como *hosts* en condiciones acuosas neutras, implica la aparición de otra nueva característica común a ambos macrociclos, que es la presencia de contraiones. Este no es un hecho trivial, ya que implica la introducción de un nuevo potencial *guest* en el medio. En los últimos años, nuestro grupo de investigación ha prestado especial atención a la formación de complejos *host-guest* en agua[16–18] y, más recientemente, se ha esforzado en demostrar la influencia de los contraiones en la complejación de *guests* catiónicos, aniónicos o neutros por calixarenos y pilararenos,[19–21] concluyendo que los *hosts* iónicos poseen la capacidad de enlazar a su propio contraión, afectando así a su carga neta y modificando sus capacidades para actuar como receptores macrocíclicos, especialmente en el caso de los pilararenos, en los cuales ambos portales son modificados de tal forma que una gran cantidad de contraiones estarán presentes en disolución acuosa, dando lugar a un efecto más marcado.



Esquema 5.2.

Debido a que los pilar[5]arenos y los calix[4]arenos son los ejemplos más populares y utilizados de sus respectivas familias, en este estudio se compara tanto la capacidad de ambos macrociclos para enlazar sus propios contraiones como para complejar *guests* externos aniónicos (*p*-toluensulfonato y/o 4-hidroxibenzoato). Con el objetivo de mantener la conformación "cono", la hidrofobicidad del calix[4]areno se modificó mediante la introducción de cadenas alquílicas propílicas en el portal inferior. Aunque para obtener una mayor similaridad entre los receptores debería de utilizarse un calix[5]areno, el objetivo principal de este estudio es la comparación de la capacidad de reconocimiento de dos familias de receptores muy populares: calixarenos y pilararenos. A pesar de las diferencias estructurales entre calix[5]arenos y calix[4]arenos, las conclusiones alcanzadas en el presente trabajo pueden encontrar un amplio rango de

aplicaciones debido al uso generalizado del calix[4]areno. Por razones comparativas, tanto los pilararenos como los calixarenos utilizados se funcionalizaron en sus posiciones de reconocimiento con grupos trimetilamonio e imidazolio (Esquema 5.2).

En química *host-guest* se ha comprobado que un gran abanico de cationes, aniones y moléculas neutras pueden ser complejadas por calixarenos y pilararenos debido a su amplia versatilidad y alto grado de funcionalización. De entre todas las rutas sintéticas que pueden encontrarse en la bibliografía para construir calixarenos y pilararenos que actúen como receptores de aniones, las más sencillas y expeditivas suponen la funcionalización de sus posiciones de reconocimiento con grupos catiónicos, específicamente con grupos trimetilamonio y metilimidazolio.[8–11] Además de las interacciones electrostáticas y catión-π, la introducción de grupos metilimidazolio abre la oportunidad de que se generan enlaces de hidrógeno. Por otro lado, comparándolos con los grupos trimetilamonio, la funcionalización con metilimidazolio resulta en una mayor separación entre las cargas positivas y la cavidad rica en electrones, lo que incrementa el rango de posibilidades que maximicen la complementariedad entre *host* y *guest*.

5.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. Ver apéndice 5.5.1.

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular la constante de complejación del sistema (K), se utilizó el *software* ORIGIN (Microcal Inc.) partiendo de la curva de valoración. En todos los experimentos, el calor de reacción se ajustó al modelo "*one set of binding sites*" característico de complejos de inclusión con estequiometría 1:1. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN fueron adquiridos a 25 ºC en espectrómetros Varian Inova 500 (para el protón) y Varian Inova 300 (para el flúor) equipados con sondas de detección inversa ^{1}H/X de 5 mm con gradiente Z. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Espectroscopía de fluorescencia. Todas las medidas de fluorescencia se realizaron en disoluciones acuosas en cubetas de cuarzo de 1 cm^2 utilizando un fluorímetro Varian Cary Eclipse equipado con un portacubetas múltiple termostatizado a una temperatura constante de 25 ºC.

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN POR EL MACROCICLO

En el capítulo 2,[21] a través de experimentos de DOSY de ^{1}H y de ^{19}F,[22,23] se demostró que, dependiendo de la concentración de pilarareno, el **TMAP5** tiene la capacidad de enlazar hasta un total de 5 de sus 10 contraiones. Utilizando la misma metodología, se determinó la fracción de contraiones tetrafluoroborato (BF_4^-) que pueden enlazarse al **TMAC4**. Mediante experimentos de DOSY de ^{1}H y de ^{19}F, se obtuvieron los coeficientes de difusión de **TMAC4** y de sus contraiones BF_4^- para dos concentraciones de calixareno.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.1. Como puede observarse, el coeficiente de difusión obtenido para el **TMAC4** permanece prácticamente inalterado con el cambio de concentración del macrociclo, indicando que los efectos obstructivos no son importantes bajo las condiciones experimentales utilizadas. Además, los coeficientes de difusión del contraión decrecen muy lentamente con el aumento de la concentración de calixareno siendo menores que los del BF_4^- puro (1.68×10^{-5} cm^2 s^{-1}), de lo que se deduce que una cierta fracción de los mismos está siendo complejada por el calixareno.

El coeficiente de difusión del BF_4^- del calixareno ($D_{BF_4^-}^{TMAC4}$) permite obtener la fracción molar de contraión enlazado al macrociclo ($\chi_{asociado}^{BF_4^-}$) utilizando la ecuación (5.1) en la cual ($D_{libre}^{BF_4^-}$) es el coeficiente de difusión del BF_4^- libre obtenido a partir de medidas en disoluciones de KBF_4 y D_{TMAC4}^{TMAC4} es el coeficiente de difusión del calixareno.

$$\chi_{asociado}^{BF_4^-} = \frac{D_{libre}^{BF_4^-} - (D_{BF_4^-}^{TMAC4})}{D_{libre}^{BF_4^-} - D_{TMAC4}^{TMAC4}} \qquad (5.1)$$

Teniendo en cuenta que la relación molar *host*/contraión se mantuvo constante en todos los experimentos (1:4), los valores calculados para $\chi_{asociado}^{BF_4^-}$ (Tabla 5.1) muestran que el **TMAC4** puede acomodar aproximadamente uno o ningún contraión BF_4^- dentro de su cavidad. Así, los resultados muestran que la carga neta positiva del portal superior del **TMAC4** no se ve especialmente afectada por su concentración, al contrario de lo que sucede en el caso de los pilar[5]arenos,[21] los cuales pueden complejar hasta un total de 5 de sus contraiones en función de cual sea su concentración. Como consecuencia de dicha complejación, la carga neta del **TMAP5** cambia desde aproximadamente 10 cargas positivas (para [**TMAP5**] $\leq 10^{-6}$ M) hasta 5 cargas positivas para [**TMAP5**] $\geq 10^{-3}$ M.

Tabla 5.1. Fracción molar de contraión complejado para disoluciones de diferentes concentraciones de **TMAC4**. Todas las medidas fueron realizadas en D_2O a 25 ºC. Los coeficientes de difusión obtenidos presentan un error máximo del 5%.

[TMAC4] (M)	$D_{BF_4^-}^{TMAC4}$ (10^{-5} cm^{2}s^{-1})	D_{TMAC4}^{TMAC4} (10^{-6} cm^{2}s^{-1})	$\chi_{asociado}^{BF_4^-}$
0.001	1.509	2.761	0.122
0.002	1.485	2.786	0.139

Sabiendo que la complejación de BF_4^- por el **TMAP5** y el **TMAC4** está principalmente conducida por interacciones electrostáticas, se decidió reemplazar los grupos trimetilamonio por grupos imidazolio para chequear si la formación de enlaces de hidrógeno, sumada a las interacciones electrostáticas, afectarían al proceso de complejación de los contraiones. Para testar esta posibilidad, se utilizó un pilar[5]areno y un calix[4]areno funcionalizados en sus posiciones de reconocimiento con grupos

metilimidazolio (**IP5** y **IC4** en el Esquema 5.2). Los resultados experimentales se obtuvieron utilizando una sonda fluorescente que permite conocer la concentración de iones haluro que coexisten libres en equilibrio con los macrociclos, de tal forma que, conociendo la concentración de haluros libres, puede calcularse con facilidad la fracción molar de contraiones asociados a los receptores moleculares. Para ello se utilizó la lucigenina,[24,25] una sonda fluorescente catiónica derivada del acridinio que no interaccionará con macrociclos catiónicos como el **IP5** o el **IC4**, pero cuya fluorescencia puede ser eficientemente desactivada[26] por diferentes aniones como haluros, cianuros o tiocianatos entre otros, permitiendo así obtener fácilmente la concentración de haluros libres en equilibrio con los macrociclos.

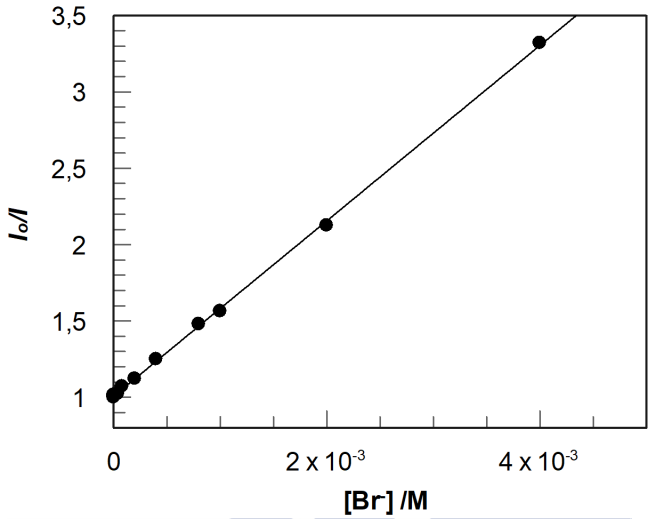


Figura 5.1. Representación de I_0/I frente a la concentración de bromuro sódico de acuerdo a la ecuación de Stern-Volmer. [Lucigenina]= 1×10^{-6} M.

Antes de realizar los experimentos en presencia de pilar[5]areno y de calix[4]areno y, a modo de calibrado, se evaluó el *quenching* efectivo de la lucigenina con una sal del mismo haluro (Figura 5.1). La relación entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de *quencher* (aniones Br^- o Cl^-) puede describirse con la ecuación de Stern-Volmer (ecuación (5.2)):

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Quencher] \qquad (5.2)$$

en la cual I_0 es la intensidad de fluorescencia del fluoróforo en ausencia de *quencher*, I es la intensidad en presencia de los *quenchers* haluro y K_{SV} es la constante de *quenching* de Stern-Volmer.[25] Las K_{SV} obtenidas en medio acuoso para los calibrados fueron de 404,4 M^{-1} y de 574,4 M^{-1} para el Cl^- y el Br^-, respectivamente.[27]

La Figura 5.2 muestra la inhibición de la fluorescencia de la lucigenina en presencia de **IP5** en función de la concentración de macrociclo. Cabe comentar que, al aumentar la concentración de **IP5** se está aumentando también la concentración de iones Br^-, pues el pilarareno posee diez contraiones que *quenchean* eficientemente la fluorescencia de la lucigenina. Además, en dicho experimento se percibió la aparición de una nueva banda fluorescente en la región de 410-450 nm al aumentar la concentración de macrociclo. Dicha banda se atribuyó al carácter fluorescente del **IP5** (ver más adelante). Bajo las condiciones experimentales utilizadas no se observó inhibición de la fluorescencia de la lucigenina por parte de los macrociclos, probablemente debido a las repulsiones electrostáticas entre los receptores catiónicos y la sonda fluorescente.

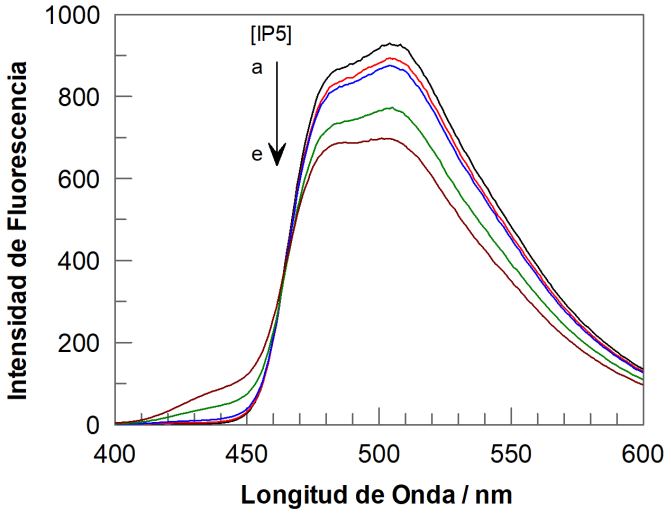


Figura 5.2. Espectros de fluorescencia de la lucigenina (1×10^{-6} M) en presencia de mayores cantidades de **IP5** (desde a = 0 M hasta e = 1×10^{-4} M). λ_{exc}=368 nm.

A partir de los datos de la Figura 5.2 y utilizando la ecuación de Stern-Volmer obtenida previamente para las sales de haluro, puede obtenerse fácilmente el porcentaje de contraiones asociados a los macrociclos. Tal y como se muestra en la Figura 5.3, dicho porcentaje aumenta con la concentración de macrociclo, pues existirán 10 contraiones presentes con el mismo. Como se mostró con anterioridad, el pilar[5]areno posee una mayor capacidad para enlazar sus contraiones que el calix[4]areno. En el caso del **IP5**, el porcentaje de carga neutralizada aumenta con la concentración del macrociclo hasta alcanzar un valor límite cercano al 45 %, o, lo que es lo mismo, el **IP5** tiene la capacidad para enlazar hasta 4 ó 5 de sus contraiones. En el caso de los calixarenos éste no es un fenómeno tan destacado, pues el valor límite se alcanza alrededor del 25 % de carga neutralizada, lo que indica que solo un contraión cloruro está siendo enlazado por el macrociclo.[27]

A la vista de los resultados obtenidos, puede decirse que la capacidad de ambos macrociclos para asociarse a sus contraiones sirve en cierto modo como una medida de la capacidad que tienen los mismos para actuar como receptores moleculares de aniones. Como pudo verse, el **TMAP5** y el **IP5** tienen más o menos la misma tendencia de asociarse a sus contraiones. Los contraiones tetrafluoroborato enlazados a los grupos trimetilamonio del **TMAP5** neutralizan aproximadamente el 50 % de la carga del macrociclo para concentraciones superiores a 0.1 mM,[21] que es un resultado muy similar al encontrado con los iones bromuro y el **IP5**, aun teniendo en cuenta el diferente carácter hidrofóbico de ambos contraiones, pues los iones bromuro son más hidrofílicos que los tetrafluoroborato, de tal forma que una mayor fracción de carga neutralizada debería esperarse para el pilarareno funcionalizado con grupos trimetilamonio. Por otro lado, en el caso del **IP5**, además de las interacciones electrostáticas también deberían de tenerse en cuenta la formación de enlaces de hidrógeno para explicar la capacidad del macrociclo de actuar como receptor de aniones. La diferencia es mayor cuando se utiliza el calix[4]areno como receptor. Utilizando el **IC4**, un contraión cloruro se asocia al macrociclo a concentraciones superiores a 0.5 mM, situación que no llega a alcanzarse usando el **TMAC4**, debido a la mayor hidrofobicidad del BF_4^- en comparación con la del Cl^-. Como se mostrará a continuación, esta diferente capacidad de reconocimiento de aniones inorgánicos puede hacerse extensible también a aniones orgánicos como el *p*-toluensulfonato y el 4-hidroxibenzoato. Los resultados experimentales muestran que el calixareno (y no tanto el pilarareno) es muy selectivo en cuanto a que su capacidad de

reconocimiento depende fuertemente de la estructura de los grupos de cabeza y por lo tanto de la naturaleza de las interacciones intermoleculares (principalmente interacciones electrostáticas y/o enlaces de hidrógeno).

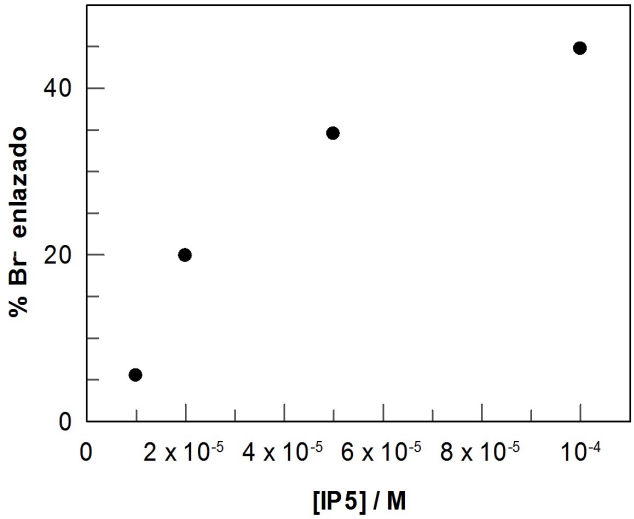


Figura 5.3. Evolución del porcentaje de contraiones bromuro complejados en función de la concentración de macrociclo **IP5**.

5.3.2 COMPLEJACIÓN CON EL *P*-TOLUENSULFONATO SÓDICO

En el capítulo 2 se mostró un profundo y detallado análisis de la química *host-guest* del **TMAP5** utilizando el *p*-toluensulfonato como modelo de *guest* aniónico.[21] Los resultados determinaron la formación de un complejo de inclusión altamente estable entre ambas especies con estequiometría 1:1, encontrando una constante de asociación del orden de 10^6 M^{-1}. Además, se encontró que, a altas concentraciones de *guest*, el pilar[5]areno no sólo forma los complejos 1:1, sino que también puede complejar una segunda molécula de *guest* de manera externa.

Con el objetivo de continuar la comparación sobre la capacidad receptora de pilararenos y calixarenos, se estudió la afinidad entre el *p*-toluensulfonato y el calixareno modificado con grupos trimetilamonio (**TMAC4**). Sorprendentemente, los experimentos realizados sugieren que no tiene lugar la formación de complejos de inclusión entre ambas especies. Las titulaciones de RMN de ^{1}H demuestran que la sucesiva adición de mayores cantidades de *p*-toluensulfonato a muestras de concentración fija de **TMAC4** no generan el desplazamiento de ninguna de las señales del huésped, indicando que éste no llega a adentrarse en la cavidad rica en electrones del macrociclo. Cuando la relación *guest*/*host* es igual o mayor que 10, puede observarse un cambio en picos específicos del macrociclo, así como un ligero desplazamiento hacia campo alto. Sin embargo, a través de experimentos de emisión de fluorescencia del pireno[28] se pudo comprobar que la sucesiva adición de *p*-toluensulfonato al **TMAC4** resulta en una disminución de su concentración micelar crítica como consecuencia de la gran cantidad de sal añadida al medio, es decir, que los cambios en las señales de RMN del **TMAC4** en presencia de gran exceso de *p*-toluensulfonato se deben a la auto-agregación del *host* y no a la complejación del *guest*.[27]

El cambio en las posiciones de reconocimiento de grupos trimetilamonio por grupos imidazolio aumenta el número de posibles interacciones que puedan tener lugar para el reconocimiento de aniones. Como se vio anteriormente, estos cambios estructurales tienen un importante efecto en la complejación de los contraiones del calixareno y, por lo tanto, también deberían de repercutir en la complejación de *guests* aniónicos añadidos al medio de manera externa.

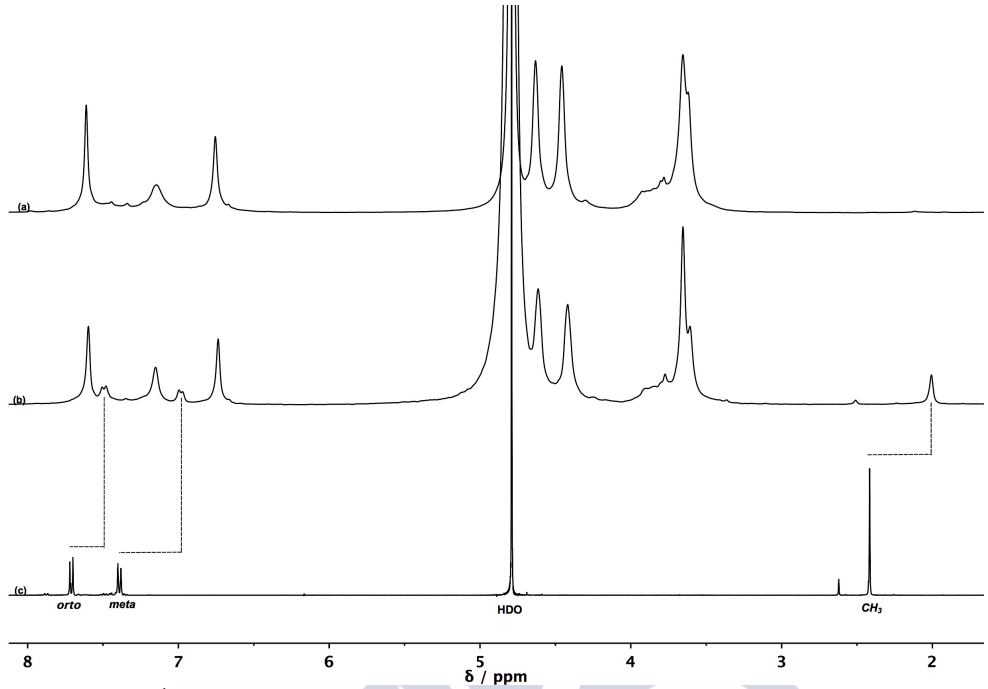


Figura 5.4. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC: (a) **IP5** 2 mM, (b) **IP5** y *p*-toluensulfonato 2 mM y (c) *p*-toluensulfonato 2 mM.

La Figura 5.4 muestra los espectros de RMN de protón del *p*-toluensulfonato en D_2O obtenidos en ausencia y en presencia del **IP5**. Como puede observarse, los desplazamientos químicos de las señales de los protones del *p*-toluensulfonato hacia campo alto tras la adición del macrociclo catiónico sugiere la formación de un complejo de inclusión. Los protones con mayor variación de desplazamiento ($\Delta\delta$) son los del grupo $-CH_3$ seguidos, por este orden, por los protones en *–meta* y en *–orto* al grupo sulfonato, indicando que el grupo metilo del *guest* debe de estar más incorporado en la región de apantallamiento magnético de la cavidad del macrociclo, mientras que el grupo sulfonato se quedaría apuntando hacia las cargas positivas de las unidades imidazolio del *host*. Continuando la comparación puede decirse que, aunque el efecto sigue siendo más marcado en el caso del pilarareno, es destacable que se ha pasado de la no interacción entre un huésped aniónico sencillo (el *p*-toluensulfonato) y un calixareno anfifílico modificado con grupos trimetilamonio en sus posiciones de reconocimiento (**TMAC4**) a la formación de un complejo de inclusión entre ambas especies cuando la funcionalización del macrociclo se realizó utilizando grupos metilimidazolio (**IC4**).[27] Este hecho demuestra que una correcta elección de las unidades de reconocimiento es un paso crucial en el diseño y construcción de este tipo de receptores moleculares.

Con el objetivo de cuantificar la fortaleza y la estabilidad de los complejos de inclusión, así como para investigar el origen termodinámico de ambos procesos, se realizaron experimentos de calorimetría isotérmica de titulación (ITC). En el experimento, cada adición de *p*-toluensulfonato a una muestra de **IC4** dio lugar a un calor de reacción aparente causado por la formación de un complejo de inclusión formado entre

ambas especies.[27] Para obtener tanto la constante de asociación (K = (1.6±0.1)×10^3 M^{-1}) como los parámetros termodinámicos del proceso, los resultados de la valoración se ajustaron a un modelo de complejación simple 1:1 (*"one set of binding sites"*). Los resultados obtenidos indican que la complejación está principalmente dirigida por cambios entálpicos favorables (ΔH^o=-6500±200 J/mol), consecuencia de las interacciones no covalentes que ocurren entre ambas especies en el proceso de complejación, acompañada de cambios entrópicos también favorables (ΔS^o=39.3 J/mol K) relacionados con efectos de desolvatación y cambios conformacionales de ambas especies.[29]

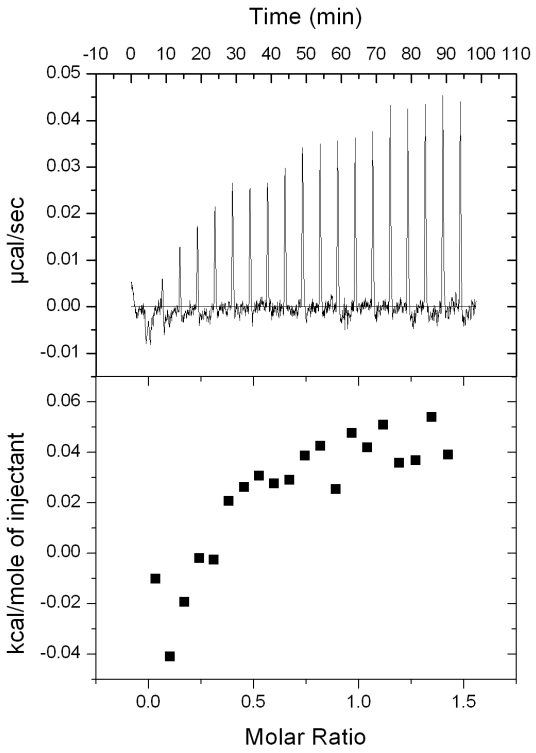


Figura 5.5. Valoración microcalorimétrica del **IP5** con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultado para 35 inyecciones secuenciales (8µL por inyección) de una disolución de *p*-toluensulfonato (2 mM) sobre una disolución de **TMAP5** (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

Curiosamente, en condiciones similares a las utilizadas en la titulación del *p*-toluensulfonato con el **TMAP5**, en las que se detectaron grandes cantidades de calor de reacción aparente,[21] la titulación calorimétrica entre el *p*-toluensulfonato y el pilarareno análogo modificado con grupos metilimidazol (**IP5**) no mostró un calor de reacción aparente significativo (Figura 5.5). No obstante, ya que la titulación por RMN de ^{1}H confirmó la formación de un complejo de inclusión entre ambas especies (los cambios en los desplazamientos químicos experimentados por los protones del *p*-toluensulfonato son alrededor de 4 veces mayores utilizando el **IP5** que usando el **IC4**), este fenómeno probablemente esté relacionado con una especie de compensación entalpía-entropía, la cual suele ocurrir cuando ΔG^o es aproximadamente constante durante el proceso mientras que ΔH^o y ΔS^o varían significativamente, dando lugar a una termoneutralidad que imposibilita la detección de la asociación entre un *host* y un *guest* mediante la titulación directa en el calorímetro.[30,31] Por esta razón, con el objetivo de averiguar la constante de asociación para el complejo formado entre el *p*-toluensulfonato y el **IP5**, se realizaron

titulaciones competitivas (mediante experimentos de fluorescencia) cuyo resultado y discusión se muestra más adelante.

5.3.3 COMPLEJACIÓN CON EL 4-HIDROXIBENZOATO

Como se ha mostrado, tanto por el estudio de la complejación de los contraiones como del *p*-toluensulfonato, el calixareno funcionalizado con grupos imidazolio (**IC4**) se comporta como un mejor receptor de aniones que su análogo modificado con grupos trimetilamonio (**TMAC4**). Este diferente comportamiento se ha atribuído a las interacciones por enlace de hidrógeno, sumadas a las electrostáticas, que pueden generar los grupos imidazolio y no los trimetilamonio.

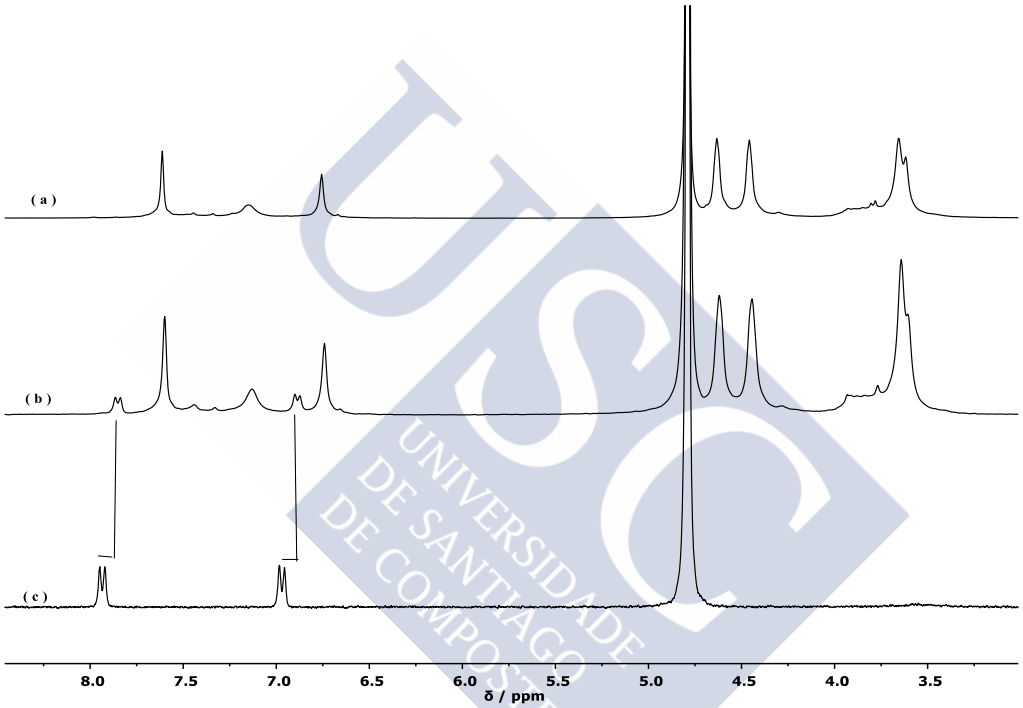


Figura 5.6. Espectros ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O, 25 ºC): (a) **IP5** (2 mM), (b) **IP5** (2 mM) con 4-hidroxibenzoato (2 mM) y (c) 4-hidroxibenzoato (2 mM).

Para finalizar la comparación, se escogió otro *guest*, el anión 4-hidroxibenzoato, con el que también debería de ser posible la formación de interacciones de enlace de hidrógeno tipo iónicas $(C\text{-}H)^{+}\cdots X^{-}$.[35] En la Figura 5.6 se muestran los espectros de RMN de ^{1}H del complejo formado entre el 4-hidroxibenzoato y el pilarareno funcionalizado con grupos metilimidazol, **IP5**. Como puede verse, en este caso se encontraron pequeños cambios en los desplazamientos químicos de los protones aromáticos del *guest*, concretamente de $\Delta\delta$= -0.1 ppm. Como ocurre con el *p*-toluensulfonato, el efecto es bastante más pronunciado en el caso del pilarareno seguramente como consecuencia de una mejor encapsulación del *guest* dentro del **IP5** que del **IC4**.[27] Por otro lado, y teniendo en cuenta que el *p*-toluensulfonato y el 4-hidroxibenzoato son bastante similares en cuanto a tamaño y forma se refiere, el menor cambio de los desplazamientos químicos encontrado al utilizar el 4-hidroxibenzoato como *guest* podría explicarse si este no se encuentra tan adentrado en la cavidad aromática de los macrociclos como sí lo hace el *p*-toluensulfonato con el pilarareno. Por lo tanto, puede decirse que al usar el 4-hidroxibenzoato tendrán más influencia las interacciones que ocurren entre las unidades

de imidazolio y el grupo carboxilato del *guest* (interacciones electrostáticas y de enlaces de hidrógeno) en comparación con las que ocurren al utilizar el *p*-toluensulfonato, de tal forma que el complejo se estabiliza más en la zona del portal del macrociclo que en su cavidad aromática.

Cuando se realizó la valoración calorimétrica del 4-hidroxibenzoato con el **IC4**, cada inyección de 4-hidroxibenzoato en una muestra de macrociclo dio lugar a un calor de reacción aparente provocado por la formación de un complejo de inclusión entre ambas especies. Tras el ajuste de los datos de la titulación al modelo simple de complejación 1:1 *"one set of binding sites"*, se obtuvo una constante de asociación, $K = (1.9\pm0.2)\times10^4$ M^{-1}, aproximadamente diez veces mayor que la obtenida al utilizar el *p*-toluensulfonato como *guest*. Además, también se encontró que el complejo formado con el 4-hidroxibenzoato está más favorecido entálpicamente (ΔH^o=-13400±400 J/mol) que su análogo con *p*-toluensulfonato, como consecuencia de las mayores interacciones no covalentes que tienen lugar en el proceso de complejación, mientras que los cambios entrópicos favorables son similares en ambos casos (ΔS^o=37 J/mol K).[27] De esta forma, los resultados vuelven a mostrar la rica versatilidad que este tipo de macrociclos pueden ofrecer al campo de la química *host-guest*, pues utilizando un calixareno anfifílico como receptor catiónico y a través de unas correctas modificaciones, se consiguió pasar de la no interacción entre un *guest* (el *p*-toluensulfonato) y un *host* (**TMAC4**) a la formación de complejos de inclusión estables (entre el *host* **IC4** y los guests *p*-toluensulfonato y 4-hidroxibenzoato).

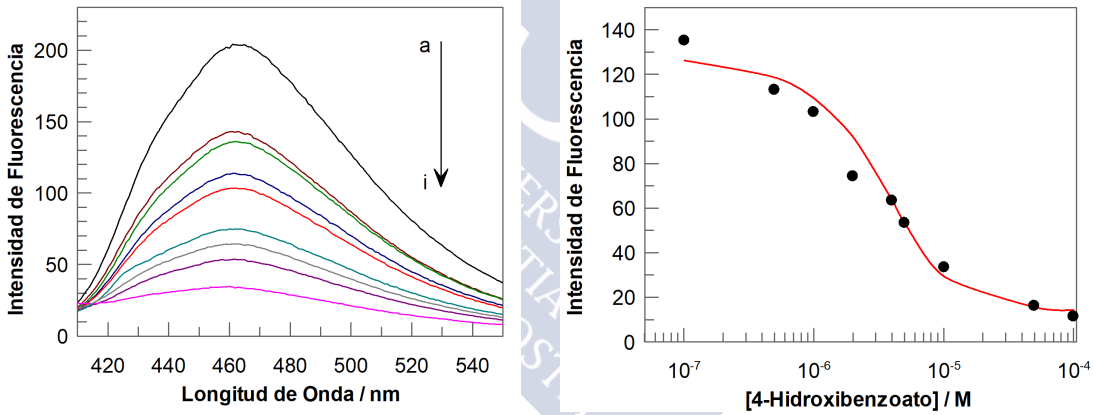


Figura 5.7. Izquierda: Porción del espectro de emisión de fluorescencia del **IP5** (5×10^{-6} M) con diferentes concentraciones de 4-hidroxibenzoato (desde a=0 M hasta i=1×10^{-4} M) en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}=292 nm. Derecha: Influencia de la concentración de 4-hidroxibenzoato en la intensidad de fluorescencia (a 464 nm) del **IP5** en disolución acuosa a 25 ºC. [**IP5**]=5×10^{-6} M. La línea roja representa el ajuste no lineal al modelo de complejación 1:1.

El hecho de funcionalizar el pilar[5]areno con grupos imidazolio (**IP5**) otorga al receptor catiónico una especial e interesante característica que no tiene lugar en el caso del **IC4**, y que es su carácter fluorescente, convirtiéndolo así en un potencial quimiosensor fluorescente. Así, se encontró que la adición del *guest* 4-hidroxibenzoato consigue *quenchear* la banda de emisión del **IP5**, localizada alrededor de los 464 nm (excitación a 292 nm). Para determinar la constante de asociación entre el 4-hidroxibenzoato y el **IP5**, se realizaron medidas de fluorescencia (Figura 5.7-izquierda) a muestras de concentración fija de macrociclo ([**IP5**]=5×10^{-6} M) a las cuales se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de 4-hidroxibenzoato. El ajuste no lineal de los resultados obtenidos a un modelo de complejación 1:1 (Figura 5.7-derecha) proporciona un valor para la constante de asociación de $K=(1.1\pm0.2)\times10^6$ M^{-1}, que es un valor perfectamente compatible con los obtenidos previamente para la formación del complejo de inclusión entre el *p*-toluensulfonato y el **TMAP5**,[21] mostrando así la

excelente capacidad de estos macrociclos para actuar como receptores de aniones en disolución acuosa. Además, sabiendo que los contraiones compiten con los *guests* por adentrarse en la cavidad del macrociclo (influyendo fuertemente en las constantes de formación de los complejos según se aumenta la concentración de pilarareno de 1×10^{-5} M a 1×10^{-3} M), en este estudio se utilizó una disolución muy diluída de **IP5** (5×10^{-6} M), de tal forma que la cantidad de contraiones fuese mínima e interfiriesen lo mínimo posible en la formación del complejo *host-guest.* Comparando, cabe comentar que la constante de asociación del 4-hidroxibenzoato con el **IP5** es casi 100 veces mayor que con el **IC4**, también de acuerdo a su diferente capacidad para enlazar sus contraiones.

La diferente naturaleza de los aniones *p*-toluensulfonato y 4-hidroxibenzoato implica diferentes características en los complejos de inclusión formados con el **IP5**. De forma que, a diferencia de lo que ocurre con el 4-hidroxibenzoato, la complejación del *p*-toluensulfonato por el **IP5** no provoca la inhibición de la fluorescencia del macrociclo. Por esta razón, se decidió monitorizar la regeneración de la fluorescencia con el objetivo de determinar la constante de asociación del complejo formado entre el *p*-toluensulfonato y el **IP5** a través de un método de complejación competitivo (ver apéndice 5.5.2). Para ello se estudió la influencia de la concentración de *p*-toluensulfonato en la intensidad de fluorescencia del complejo **IP5**:4-hidroxibenzoato (Figura 5.8-izquierda). En primer lugar, la fluorescencia de emisión del **IP5**, centrada a 464 nm, es *quencheada* por la adición del 4-hidroxibenzoato para que luego, mediante la sucesiva adición de mayores cantidades de *p*-toluensulfonato al medio, se provoque la recuperación de la fluorescencia del **IP5** como consecuencia del desplazamiento del 4-hidroxibenzoato por el *p*-toluensulfonato de la cavidad del **IP5**, dando lugar a un nuevo complejo de inclusión **IP5**:*p*-toluensulfonato. En la Figura 5.8-derecha se muestran los resultados obtenidos del experimento competitivo del que se obtuvo una constante de asociación de $K=(3.5\pm0.4)\times10^{4}$ M^{-1} para el complejo formado entre el *p*-toluensulfonato y el **IP5**. Una vez más, y debido a todas las razones discutidas hasta aquí, se obtuvieron mayores constantes de asociación al utilizar pilararenos que al hacerlo con calixarenos, como consecuencia de la mejor complementariedad entre las especies que forman el complejo.

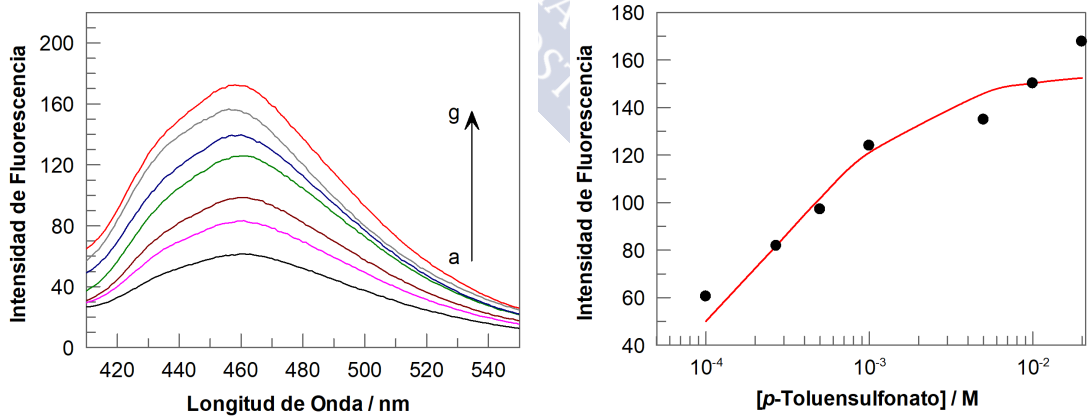


Figura 5.8. Izquierda: Porción del espectro de emisión de fluorescencia de muestras con **IP5** (5×10^{-6} M) y 4-hidroxibenzoato (1×10^{-5} M) con diferentes concentraciones de *p*-toluensulfonato (desde a=0 M hasta g=2×10^{-2} M) en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}=292 nm. Derecha: Influencia de la concentración de *p*-toluensulfonato en la intensidad de fluorescencia (a 464 nm) de muestras con **IP5** y 4-hidroxibenzoato en disolución acuosa a 25 ºC. [**IP5**]=5×10^{-6} M. [4-hidroxibenzoato]= 1×10^{-5} M. La línea roja representa el ajuste no lineal al modelo de complejación competitivo.

5.4 CONCLUSIONES

Durante la realización de este trabajo se ha comprobado que, independientemente de los sustituyentes catiónicos, los pilar[5]arenos son receptores de aniones más fuertes que los calix[4]arenos. Esta diferente habilidad debería de estar relacionada con la distancia que existe entre los grupos catiónicos y los anillos aromáticos ricos en electrones de los macrociclos. Las mayores distancias observadas en los pilar[5]arenos permiten una mejor acomodación del *guest* aniónico, evitando las repulsiones electrostáticas entre la carga negativa del *guest* y la región rica en electrones del *host*. Esta tendencia puede observarse en la comparación de pilar[5]arenos y calix[4]arenos con grupos catiónicos trimetilamonio y metilimidazolio. En cuanto a las cargas positivas se refiere, la complejación de los contraiones da lugar a *hosts* bastantes similares, con tres grupos positivos presentes en cada portal de los pilar[5]arenos (al menos cuatro contraiones están asociados para [pilarareno]=1 mM) y de los calix[4]arenos (un contraión está enlazado para [calixareno]=1 mM).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.5 APÉNDICE

5.5.1 Síntesis y Caracterización de los macrociclos

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Las reacciones con compuestos o mezclas sensibles al oxígeno o a la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de argón desoxigenado y seco. Los matraces utilizados para dichas reacciones se secaron en estufa a 150 ºC al menos durante 12 horas y luego se flamearon y enfriaron bajo corriente de argón.

El espectro de RMN se adquirió con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolvente deuterado (D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente. D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova (MestReLab Research Inc.).

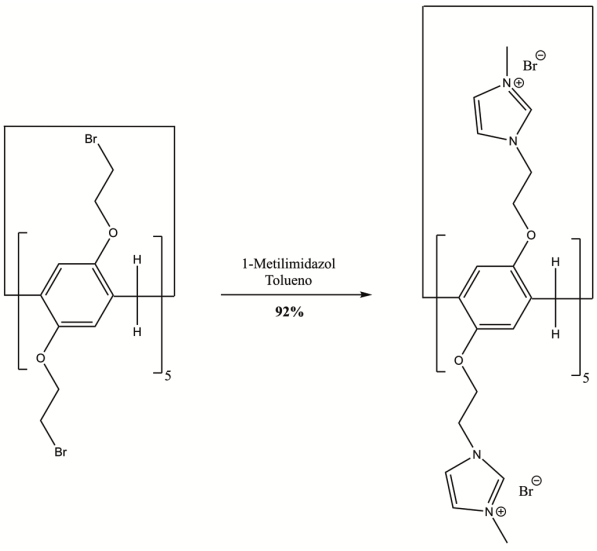
El pilarareno modificado con grupos metilimidazolio se sintetizó de acuerdo a la literatura.[10]

5.5.1.1 Síntesis y Caracterización del TMAP5

Ver apéndice capítulo 2 (2.5.1).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.5.1.2 Síntesis y Caracterización del IP5



El compuesto (1) (0.8 g, 0.47 mmol) se disolvió en tolueno (15 mL) y se trató con 1-metilimidazol (0.78g, 9.5 mmol). La mezcla se dejó a reflujo durante 24 horas y una vez enfriada a temperatura ambiente se concentró a sequedad. El residuo resultante se recristalizó con mezclas etanol/éter dietílico para obtener el **IP5** (1.08 g, 0.44 mmol) como un sólido blanco en un 92 % de rendimiento.

^{1}H NMR (300 MHz, D_2O): 7.59 (s, 10H), 7.11 (sa, 10H), 6.73 (s, 10H), 4.61 (s, 20H), 4.44 (s, 20H), 3.62 (sa, 40H).

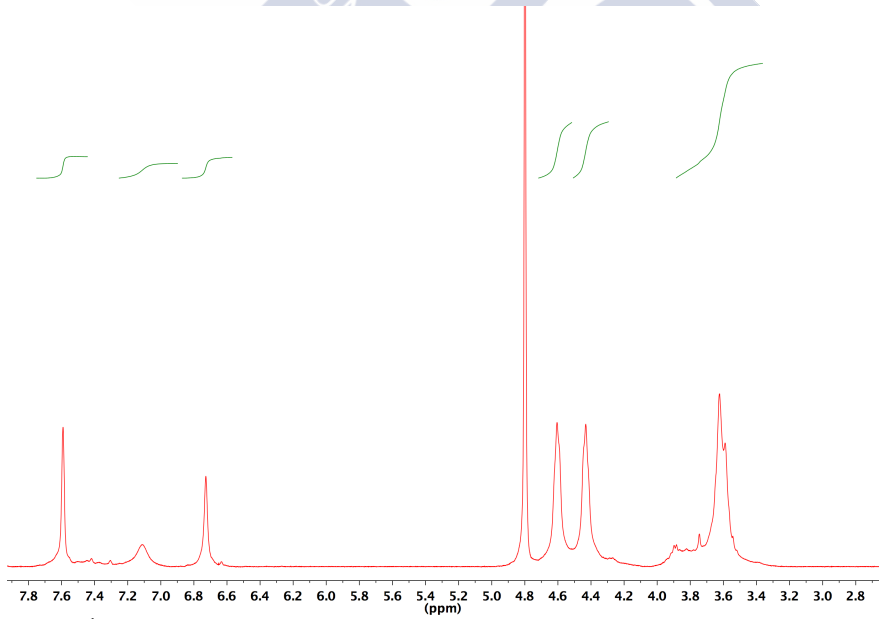


Figura A.5.1. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el **IP5**.

5.5.2 Modelo Competitivo

Denominamos P al pilar[5]areno; C al hidroxibenzoato y TS al toluensulfonato. Consideramos que solo se forman complejos con estequiometria 1:1.

$$P + C \rightleftharpoons PC \qquad K_{PC} = {[PC]}/{[P][C]} \qquad \text{(A.5.1)}$$

$$P + TS \rightleftharpoons PTS \qquad K_{PTS} = {[PTS]}/{[P][TS]} \qquad \text{(A.5.2)}$$

Balance de materia:

$$[P]_T = [P] + K_{PC}[P][C] + K_{PTS}[P][TS] \qquad \text{(A.5.3)}$$

$$[P] = \frac{[P]_T}{1 + K_{PC}[C] + K_{PTS}[TS]} \qquad \text{(A.5.4)}$$

Debido a que la complejación del TS es menor que la del hidroxibenzoato, se cumple que [TS]>>[P], de tal modo que la concentración de TS se mantiene prácticamente constante y $[TS] \approx [TS]_T$:

$$[P] = \frac{[P]_T}{1 + K_{PC}[C] + K_{PTS}[TS]_T} \qquad \text{(A.5.5)}$$

El comportamiento fluorescente se debe al pilar[5]areno que se encuentra libre y al complejo formado con el TS (el complejo con el hidroxibenzoato desactiva la fluorescencia). Por lo tanto, debemos evaluar la concentración de especies fluorescentes:

$$IF = \varepsilon_P[P] + \varepsilon_{PTS}[PTS] \qquad \text{(A.5.6)}$$

como $[PTS] = K_{PTS}[P][TS]$, se tiene que:

$$IF = [P](\varepsilon_P + \varepsilon_{PTS}K_{PTS}[TS]) \qquad \text{(A.5.7)}$$

Para evaluar la concentración de pilar[5]areno libre necesitamos conocer la concentración de hidroxibenzoato que tenemos libre.

$$[C]_T = [C] + K_{PC}[P][C] = (1 + K_{PC}[P])[C] \qquad \text{(A.5.8)}$$

de donde $[C] = \frac{[C]_T}{1 + K_{PC}[P]}$, por lo tanto:

$$[P] = \frac{[P]_T}{1 + K_{PC}\dfrac{[C]_T}{1 + K_{PC}[P] + K_{PTS}[TS]_T}} \qquad \text{(A.5.9)}$$

$$[P] = \frac{(1 + K_{PC}[P])[P]_T}{1 + K_{PC}[P] + K_{PC}[C]_T + K_{PTS}[TS]_T + K_{PC}K_{PTS}[TS]_T[P]} \quad \text{(A.5.10)}$$

$$[P] + K_{PC}[P]^2 + K_{PC}[C]_T[P] + K_{PTS}[TS]_T[P] + K_{PC}K_{PTS}[TS]_T[P]^2 = [P]_T + K_{PC}[P][P]_T \quad \text{(A.5.11)}$$

$$\{K_{PC} + K_{PC}K_{PTS}[TS]_T\}[P]^2 + \{1 + K_{PC}[C]_T + K_{PTS}[TS]_T - K_{PC}[P]_T\}[P] - [P]_T = 0 \quad \text{(A.5.12)}$$

La ecuación cuadrática se resuelve por un método iterativo. La complejación del hidroxibenzoato ha sido determinada previamente, de tal modo que se conoce el valor de K_{PC}. El único parámetro a simular es la constante de complejación del TS, K_{PTS}.

Como criterio de convergencia se utilizan los valores de fluorescencia. Previamente se vio que la fluorescencia se debía al pilar[5]areno libre y al complejo PTS (A.5.7). Los parámetros ε_P y ε_{PTS} serían optimizables y se obtienen conjuntamente con K_{PTS}.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009-1020.

(2) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.

(3) Lagona, J.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Isaacs, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4844-4870.

(4) Gutsche, C. D. *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 161-170.

(5) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(6) Böhmer, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 713-745.

(7) Ogoshi, T.; Yamagishi, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *15*, 2961-2975.

(8) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(9) Strobel, M.; Kita-Tokarczyk, K.; Taubert, A.; Vebert, C.; Heiney, P. A.; Chami, M.; Meier, W. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 252-259.

(10) Yao, Y.; Xue, M.; Chi, X.; Ma, Y.; He, J.; Abliz, Z.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6505-6507.

(11) Rodik, R. V.; Klymchenko, A. S.; Jain, N.; Miroshnichenko, S. I.; Richert, L.; Kalchenko, V. I.; Mély, Y. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 5526-5538.

(12) Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710.

(13) Shinkai, S.; Mori, S.; Koreishi, H.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2409-2416.

(14) Rincón, A. M.; Prados, P.; de Mendoza, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3493-3498.

(15) Hu, X.-B.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J.-L. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696.

(16) Basílio, N.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9315-9319.

(17) Basílio, N.; Francisco, V.; García-Río, L. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 10764-10772.

(18) Pessêgo, M.; Da Silva, J. P.; Moreira, J. A.; García-Río, L. *ChemPlusChem* **2013**, *78*, 1058-1064.

(19) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5308-5315.

(20) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 4710-4716.

(21) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; García-Río, L.; Martín-Pastor, M.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12123-12132.

(22) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1998**, *10*, 197-237.

(23) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520-554.

(24) Ghale, G.; Lanctôt, A. G.; Kreissl, H. T.; Jacob, M. H.; Weingart, H.; Winterhalter, M.; Nau, W. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2762-2765.

(25) Graefe, A.; Stanca, S. E.; Nietzsche, S.; Beckert, R.; Biskup, C.; Mohr, G. J.; Kubicova, L. *J. Anal. Chem.* **2008**, *80*, 6526-6531.

(26) Hercules, D. M.; Legg, K. D. *J. Phys. Chem.* **1970**, *74*, 2114-2118.

(27) Fernández-Rosas, J.; Gómez-González, B.; Pessêgo, M.; Rodríguez-Dafonte, P.; Parajó, M.; García-Río, L. *Supramol. Chem.* **2016**, *28*, 464-474.

(28) Kalyanasundaram, K.; Thomas, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2039-2044.

(29) Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1999**, *2*, 629-634.

(30) Inoue, Y.; Liu, Y.; Tong, L.-H.; Shen, B.-J.; Jin, D.-S *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115,* 10637-10644.

(31) Exner, O. *Chem. Commun.* **2000**, *17*, 1655-1656.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 6

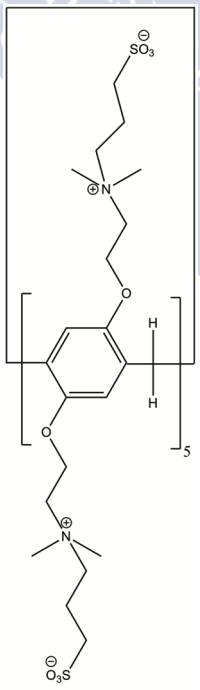
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 6

6. UTILIZACIÓN DE UN PILAR[5]ARENO ZWITTERIÓNICO COMO RECEPTOR SOLUBLE EN AGUA

6.1 INTRODUCCIÓN

Los pilar[*n*]arenos son los últimos receptores macrocíclicos en incorporarse al panorama de la química *host-guest*. Sintetizados por primera vez en el año 2008, este tipo de compuestos están formados por unidades de 1,4-dialcoxibenceno unidas entre sí en posición *para* a través de puentes metileno, resultando en arquitecturas altamente rígidas y simétricas.[1] Para poder utilizar este tipo de compuestos en auga, medio en el que ocurren la mayoría de los procesos biológicos, es necesario funcionalizar los pilararenos con grupos altamente hidrofílicos como por ejemplo grupos amonio o carboxilato.[2,3] Sin embargo, esta metodología implica la introducción de un nuevo potencial *guest* en el medio, el contraión, que competirá con otros *guests* por acomodarse en la cavidad del macrociclo.[4–6] Para evitar este fenómeno, se sintetizó un pilar[5]areno *zwitteriónico* soluble en auga (**ZWP5**) (Esquema 6.1) que conserva su capacidad para reconocer pequeñas moléculas orgánicas, pero que sin embargo se comporta coma un receptor eléctricamente neutro, de tal forma que ninguna de las sales presentes en el medio debería de afectar a los procesos de complejación entre el pilararenо y un determinado g*uest*.



ZWP5

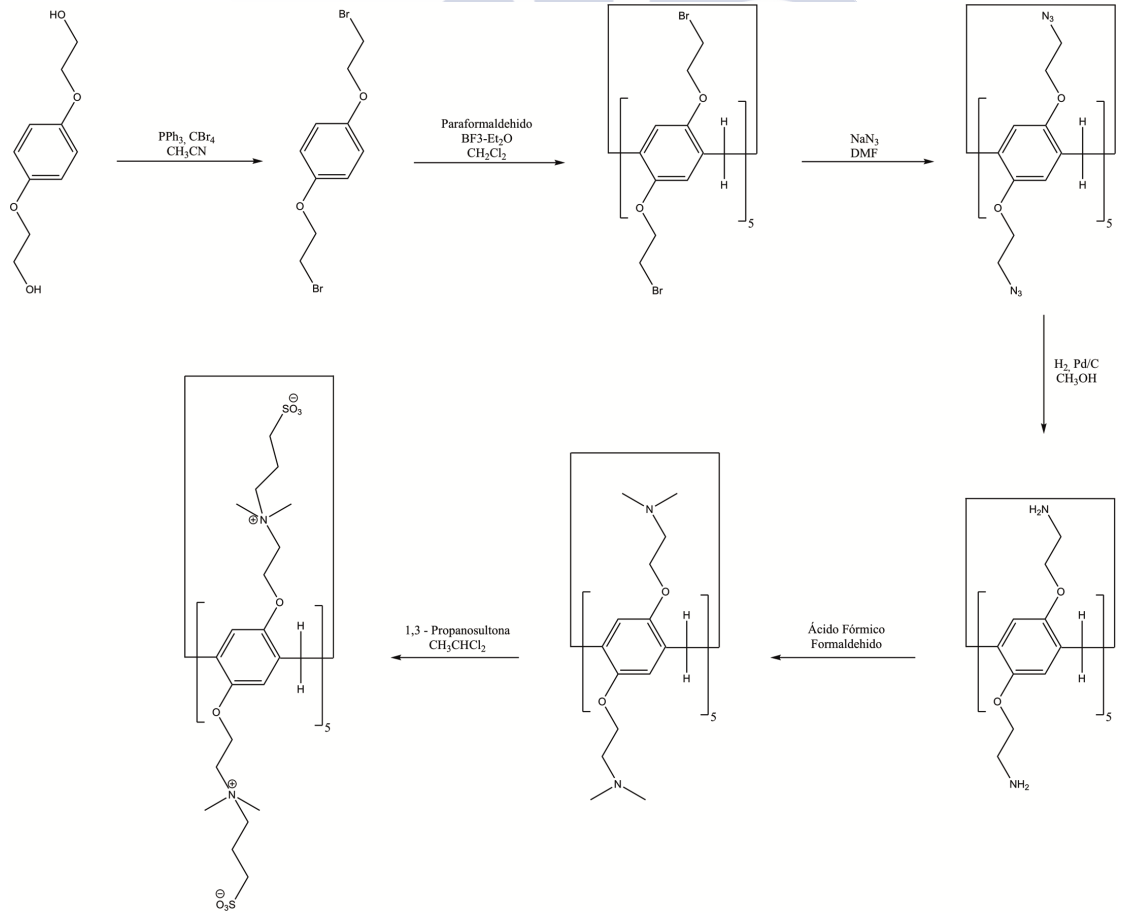
Esquema 6.1

Aunque interesante, el desarrollo y la utilización de receptores *zwitteriónicos* es un campo de la química supramolecular prácticamente inexplorado. Alguno de los pocos ejemplos que pueden encontrarse en la bibliografía tienen que ver con los receptores macrobicíclicos "tipo jaula" sintetizados por el grupo de Franz P. Schmidtchen,[7–10] en los que se demostró que, de forma general, las unidades aniónicas y catiónicas del receptor deben de estar bien separadas mediante un *linker* rígido que impida la auto-inhibición del *host*. De esta forma, fueron capaces de diseñar moléculas como por ejemplo derivados de la guanidina o betaínas organoboránicas con la capacidad de adoptar conformaciones que crean una cavidad tridimensional en la cual pueden encapsularse diferentes *guests* aniónicos, tanto orgánicos como inorgánicos. Por otro lado, Steed *et al.*[11] construyeron una cápsula *zwitteriónica* gracias a las interacciones electrostáticas entre dos hemiesferas auto-complementarias que exhibe una fuerte afinidad por los aniones bromuro.

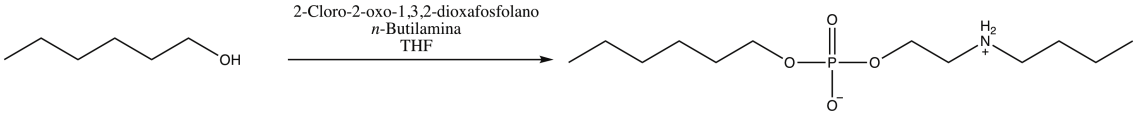
De esta forma, en este capítulo se muestra el diseño y síntesis de un pilar[5]areno de carácter *zwitteriónico* soluble en agua, así como el estudio de su capacidad para actuar como receptor molecular de pequeñas moléculas orgánicas, tanto aniones como *zwitteriones*, a través de experimentos de RMN y de ITC.

6.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención del **ZWP5** y del **ZW3** se muestra en el Esquema 6.2 y 6.3, respectivamente. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice 6.5.1 y 6.5.2.



Esquema 6.2



Esquema 6.3

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN fueron adquiridos a 25 ºC en espectrómetros Varian Inova 500 y Varian Inova 300. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Los espectros de difusión de ^{1}H se obtuvieron mediante experimentos de doble eco de spin estimulado con pulsos de gradiente bipolares (DBPPSTE),[12] aplicando pulsos de gradientes (G) rectangulares cuya potencia fue incrementada linealmente desde 4 hasta 130 G cm^{-1} en 20 pasos. La duración del gradiente de campo pulsado (δ) para codificar y descodificar la difusión fue de 1.6 ms. El tiempo de difusión (Δ) fue optimizado a 50 ms, teniendo en cuenta que el Δ óptimo para determinar coeficientes de difusión (D) con la mayor precisión es aquel con el que la intensidad de señal de RMN decae hasta aproximadamente el 5% de su valor en ausencia de gradiente de campo. La fuerza absoluta del gradiente fue calibrada utilizando una muestra de difusión conocida como referencia de D_2O 99 % a 25 ºC (D = 1.87×10^{-5} cm^2 s^{-1})[13]. Tal y como se esperaba, los valores obtenidos para la calibración de los gradientes fueron los mismos en un intervalo de error menor al 1 %.

$$\ln {}^{I}/_{I_0} = -\gamma^2 \delta^2 G^2 \left(\Delta - \frac{4\delta}{3}\right) D = -bD \qquad (6.1)$$

Los datos obtenidos se ajustaron a la ecuación (6.1), en la cual I e I_0 son las intensidades de una determinada señal en presencia y ausencia del pulso de gradiente, respectivamente, γ es la constante giromagnética del núcleo observado, G es la fortaleza del pulso de gradiente, δ es la duración del gradiente, Δ es el tiempo de difusión y D es el coeficiente de difusión. Los coeficientes de difusión se extrajeron de la pendiente de la representación ln I/I_0 frente a b.

Los experimentos bidimensionales fueron adquiridos en un espectrómetro Varian Inova 500.

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular la constante de complejación del sistema (K), se utilizó el *software* AFFINIMETER partiendo de la curva de valoración. En todos los experimentos, el calor de reacción se ajustó al modelo "*one set of binding sites*" característico de complejos de inclusión con estequiometría 1:1. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

Electrodo Selectivo de Iones. Para estudiar la capacidad del **ZWP5** de enlazar iones se utilizó un electrodo selectivo de iones bromuro (Mettler Toledo, DX280-Br). En cada experimento, se añadió sucesivamente una disolución de **ZWP5** sobre una disolución de concentración constante de sal.

6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1 AUTO-AGREGACIÓN

En primer lugar, debido a la estructura y composición del **ZWP5**, se decidió explorar la posibilidad de que éste pudiese sufrir procesos de auto-agregación. Para ello se realizaron experimentos de RMN ^{1}H DOSY a muestras con diferentes concentraciones de **ZWP5**. Como puede verse en la Figura 6.1, el coeficiente de difusión observado (D_{obs}) para el **ZWP5** es ligeramente inferior al del pilarareno catiónico análogo utilizado en el capítulo 2 como consecuencia de su mayor peso molecular y, además, éste apenas varía en el rango de concentraciones estudiado, lo que nos permite descartar la opción de que el **ZWP5** forme agregados por sí solo.

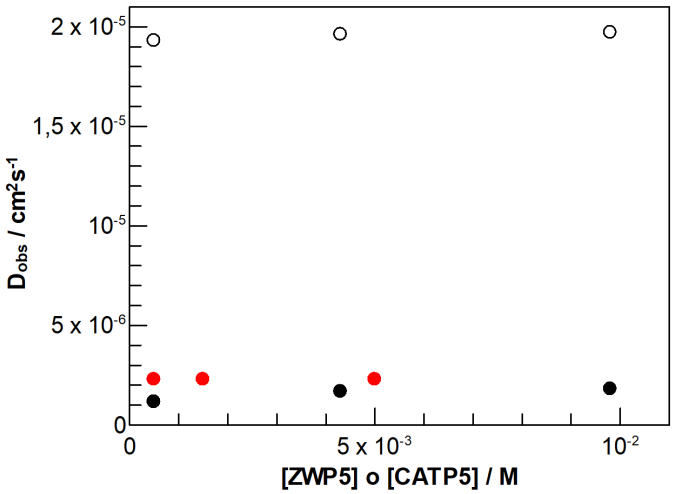


Figura 6.1. Coeficientes de difusión observados en diferentes disoluciones de ZWP5 (●). A efectos visuales se muestra también el coeficiente de difusión del agua (○) y del pilarareno catiónico análogo utilizado en el capítulo 2 (●). Todas las medidas se realizaron en D_2O a 25 ºC.

6.3.2 COMPLEJACIÓN CON ANIONES HIDROFÍLICOS Y CATIONES

La forma más común para poder utilizar macrociclos como calixarenos o pilararenos en medio acuoso es mediante la funcionalización con grupos altamente hidrofílicos que aumenten su solubilidad en agua y que pueden ser neutros, como por ejemplo algunas aminas terciarias, o iónicos, tanto catiónicos, como grupos amonio o imidazolio, como aniónicos, como grupos sulfonato o carboxilato.[2,3,14–16] En química *host-guest*, este método supone la introducción de un nuevo potencial *guest* en el medio, el contraión, que sin duda influirá en los posteriores procesos de formación de complejos de inclusión compitiendo con un determinado *guest* por adentrarse en la cavidad del macrociclo.[4–6] Por esta razón, la principal ventaja del **ZWP5** es que al ser una especie *zwitteriónica*, esta se comportará como un receptor eléctricamente neutro, por lo que ninguna de las sales

presentes en el medio debería competir con un determinado *guest* por adentrarse en la cavidad del macrociclo.

Para confirmar este hecho se utilizó un electrodo selectivo de iones bromuro que nos permite discernir entre bromuro libre y bromuro enlazado, de tal forma que a una muestra de concentración constante e igual a 5.5×10^{-4} M de NaBr, se le fueron añadiendo mayores cantidades de **ZWP5**. Como puede verse en la Figura 6.2, el potencial eléctrico apenas oscila con la adición de macrociclo, obteniéndose siempre valores similares a los que se obtienen para el ion bromuro en agua a dicha concentración y sugiriendo así que los iones bromuro no se enlazan al receptor *zwitteriónico*.

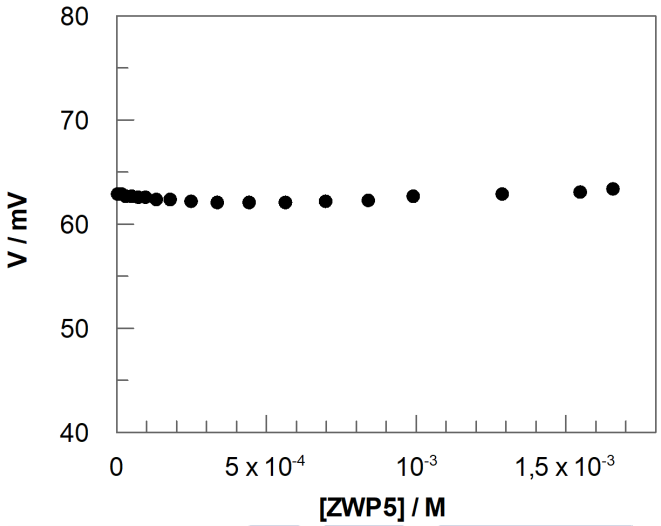


Figura 6.2. Variación del potencial eléctrico para una disolución de NaBr (de concentración fija e igual a 5.5×10^{-4} M) con la sucesiva adición de mayores cantidades de **ZWP5**.

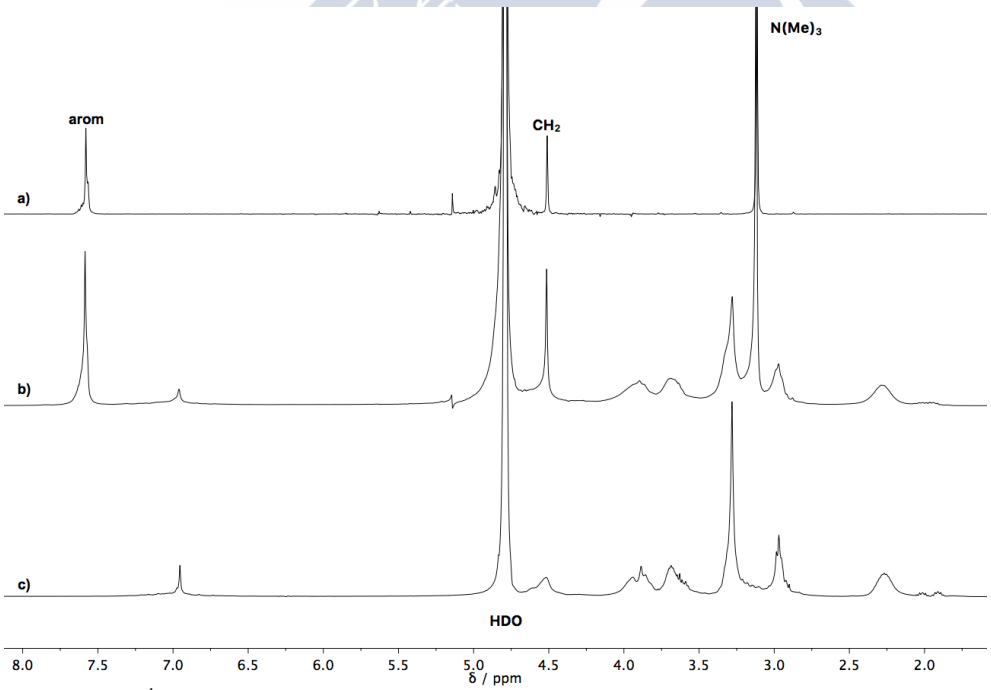


Figura 6.3. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 4 mM de benciltrimetilamonio, b) 1 mM de **ZWP5** con 4 mM de benciltrimetilamonio y c) 2 mM de **ZWP5**.

La Figura 6.3 muestra el espectro RMN de protón de una mezcla del **ZWP5** y el catión orgánico benciltrimetilamonio. Como puede observarse, ninguna de las señales del huésped catiónico sufre alteración alguna por la presencia del receptor *zwitteriónico*,

indicando que no debe de existir interacción entre ambas especies, seguramente debido a que la disposición de las cadenas del macrociclo no es la adecuada para que tenga lugar la complejación. Además, también es probable que, de manera similar a lo que ocurre con los surfactantes *zwitteriónicos*,[17] la movilidad del *linker* que une las cargas positivas y negativas dé lugar a una conformación en la cual las cargas negativas interaccionan parcialmente con las cargas positivas de su propia cadena o de cadenas próximas (Esquema 6.1).

6.3.3 COMPLEJACIÓN CON ANIONES HIDROFÓBICOS

La técnica de ^{1}H RMN es, posiblemente, la más utilizada para el estudio de sistemas *host-guest*. Además de la información cuantitativa que puede aportar la titulación por RMN, los desplazamientos relativos y cambios en la simetría también pueden, a menudo, dar rápidamente información valiosa sobre cómo están interaccionando el *host* y el/los *guest*(*s*) o sobre la estequiometría de dicha interacción.[18] Por esta razón, un rápido cribado mediante titulaciones por ^{1}H RMN permitió descubrir que el **ZWP5** posee una potencial aplicación como receptor de pequeños aniones orgánicos, seguramente debido a su cavidad hidrofóbica y a la presencia de 10 cargas positivas en el anillo macrocíclico. Como puede verse en la Figura 6.4, el estudio de las propiedades de inclusión del **ZWP5** con el *p*-toluensulfonato (anión con estructura similar al catión benciltrimetilamonio) ha revelado que el macrociclo posee gran afinidad por el mismo. También cabe destacar que las señales del huésped libre y complejado aparecen promediadas, indicando que el intercambio entre las dos especies es rápido en la escala de tiempo de RMN.

Cuando se añade 1 equivalente de **ZWP5** a una disolución 2 mM de *p*-toluensulfonato sódico, se observa que las señales del *guest*, especialmente las del grupo metilo (CH_3) y las de los protones aromáticos más cercanos a éste (*meta*) se desplazan marcadamente a campo alto (desplazamientos químicos menores) debido al efecto de las corrientes de los anillos aromáticos del **ZWP5**, resultando probablemente en la generación de interacciones C-H···π y π···π, ya que el **ZWP5** va a poseer una cavidad rígida tridimensional rica en electrones π. Sin embargo, este efecto es menos marcado para los protones aromáticos próximos al grupo sulfonato (*orto*), lo que sugiere que éstos ya no están tan adentrados en la cavidad. Consecuentemente, sería razonable pensar que el grupo aniónico sulfonato del *guest* quedaría situado de tal forma que pueda sufrir interacciones electrostáticas con los grupos catiónicos amonio del *host*, estabilizando así la formación del complejo de inclusión.

En cuanto a los protones del macrociclo, puede observarse que apenas sufren grandes modificaciones en cuanto al desplazamiento químico se refiere, solo los aromáticos se desplazan ligeramente.

Aunque con efectos menos pronunciados, resultados análogos se obtuvieron al realizar el experimento usando el propanosulfonato sódico como *guest* (Figura 6.5), lo que confirma la alta afinidad del **ZWP5** hacia pequeños aniones orgánicos. Tal y como se muestra, los desplazamientos químicos observados (Δδ) para el propanosulfonato en la mezcla equimolar disminuyen en el orden H_c>H_b>H_a, aunque con valores bastante inferiores a los observados en el caso del *p*-toluensulfonato, lo que parece indicar que los protones correspondientes a H_c deben de situarse en la entrada de la cavidad del

macrociclo sin llegar a adentrarse en la misma, con el grupo sulfonato del *guest* interaccionando electrostáticamente con las cargas positivas del **ZWP5**.

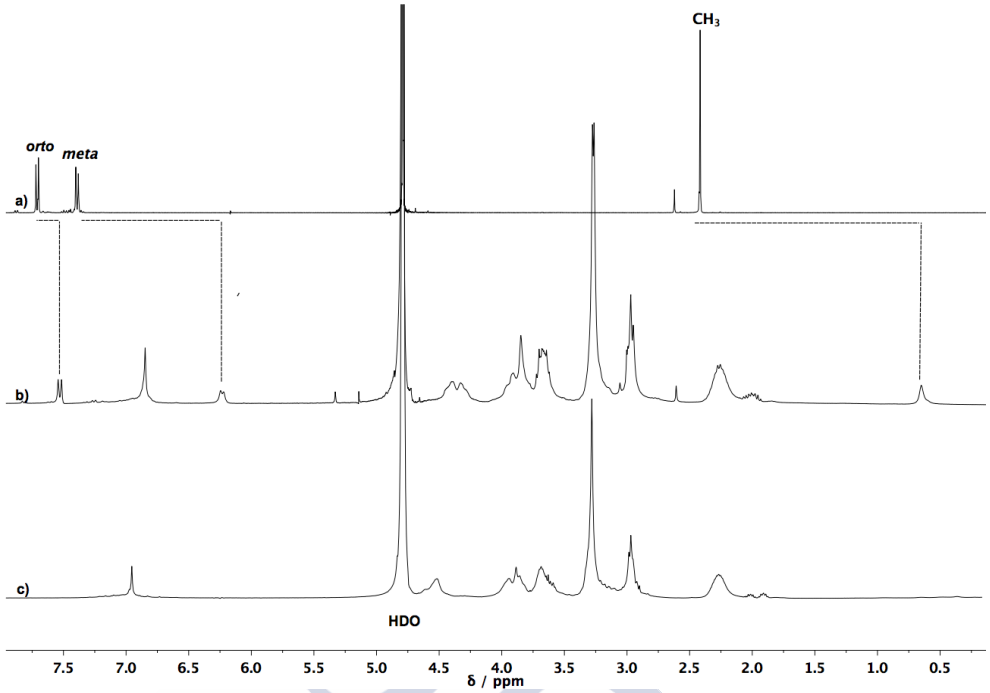


Figura 6.4. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 2 mM de *p*-toluensulfonato, b) 2 mM de **ZWP5** con 2 mM de *p*-toluensulfonato y c) 2 mM de **ZWP5**.

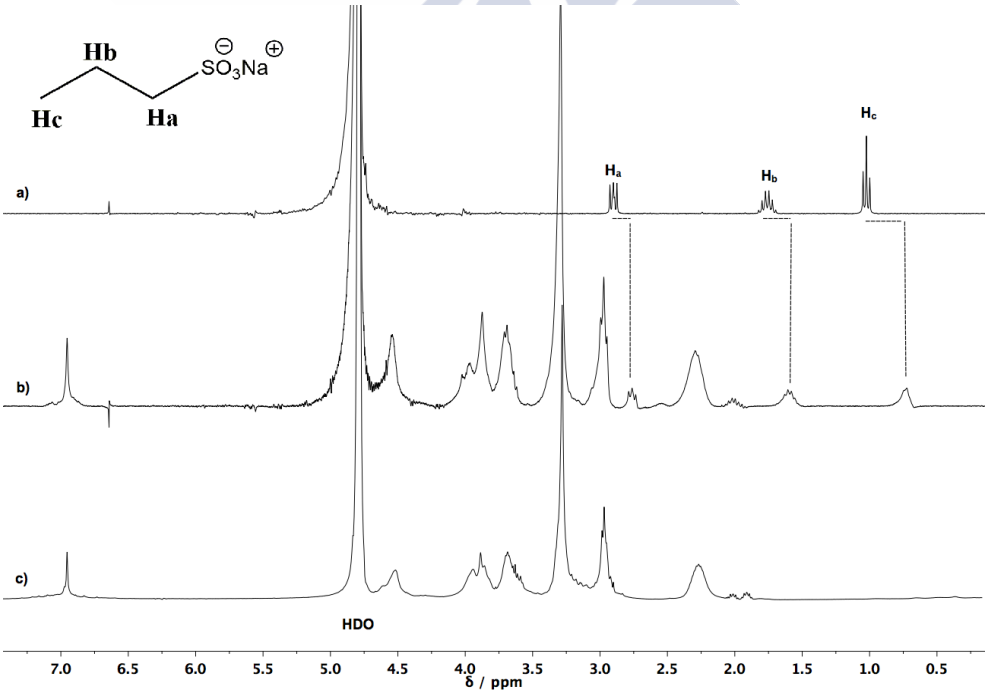


Figura 6.5. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 2 mM de propanosulfonato, b) 2 mM de **ZWP5** con 2 mM de propanosulfonato y c) 2 mM de **ZWP5**.

Seguidamente, se recurrió a la técnica de ITC para cuantificar la fortaleza y estabilidad de los complejos estudiados por ^{1}H NMR. Todos los resultados de las titulaciones se ajustaron a un modelo de complejación 1:1 "*one set of binding sites*" para obtener de manera simultánea tanto la constante de asociación, *K*, como los parámetros termodinámicos del proceso, ΔH^o y ΔS^o.

Como se muestra en la Figura 6.6, cada inyección de propanosulfonato en la celda de muestra conteniendo **ZWP5** generó un calor de reacción aparente debido a la formación del complejo de inclusión para el cual se obtuvo una constante de asociación de K = $(4.7\pm0.5)\times10^3$ M^{-1}, valor muy similar al obtenido cuando el experimento se realiza con el pilarareno catiónico análogo modificado con grupos trimetilamonio (K = $(7.22\pm0.01)\times10^3$ M^{-1}, ver capítulo 3), lo que confirma la formación del estable complejo *host-guest*. Además, los resultados indican que la formación del complejo está dirigida principalmente por factores entrópicos ($T\Delta S^o$ = (20.4±1.5) kJ mol^{-1}) que tienen que ver principalmente con los efectos de desolvatación y los cambios estructurales que tienen lugar cuando se forma el complejo de inclusión, acompañados a su vez de cambios entálpicos también ligeramente favorables (ΔH^o = (-0.54±0.04) kJ mol^{-1}) atribuidos a las interacciones no covalentes entre especies, como las interacciones electrostáticas.[19]

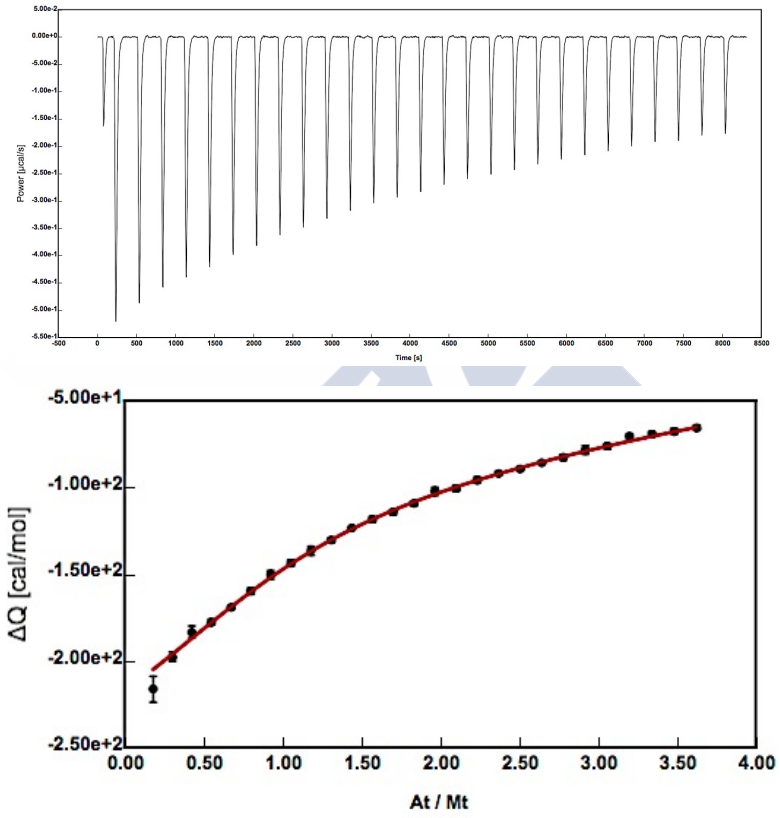


Figura 6.6. Valoración microcalorimétrica de **ZWP5** con propanosulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de propanosulfonato (8 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

La valoración microcalorimétrica utilizando el *p*-toluensulfonato como *guest* también dio lugar a un calor de reacción aparente como causa de la formación del complejo *host-guest*. De dicho experimento, cuyo resultado se muestra en la Figura 6.7, se obtuvo una constante de asociación de K = $(6.8\pm0.1)\times10^3$ M^{-1}, un valor algo superior al obtenido cuando el experimento se realizó con el propanosulfonato, seguramente como consecuencia de la mejor complementariedad y del mayor número de interacciones no covalentes que tienen lugar para estabilizar el complejo. Como se vio anteriormente por experimentos de ^{1}H RMN, el *p*-toluensulfonato ($\Delta\delta$=-1,77 ppm) se adentra bastante más en la cavidad del **ZWP5** que el propanosulfonato ($\Delta\delta$=-0,30 ppm), lo que debe permitir, además de las interacciones electrostáticas, que también tengan lugar otras interacciones no covalentes como por ejemplo interacciones π-π o C–H···π. Por la misma razón, en este

caso los resultados indican que la complejación está dirigida principalmente por factores entálpicos (ΔH^o = (-15.89±0.12) kJ mol^{-1}), acompañados a su vez por cambios entrópicos también favorables ($T\Delta S^o$ = (5.97±0.50) kJ mol^{-1}).

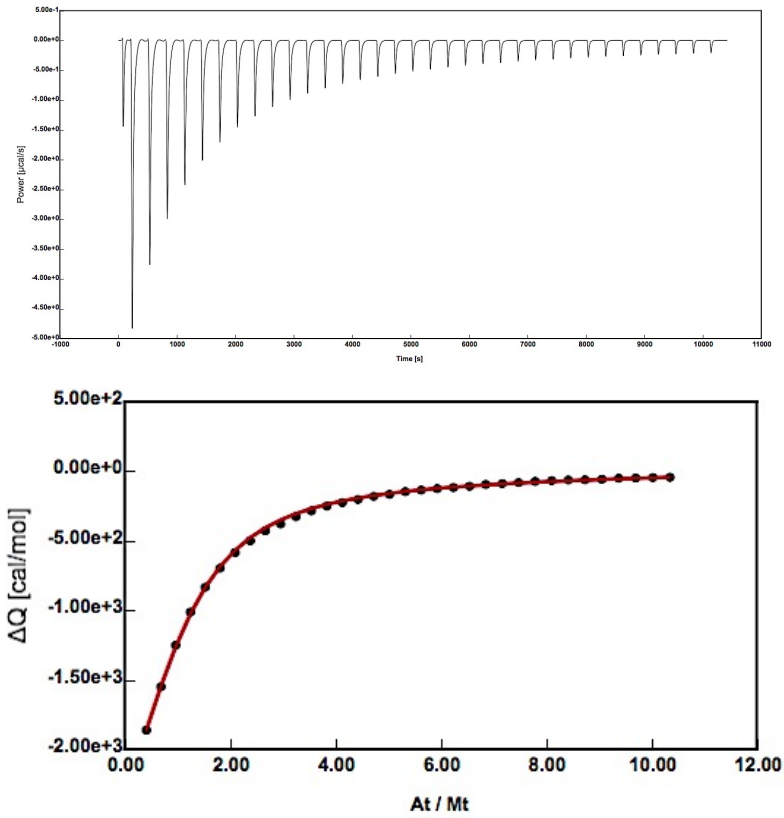


Figura 6.7. Valoración microcalorimétrica de **ZWP5** con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de toluensulfonato (10 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

En el capítulo 2 se mostró que los pilararenos cargados positivamente (y por extensión cualquier receptor catiónico) tienen la capacidad de complejar aniones inorgánicos, un factor importante a tener en cuenta ya que, en medios acuosos, además de estar presentes como propios contraiones de los macrociclos, los estudios de este tipo de compuestos suelen llevarse a cabo en presencia de disoluciones tampón que suponen una fuente adicional de iones.[5] Para comprobar que este fenómeno no tiene lugar utilizando el **ZWP5**, se realizaron un par de valoraciones microcalorimétricas entre el *p*-toluensulfonato (10 mM) y el receptor *zwitteriónico* (0.2 mM) añadiendo al medio $NaBF_4$ (10 mM) y NaBr (10 mM) respectivamente. Los resultados de dichas valoraciones (ver apéndice 6.5.3) aportaron una constante de asociación de $K = (7.6\pm0.2)\times10^3$ M^{-1} (en el caso del $NaBF_4$) y de $K = (7.8\pm0.3)\times10^3$ M^{-1} (en el caso del NaBr) entre el **ZWP5** y el *p*-toluensulfonato, lo que indica que la adición de sales al medio apenas afecta al proceso de complejación y confirma la falta de interacción con aniones inorgánicos mostrada previamente utilizando un electrodo selectivo de iones. Si se realizan experimentos análogos utilizando el pilarareno catiónico (0.2 mM) y el *p*-toluensulfonato (10 mM) con 10 mM de $NaBF_4$ y 10 mM de NaBr añadidos al medio de manera externa (ver apéndice 6.5.4), las constantes de asociación obtenidas fueron de $K = (2.3\pm0.2)\times10^4$ M^{-1} (en el caso del $NaBF_4$) y de $K = (5.5\pm0.2)\times10^4$ M^{-1} (en el caso del NaBr), lo que supone una disminución, respectivamente, de 7,9 y de 3,3 veces respecto al valor obtenido para el mismo experimento en ausencia de sal externa y con la misma concentración de macrociclo (0.2 mM),[5] y que es una muestra de la influencia que tiene la existencia en el

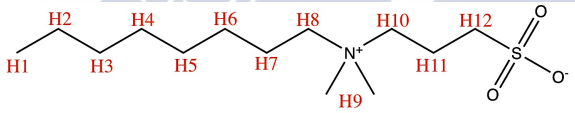
medio de sales inorgánicas que interfieren en el proceso de complejación entre el *host* y el *guest*. La Tabla 6.1 recopila los valores de las constantes de complejación obtenidas entre ambos macrociclos y el *p*-toluensulfonato (**TS**) en ausencia y en presencia de sales inorgánicas.

Tabla 6.1. Constantes de asociación obtenidas por ITC para la complejación del **TS** con los pilararenos **ZWP5** y **CATP5** en ausencia y en presencia de sales inorgánicas.

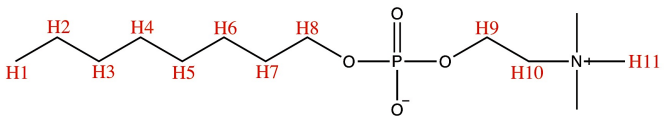
	ZWP5	**CATP5**
TS	$K = (6.8\pm0.1)\times10^3$ M^{-1}	$K = (1.82\pm0.2)\times10^5$ M^{-1}
TS + NaBr	$K = (7.8\pm0.3)\times10^3$ M^{-1}	$K = (5.5\pm0.2)\times10^4$ M^{-1}
TS + $NaBF_4$	$K = (7.6\pm0.2)\times10^3$ M^{-1}	$K = (2.3\pm0.2)\times10^4$ M^{-1}

6.3.4 COMPLEJACIÓN CON ZWITTERIONES

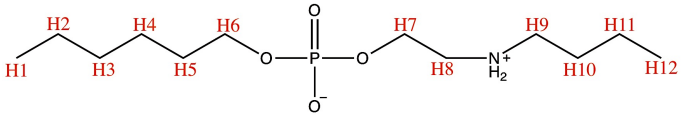
Para completar el estudio sobre la capacidad complejante del receptor *zwitteriónico* **ZWP5** y en busca de huéspedes altamente complementarios, se decidió estudiar la habilidad del macrociclo para formar complejos de inclusión con otras especies también *zwitteriónicas* tales como el 3-(N,N-Dimetiloctilamonio)propanosulfonato (**ZW1**), el Octil-(2-(trimetilamonio)etil)fosfato (**ZW2**) y el Hexil-(2-(butilamonio)etil)fosfato (**ZW3**) (Esquema 6.4) también a través de técnicas de RMN y de ITC.



ZW1



ZW2



ZW3

Esquema 6.4

Como puede verse, las tres especies coinciden en la posesión de una larga cadena hidrocarbonada que gracias al efecto hidrofóbico debería favorecer la inclusión de las mismas en el interior de la rígida cavidad tridimensional rica en electrones π del **ZWP5**,

mientras que la principal diferencia entre los *guests* tiene que ver con la diferente disposición de las cargas positivas y negativas, pues en el caso del **ZW1** es una carga positiva (grupo amonio) la que sigue a dicha cadena hidrocarbonada, mientras que en el caso del **ZW2** y del **ZW3** lo es una carga negativa proporcionada por el grupo fosfato. Así, estos *guests* fueron elegidos de tal forma que difiriese la complementariedad de dichas cargas con las del receptor *zwitteriónico* a la hora de generar las interacciones electrostáticas que estabilicen la formación del complejo *host-guest*. Cabe comentar que, en el caso del **ZW3**, los experimentos se realizaron añadiendo al medio una cantidad de ácido que asegurase la carga positiva de la amina.

En la Figura 6.8 se muestra el espectro ^{1}H RMN de una mezcla del **ZW1** con el **ZWP5**. Como puede verse, la variación del desplazamiento químico más destacado con respecto a los valores de la especie libre tiene que ver con las señales correspondientes a los protones de la cadena hidrocarbonada (desde H1 hasta H7), que se desplazan hacia campo alto como consecuencia de su inclusión en el interior hidrofóbico del macrociclo y del efecto de las corrientes de los anillos aromáticos del **ZWP5**, que probablemente resulten en la generación de interacciones no covalentes del tipo C-H···π. No obstante, este efecto no se percibe en el resto de las señales de los protones del *guest zwitteriónico*, sugiriendo así que los mismos se sitúan más alejados de la cavidad aromática. En cuanto a los protones del macrociclo, puede observarse que sus señales apenas sufren modificación alguna.

También cabe comentar que, tanto con el uso del **ZW1**, como con el del **ZW2** y del **ZW3**, en los espectros de las mezclas con el **ZWP5**, las señales de los huéspedes libres y complejados aparecen promediadas, indicando así que el intercambio entre ambas especies es rápido en la escala de tiempo del RMN.

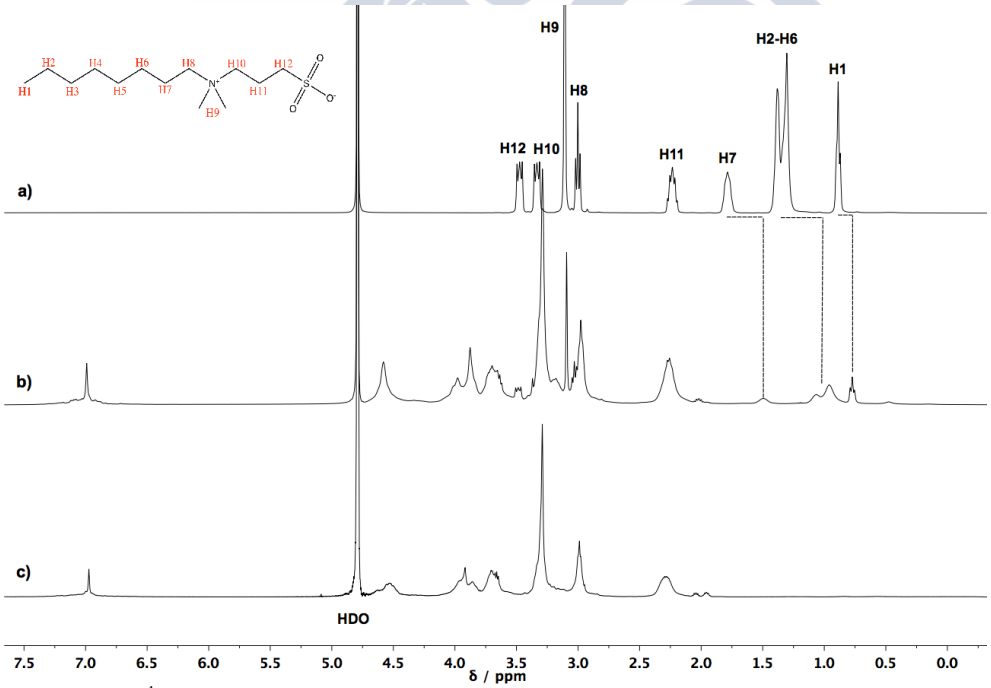


Figura 6.8. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 7 mM de **ZW1**, b) 7 mM de **ZWP5** con 7 mM de **ZW1** y c) 2 mM de **ZWP5**.

Para cuantificar la fortaleza y estabilidad del complejo *host-guest* se recurrió a la técnica de ITC. En la Figura 6.9 puede observarse el resultado del experimento cuando a 1459 µL de una disolución de **ZWP5** (0.5 mM) se le añadieron 270 µL (gradualmente, 10 µL cada 5 minutos) de una disolución de **ZW1** (8 mM). La isoterma de unión de dicho

experimento se ajustó a un modelo de complejación 1:1 "*one set of binding sites*" del que se obtuvo una constante de asociación entre ambas especies de $K = (1.39\pm0.09)\times10^3$ M^{-1}, confirmando así la estabilidad de dicho complejo.

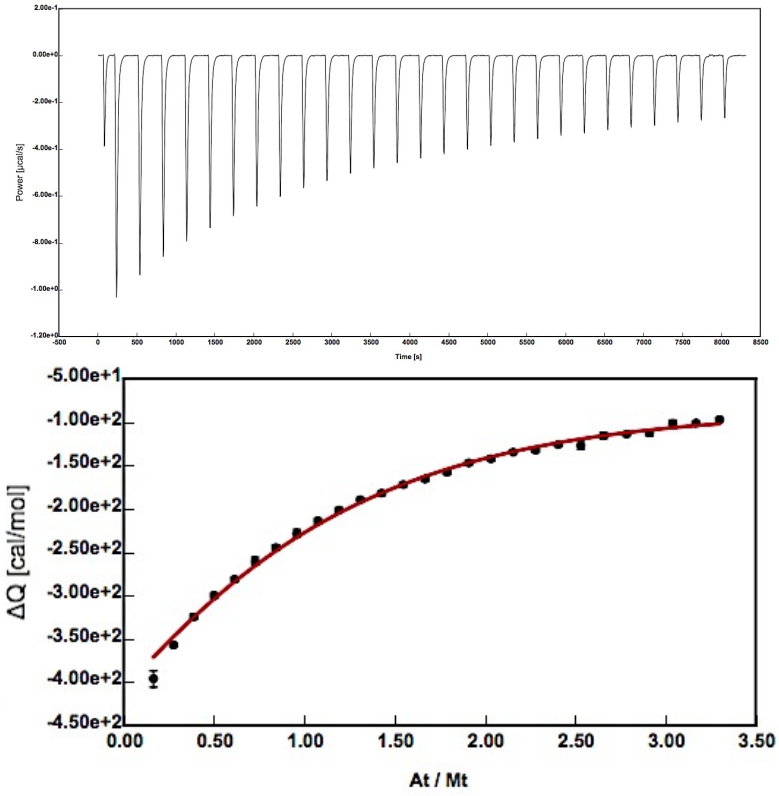


Figura 6.9. Valoración microcalorimétrica de **ZWP5** con **ZW1** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **ZW1** (8 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

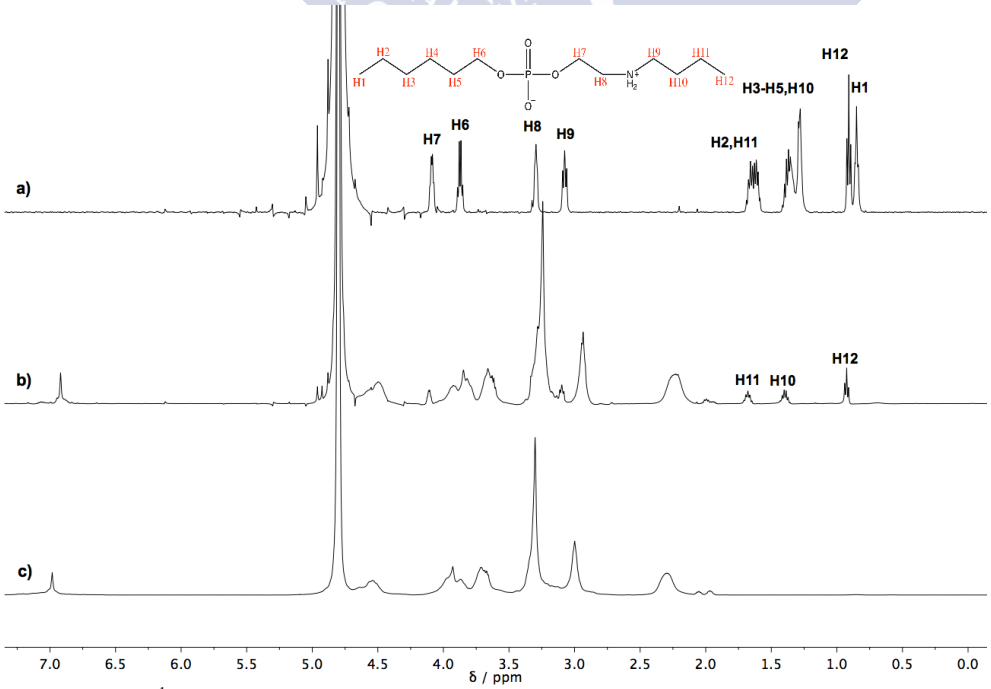


Figura 6.10. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 4 mM de **ZW3**, b) 4 mM de **ZWP5** con 4 mM de **ZW3** y c) 2 mM de **ZWP5**.

En la Figura 6.10 se muestran los espectros de RMN de ^{1}H realizados entre el **ZW3** y el **ZWP5**. Al igual que sucede al utilizar el **ZW1**, las señales de los protones afectadas por la interacción entre *host* y *guest* son las correspondientes a las de los protones de la cadena hidrocarbonada del huésped *zwitteriónico*. Sin embargo, en este caso no se observa simplemente una variación del desplazamiento químico de las mismas, sino que la perturbación que tiene lugar es tal que las señales de los protones H1, H2, H3, H4 y H5 "desaparecen" del espectro de RMN. Comparando los resultados con los obtenidos para el experimento análogo utilizando la especie **ZW2** (ver apéndice 6.5.5), en el cual las señales de los protones comprendidos entre H1 y H7, además de una variación del desplazamiento químico, éstas sufren un brusco ensanchamiento, puede deducirse que, en el caso del **ZW3**, dicho ensanchamiento es tan grande que las señales llegan a solaparse con la línea base del espectro, impidiendo así su visualización.

Para recabar más información acerca de la interacción entre el **ZW3** y el **ZWP5** se realizaron experimentos de RMN bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC; ver apéndice 6.5.6). Sin embargo, desafortunadamente, en ninguno de ellos pudo observarse ninguna correlación bidimensional de las señales afectadas. Seguramente, el fenómeno observado en la utilización del **ZW2** y del **ZW3** con el **ZWP5** esté relacionado con posibles procesos de agregación y que serán objeto de estudio en el futuro.

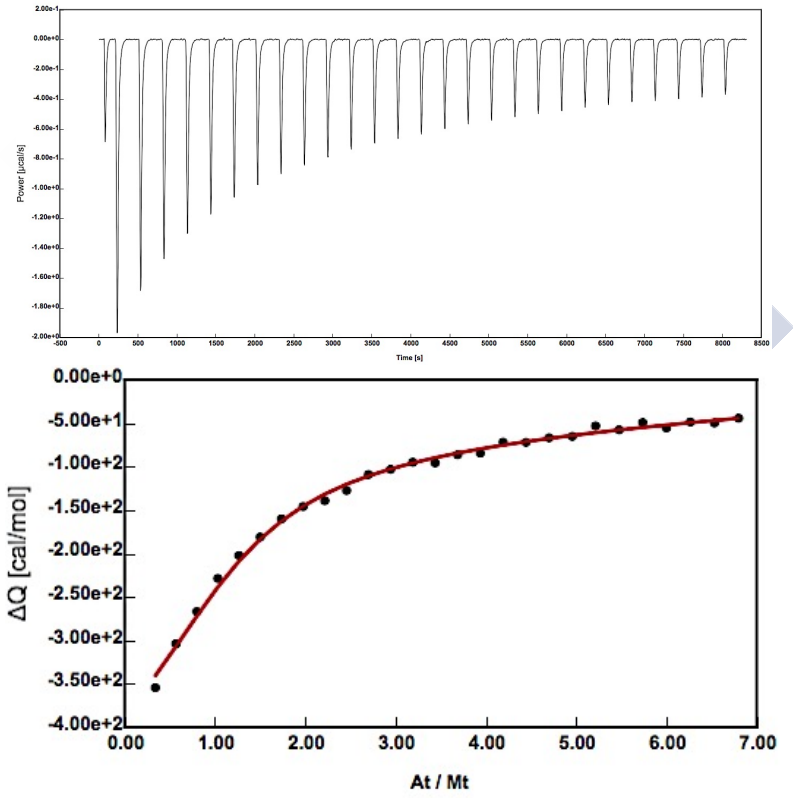


Figura 6.11. Valoración microcalorimétrica de **ZWP5** con **ZW3** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **ZW1** (15 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

El resultado de la valoración microcalorimétrica para cuantificar la fortaleza de unión entre el **ZWP5** y el **ZW3** se muestra en la Figura 6.11. En este caso, el ajuste de la isoterma de unión a un modelo de complejación 1:1 proporcionó una constante de asociación de $K = (4.8\pm0.2)\times10^3$ M^{-1}, un valor similar al obtenido en la valoración utilizando el **ZW2** ($K = (2.5\pm0.6)\times10^3$ M^{-1}, ver ajuste en apéndice 6.5.7), reflejando así la afinidad del receptor *zwitteriónico* hacia este tipo de especies. Además, los parámetros

termodinámicos obtenidos para la complejación del **ZW3** indican que el proceso está favorecido principalmente por factores entrópicos ($T\Delta S^o$ = (19.89±0.55) kJ mol^{-1}), posiblemente relacionados con los procesos de desolvatación tanto del **ZWP5** como del **ZW3**, acompañado a su vez por cambios entálpicos también ligeramente favorables (ΔH^o = (-1.11±0.02) kJ mol^{-1}).

Al igual que se realizó con el *p*-toluensulfonato, para finalizar el estudio se decidió repetir el experimento microcalorimétrico entre el **ZW3** y el **ZWP5**, pero esta vez añadiendo al medio de manera externa una importante cantidad de sal $NaBF_4$, en concreto, la valoración de una disolución de **ZW3** (15 mM) sobre una de **ZWP5** (0.5 mM) se realizó en presencia de 50 mM de $NaBF_4$ en el medio. De dicho experimento (ver apéndice 6.5.8) se obtuvo una constante de asociación entre el *host* y el *guest* similar a la anterior (K = (2.44±0.1)×10^3 M^{-1}), volviendo así a confirmar que, a diferencia de lo que ocurre con otros receptores iónicos en medios acuosos, la presencia de sales en el medio apenas afecta a los procesos de complejación del **ZWP5** con otros *guests*. La Tabla 6.2 recopila las constantes de asociación obtenidas en los experimentos ITC entre el **ZWP5** y los *guests zwiteriónicos*.

Tabla 6.2. Constantes de asociación obtenidas por ITC para la complejación de los diferentes *zwitteriones* con el **ZWP5** en ausencia y en presencia de sales inorgánicas.

	K **(M^{-1})**
ZW1	(1.39±0.09)×10^3
ZW2	(2.5±0.6)×10^3
ZW3	(4.8±0.2)×10^3
ZW3 + $NaBF_4$	(2.44±0.1)×10^3

6.4 CONCLUSIONES

En este capítulo se muestra, por primera vez, el diseño y síntesis de un novedoso pilarareno *zwitteriónico* soluble en agua. En primer lugar, tras descartar la posible capacidad de agregación del receptor, se comprobó que el macrociclo *zwitteriónico* no interacciona con pequeños aniones hidrofílicos ni con cationes orgánicos seguramente debido a la disposición conformacional que adoptan las cadenas del receptor. Posteriormente, mediante experimentos de ITC y RMN, se comprobó que el receptor *zwitteriónico* sí tiene la capacidad de complejar pequeñas moléculas orgánicas aniónicas. Aunque la fortaleza de unión con las mismas es algo inferior a la que tiene lugar utilizando el pilarareno análogo catiónico, la ventaja del uso del **ZWP5** reside en que, a pesar de ser un receptor cargado, éste tiene un carácter eléctricamente neutro, razón por la cual, a diferencia de lo que sucede cuando se utilizan otros *hosts* iónicos, el proceso de complejación hacia otros *guests* no se ve afectado por la presencia de sales en el medio. Finalmente, también se estudió la afinidad del **ZWP5** hacia huéspedes *zwitteriónicos* con diferente disposición de las cargas. En todos los casos se observó la formación de complejos *host-guest* con una fortaleza de unión similar, sin llegar a observar una cooperatividad destacable.

6.5 APÉNDICE

6.5.1 Síntesis y Caracterización del ZWP5

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Las reacciones con compuestos o mezclas sensibles al oxígeno o a la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de Argón desoxigenado y seco. Los matraces utilizados para dichas reacciones se secaron en estufa a 150 ºC al menos durante 12 horas y luego se flamearon y enfriaron bajo corriente de argón.

Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H y 75 MHz para ^{13}C) haciendo uso de disolventes deuterados ($CDCl_3$, CD_3OD y D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente. $CDCl_3$: 7.26 ppm (^{1}H). D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). CD_3OD: 3.31 ppm (^{1}H). Los experimentos bidimensionales se realizaron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 500. El procesado de los espectros se realizó con el *software* MestReNova (MestReLab Research Inc.).

Los espectros de masas de ionización por electrospray, ESI-MS (modo positivo), de alta resolución se realizaron en un espectrómetro Bruker Amazon ETD con analizador tipo trampa iónica.

La termogravimetría se realizó, por duplicado, a muestras de 4.5 miligramos del compuesto **ZWP5** en un termogravímetro TGA Q5000.

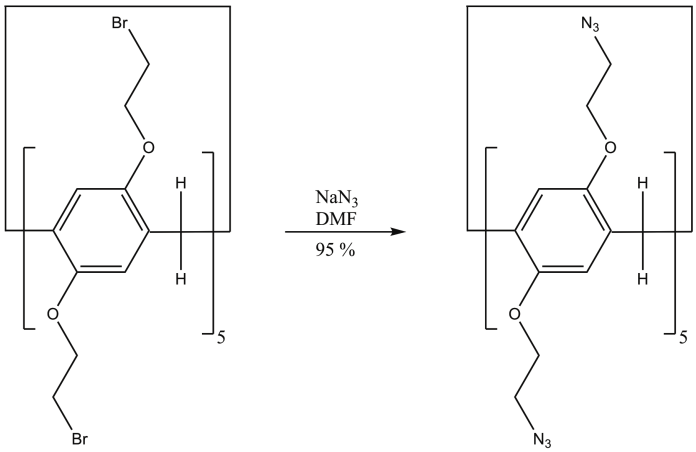
La técnica de espectrometría de masas se llevó a cabo en el Centro de Apoyo Científico y Tecnológico de la Universidad de Santiago de Compostela (CACTUS).

El procedimiento para la síntesis del pilarareno bromado de partida (**1)** se muestra en el apéndice del capítulo 2 (2.5.1).[2]

El procedimiento para la obtención del pilarareno modificado con aminas (**3**) se realizó siguiendo el método descrito por Jun-Li Hou.[14]

El procedimiento para la dimetilación de las aminas (compuesto **4**) se realizó mediante una variante del método descrito por Gordon A. Alles.[20]

El procedimiento para la obtención del **ZWP5** a partir del compuesto **4** se realizó mediante una variante del método descrito por Jeffry G. Weers.[21]

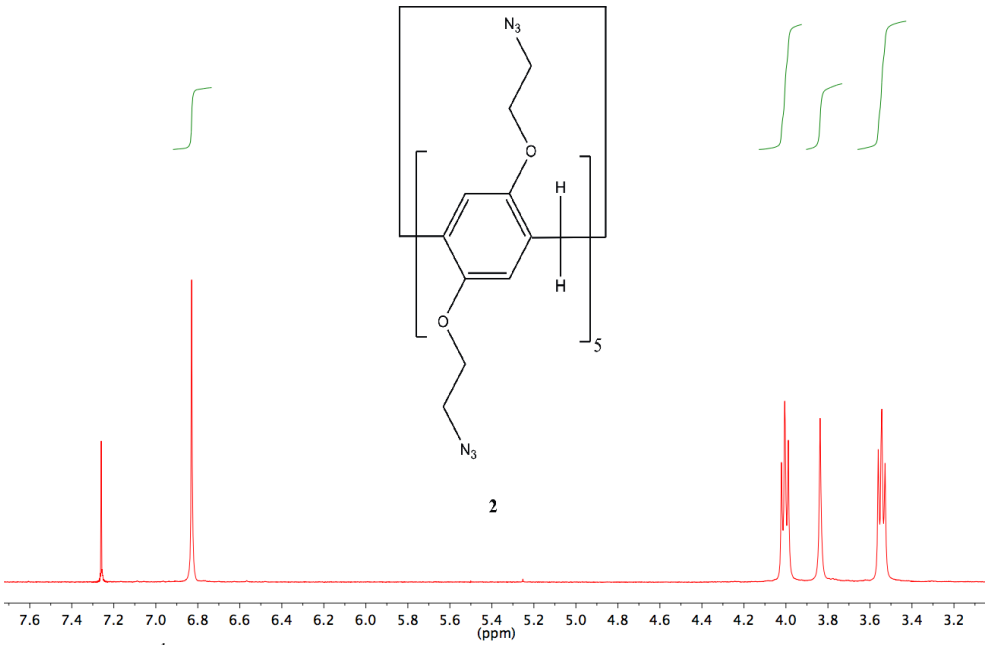


1 **2**

A una disolución de **1** (2.5 g, 1.5 mmol) en dimetilformamida seca (125 mL) se le añadió azida sódica (4.8 g, 74 mmol). La dispersión se dejó agitar a 100 ºC bajo atmosfera de Ar durante 12 horas. Una vez enfriada a temperatura ambiente, la mezcla se vertió sobre unos 400 mL de H_2O MQ. El precipitado obtenido se filtró en placa y se lavó con más H_2O MQ para obtener el compuesto **2** como un sólido blanco (1.86 g, 1.43 mmol) en un rendimiento del 95 %.

^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): 6.83 (s, 10H); 4.01 (t, *J*=5.5, 20H); 3.84 (s, 10H); 3.55 (t, *J*=5.5, 20H).

ESI-MS: $[M + Na]^+$. Calculado para $C_{55}H_{60}O_{10}N_{30}Na$: 1324.29. Encontrado: 1325.89.



2

Figura A.6.1. Espectro ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **2**.

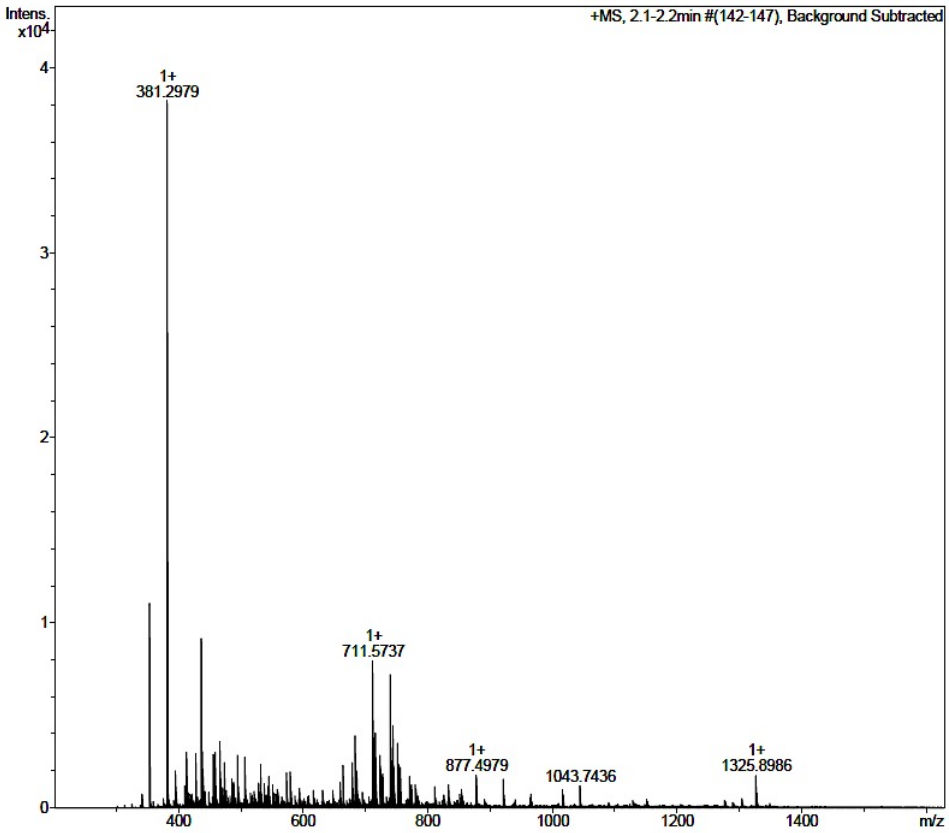
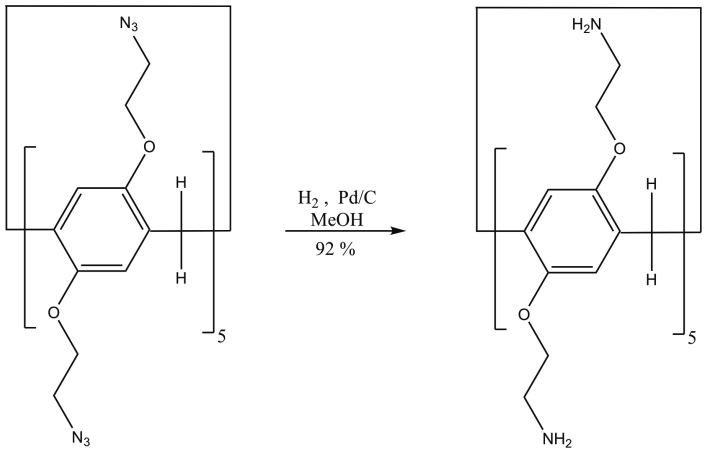


Figura A.6.2. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **2**.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



2 **3**

Sobre una suspensión desgasificada de **2** (1.5 g, 1.15 mmol) en metanol se añadió Pd/C (10 %, 150 mg). La mezcla se agitó a 50 ºC bajo atmosfera de H_2 durante 48 horas. Una vez enfriada a temperatura ambiente, la mezcla se filtró en placa a través de celita y el residuo resultante se concentró a sequedad para finalmente purificarlo mediante cristalizaciones en cloroformo para obtener **3** como un sólido blanco (1.14 g, 1.10 mmol) en un rendimiento del 92 %.

^{1}H NMR (CD_3OD, 300 MHz): 6.75 (s, 10 H); 3.82 (sa, 30 H); 2.94 (t, J = 5.2, 20 H).

ESI-MS: $[M + H]^+$. Calculado para $C_{55}H_{81}O_{10}N_{10}$: 1041.6137. Encontrado: 1041.613.

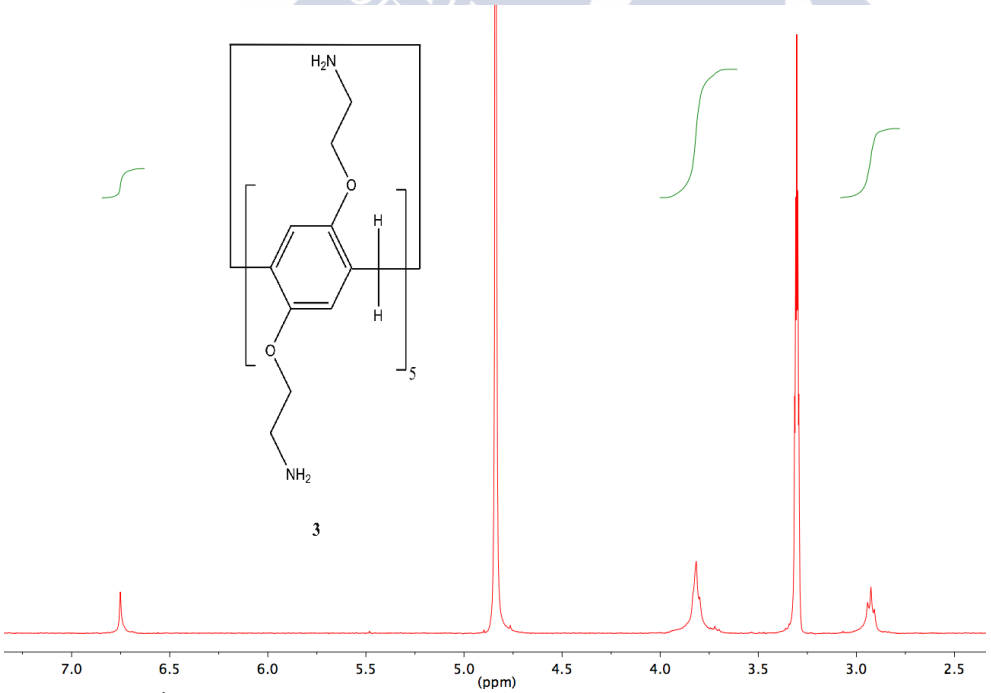


Figura A.6.3. Espectro ^{1}H RMN (CD_3OD, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **3**.

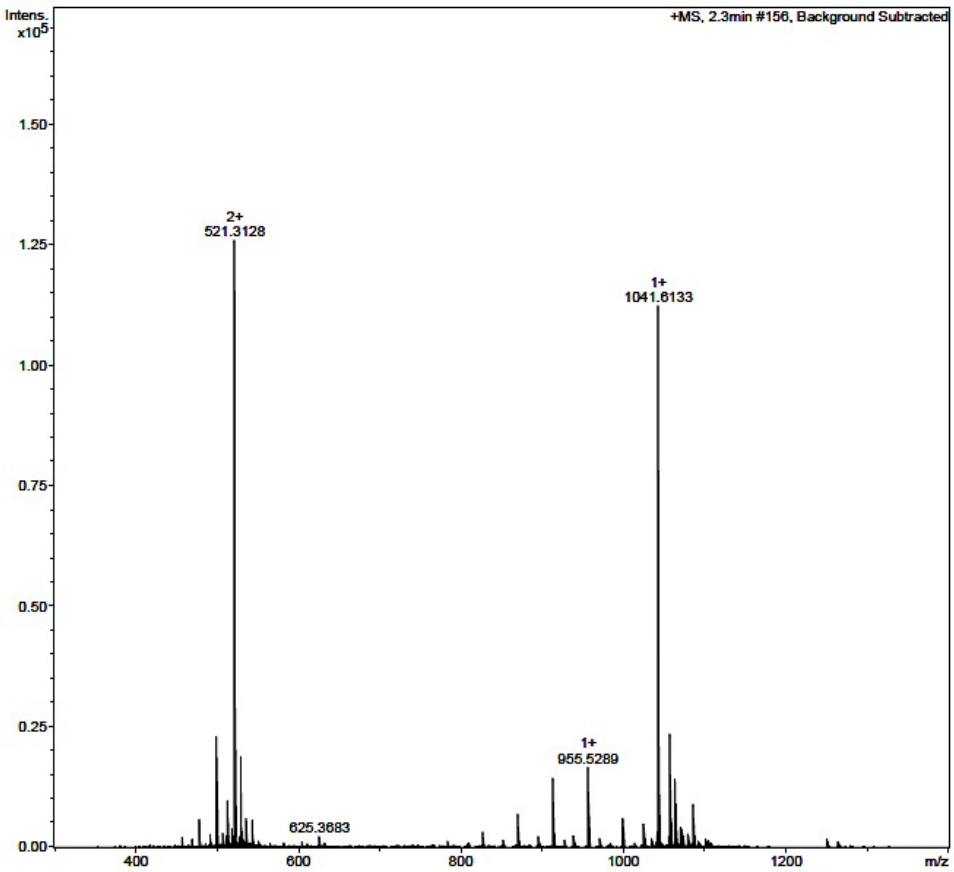
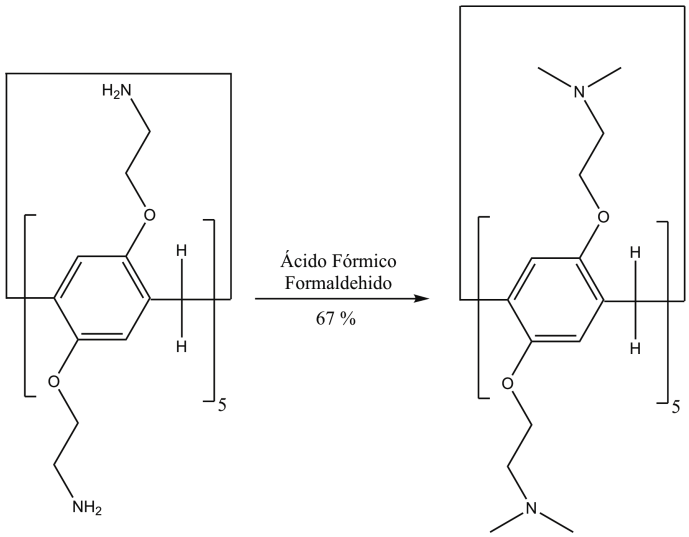


Figura A.6.4. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **3**.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



3 **4**

En un matraz de reacción se añadieron 275 µL (6.88 mmol) de ácido fórmico. A temperatura ambiente y bajo agitación se añadió el compuesto **3** (136 mg, 0.13 mmol) y posteriormente se añadieron 325 µL (3.9 mmol) de formaldehido. La mezcla se agitó a reflujo durante 16 horas. Una vez enfriada a temperatura ambiente, la mezcla (pH≈3) se concentró a sequedad y se redisolvió con una disolución de NaOH hasta pH≈8, para posteriormente realizar extracciones con $CHCl_3$. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. Finalmente, el sólido se recristalizó en acetato de etilo para obtener **4** como un sólido blanco (116 mg, 0.088 mmol) en un rendimiento del 67 %.

^{1}H NMR (CD_3OD, 300 MHz): 6.87 (s, 10H); 3.98 (t, *J*=5.8, 20H); 3.78 (s, 10H); 2.79 (sa, 20H); 2.38 (s, 60H).

ESI-MS: $[M + H]^+$. Calculado para $C_{75}H_{121}O_{10}N_{10}$: 1321.85. Encontrado: 1321.266.

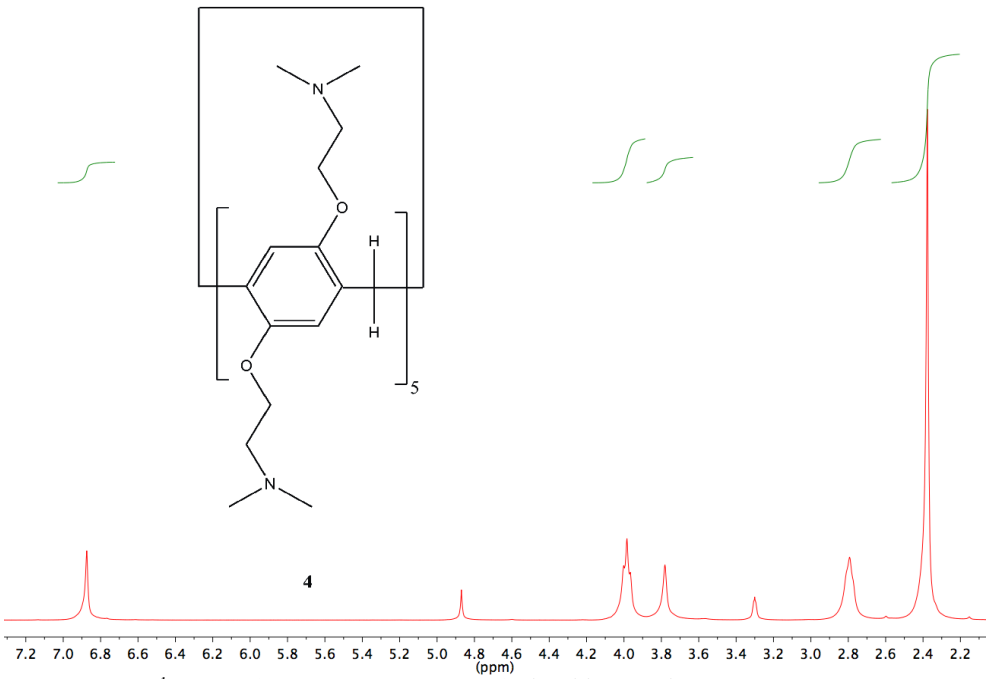


Figura A.6.5. Espectro ^{1}H RMN (CD_3OD, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **4**.

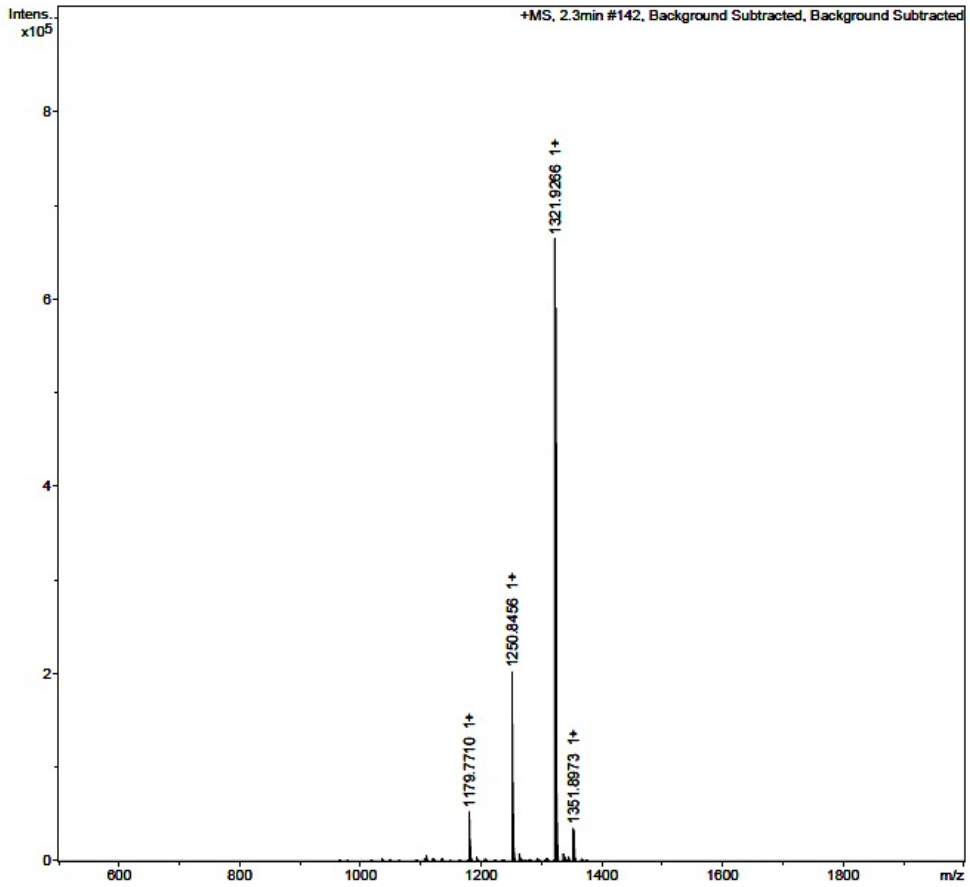
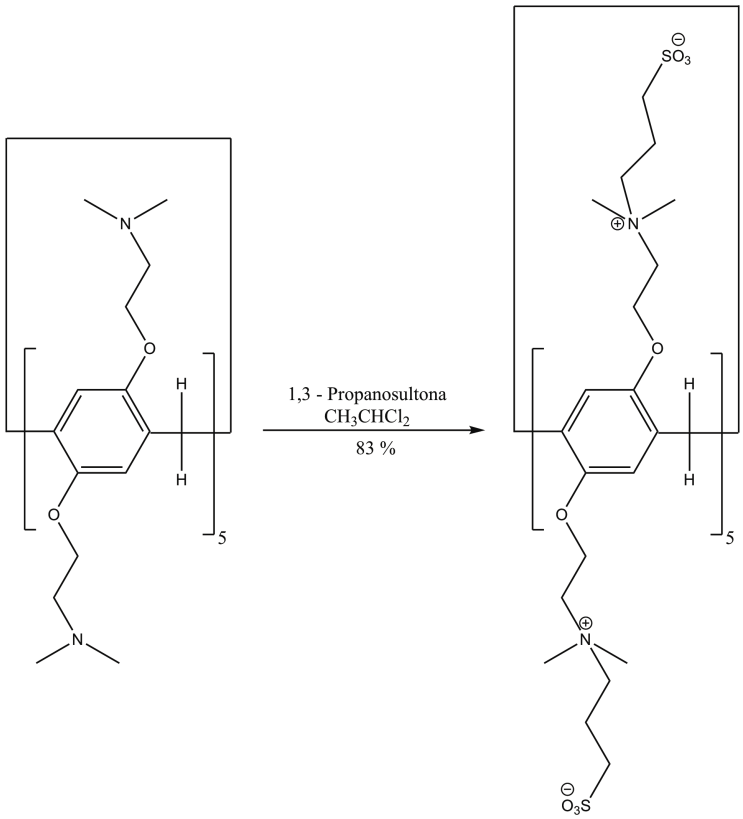


Figura A.6.6. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **4**.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



4 **ZWP5**

A una disolución del compuesto **4** (220 mg, 0.16 mmol) en dicloroetano seco (6 mL) se le añadió la 1,3-propanosultona (171 µL, 1.92 mmol). La mezcla se agitó a 60 ºC durante 72 horas y, una vez enfriada a temperatura ambiente, se filtró en placa realizando lavados con CH_2Cl_2 para obtener el ZWP5 como un sólido blanco higroscópico (338 mg, 0.133 mmol) en un rendimiento del 83 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 6.98 (sa, 10H); 4.54 (sa, 20H); 3.80 (sa, 50H); 3.30 (s, 60H); 3.00 (s, 20H); 2.31 (s, 20H). Desafortunadamente, no se consiguió eliminar un par de impurezas relacionadas con la propanosultona (2.05 ppm y 1.96 ppm).

ESI-MS: $[M + H]^+$. Calculado para $C_{90}H_{150}O_{25}N_{10}S_5$: 1932.48. Encontrado: 1932.9430. Calculado para $C_{87}H_{144}O_{22}N_{10}S_4$: 1810.33. Encontrado: 1810.9421. Calculado para $C_{84}H_{138}O_{19}N_{10}S_3$:1688.18. Encontrado: 1688.9478. Calculado para $C_{81}H_{131}O_{16}N_{10}S_2$: 1565.03. Encontrado: 1565.9404.

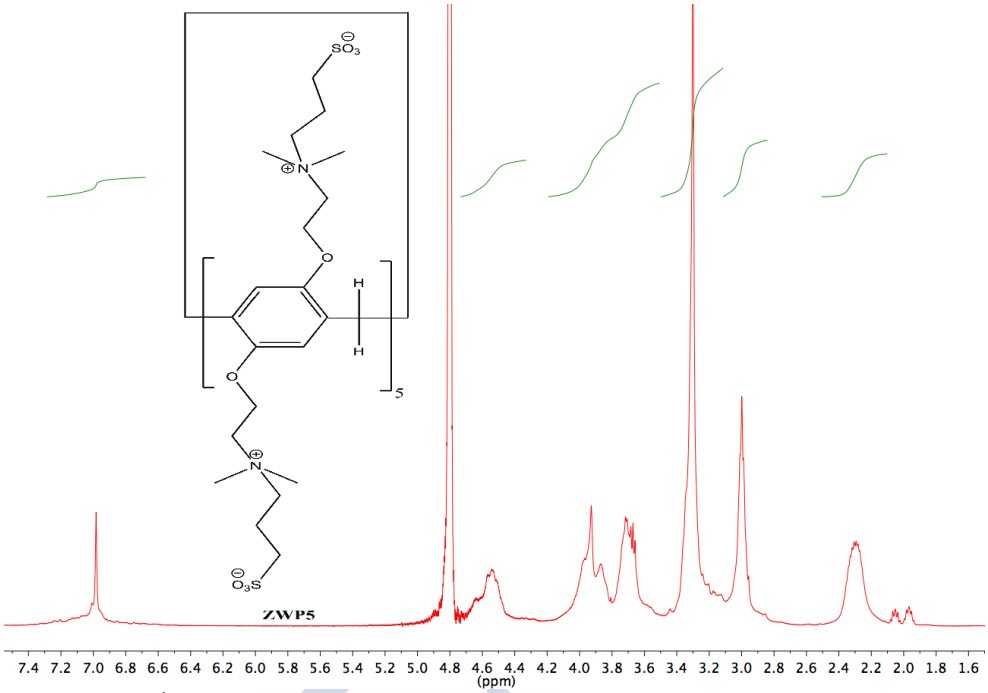


Figura A.6.7. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

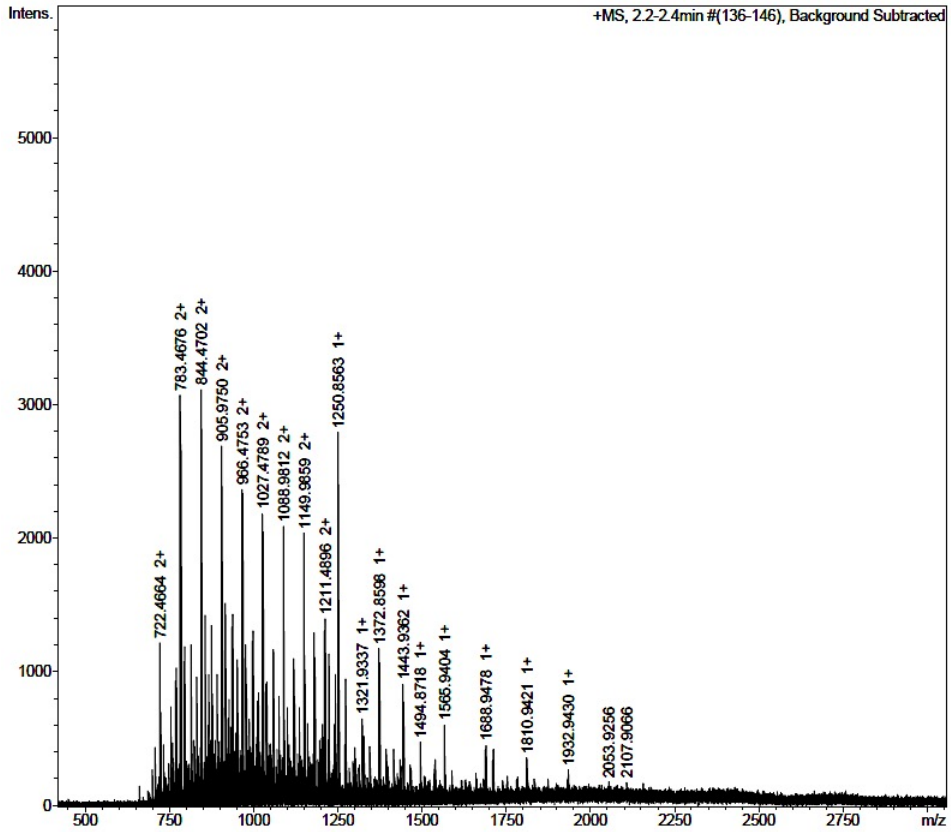


Figura A.6.8. Espectro ESI-MS obtenido para el **ZWP5**.

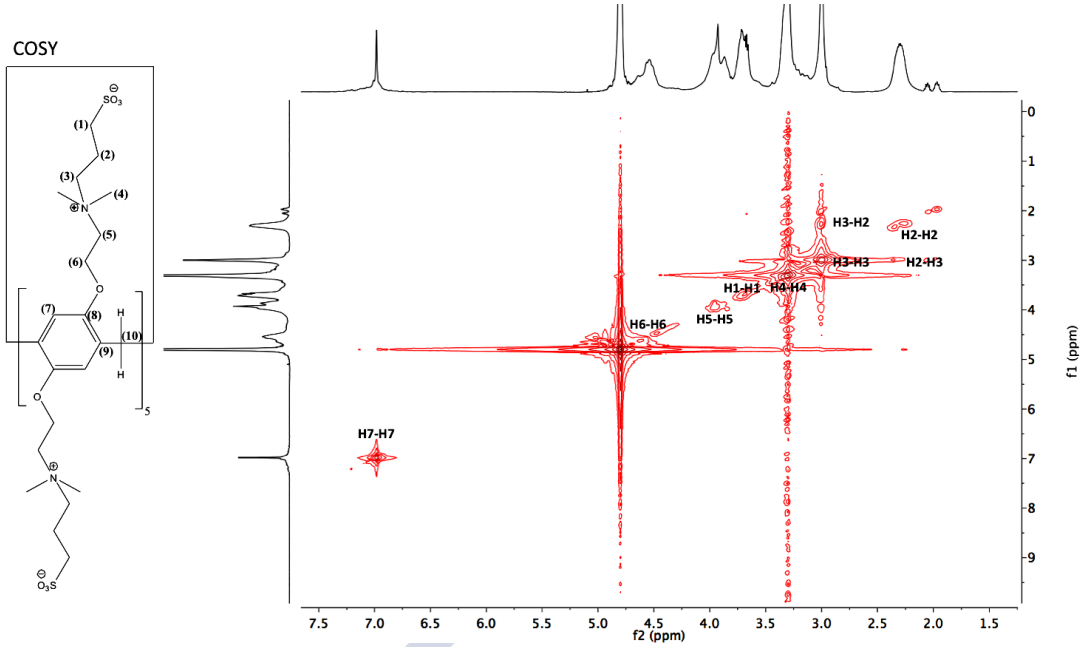


Figura A.6.9. Espectro COSY (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

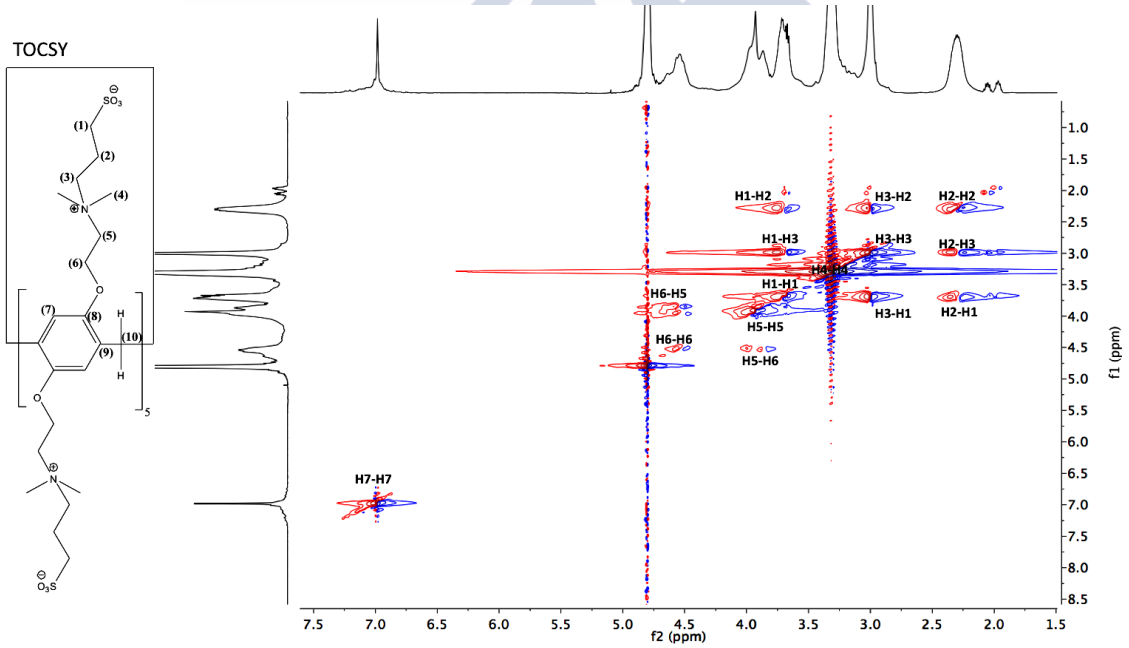


Figura A.6.10. Espectro TOCSY (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

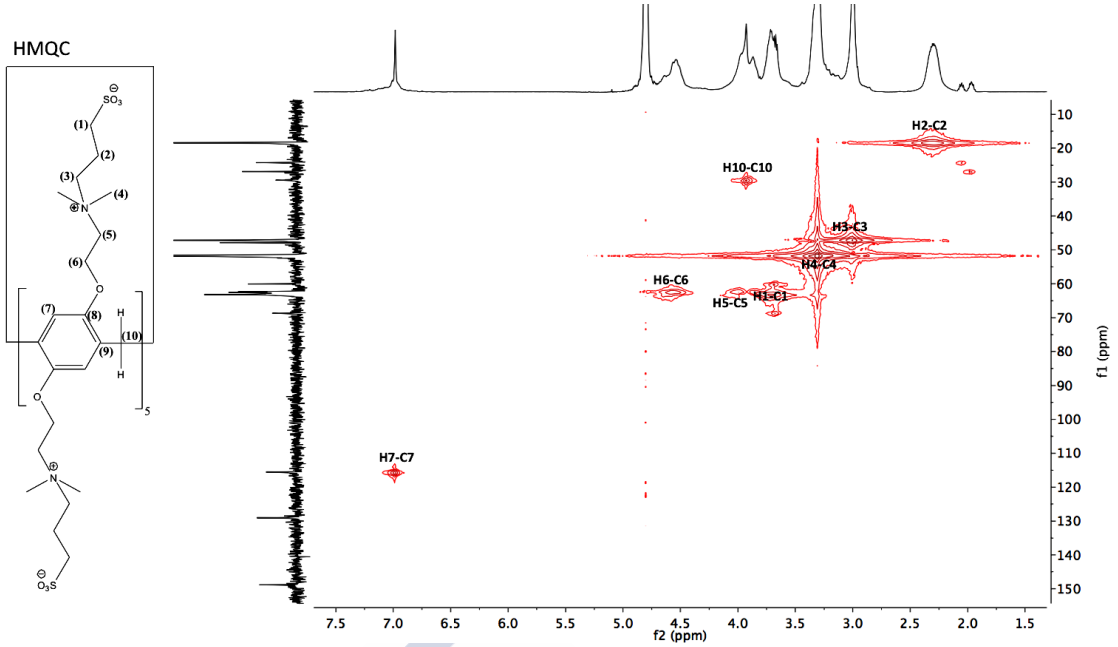


Figura A.6.11. Espectro HMQC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

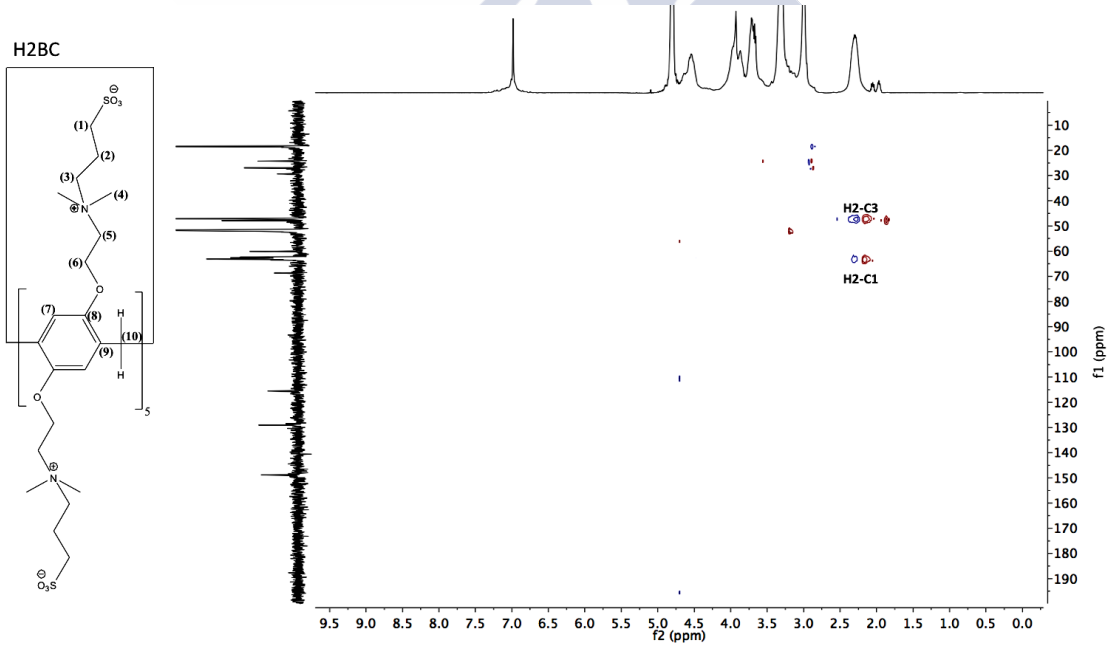


Figura A.6.12. Espectro H2BC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

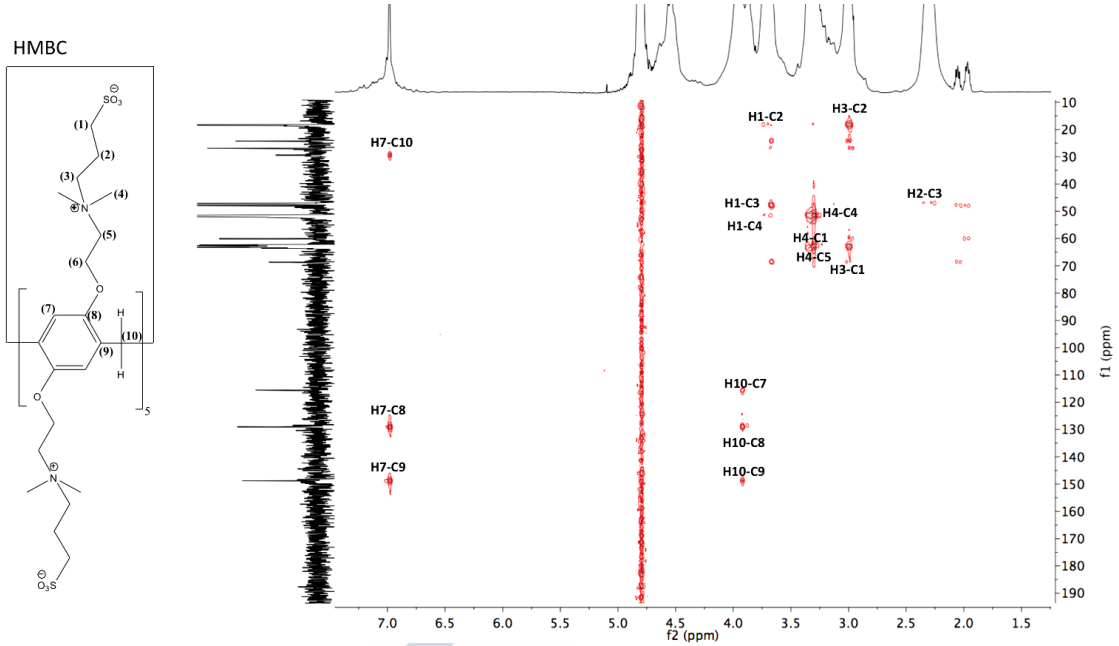


Figura A.6.13. Espectro HMBC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZWP5**.

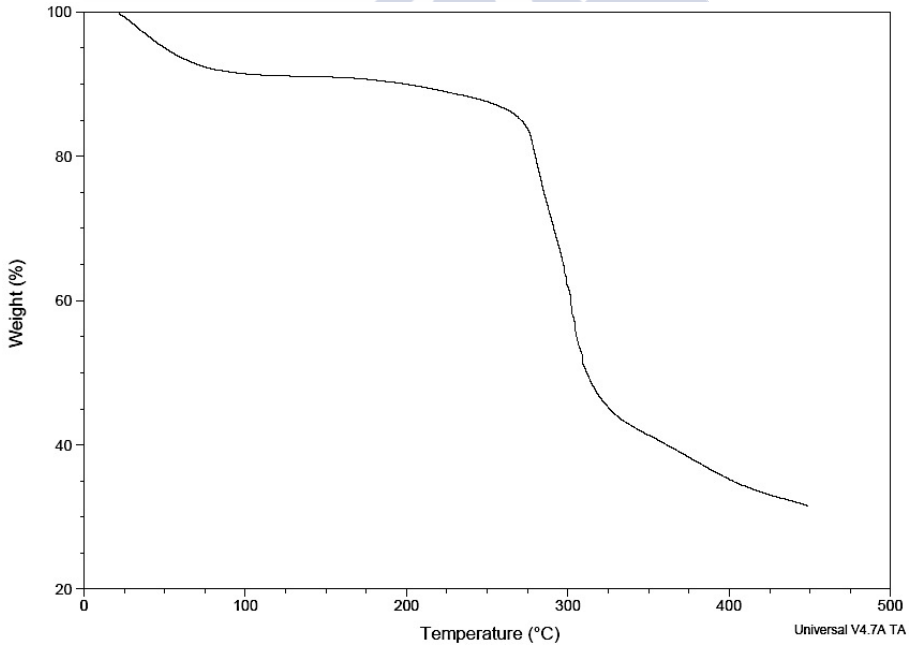
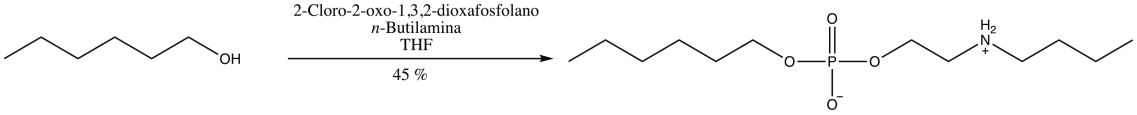


Figura A.6.14. Variación del peso en función de la temperatura para una muestra del **ZWP5**.

6.5.2 Síntesis y Caracterización del ZW3

El procedimiento para la obtención del **ZW3** se realizó mediante una variante del método descrito por Eui-Chul Kang.[22] Antes de su utilización, el 1-Hexanol y la *n*-butilamina se secaron con Mg/I_2 e hidruro cálcico, respectivamente.



Una mezcla de 2-Cloro-2-oxo-1,3,2-dioxafosfolano (1 g, 6.67 mmol) en 2 mL de tetrahidrofurano seco fue añadida sobre una que contenía 1-hexanol (0.84 mL, 6.67 mmol) y diisopropilamina (0.94 mL, 6.67 mmol) en 10 mL de tetrahidrofurano seco, gota a gota, a 0 ºC y bajo agitación intensa con corriente de Ar. Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante una hora a 0 ºC y otras dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente se añadió la *n*-butilamina (2 mL, 20 mmol) disuelta en 15 mL de tetrahidrofurano seco. El hidrocloruro de diisopropilamina generado se filtró a vacío y el filtrado se evaporó a sequedad para finalmente obtener el ZW3 (0.85 g, 3.02 mmol) mediante recristalizaciones en mezclas acetato de etilo/hexano en un rendimiento del 45 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 4.09 (m, 2H); 3.87 (q, *J*=6.7, 2H); 3.30 (m, 2H); 3.07 (m, 2H); 1.64 (m, 4H); 1.38 (m, 4H); 1.29 (m, 4H); 0.91 (t, *J*=7.4, 3H); 0.86 (m, 3H).

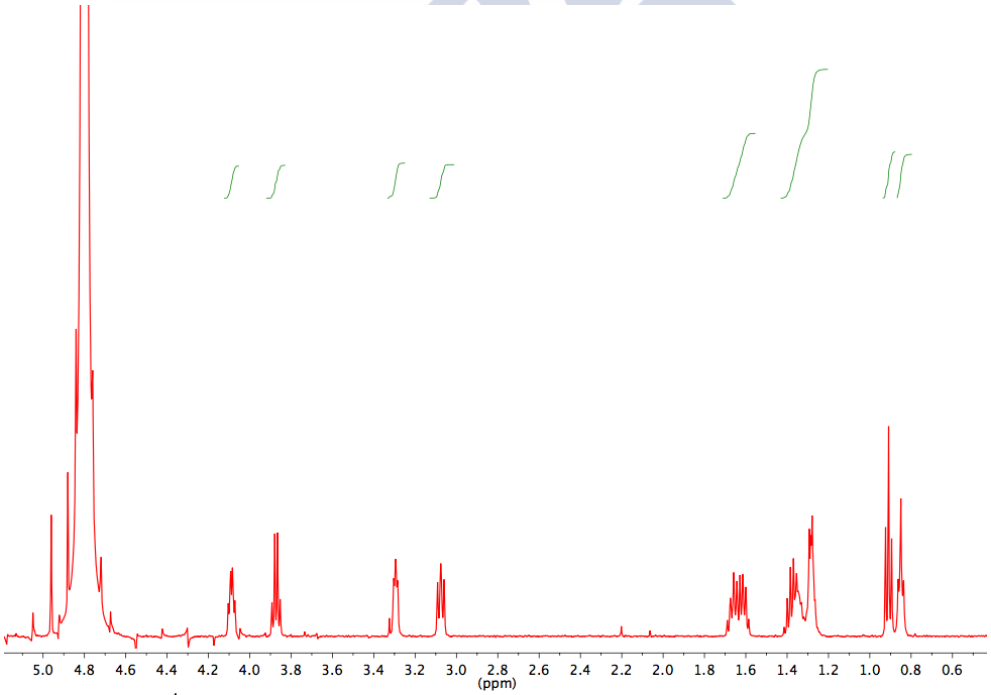


Figura A.6.15. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZW3**.

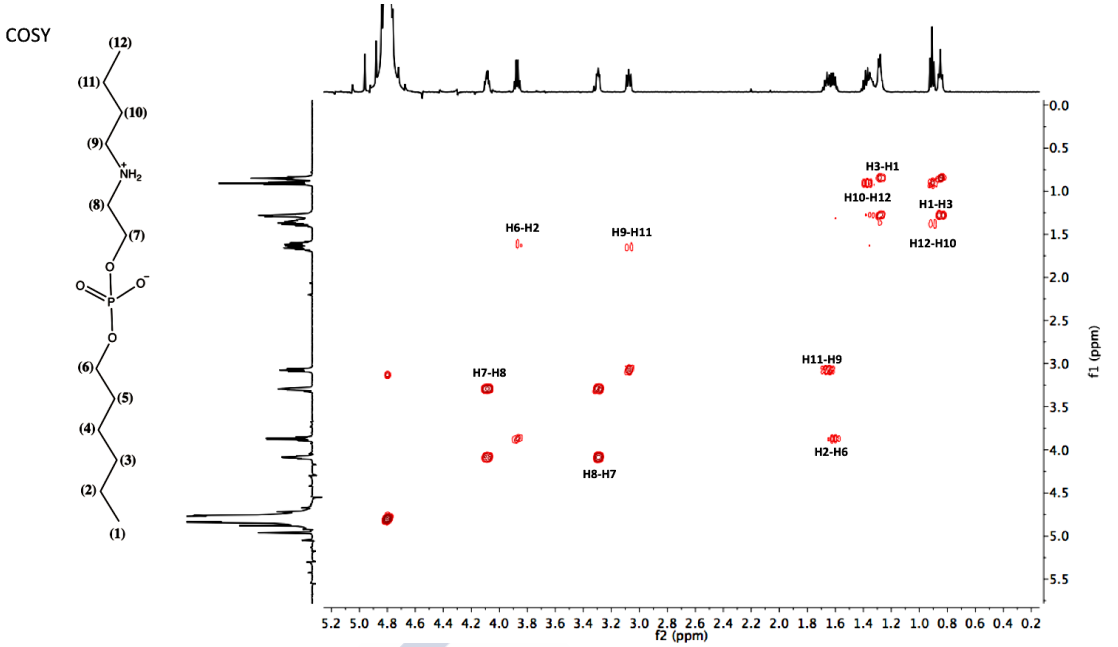


Figura A.6.16. Espectro COSY (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZW3**.

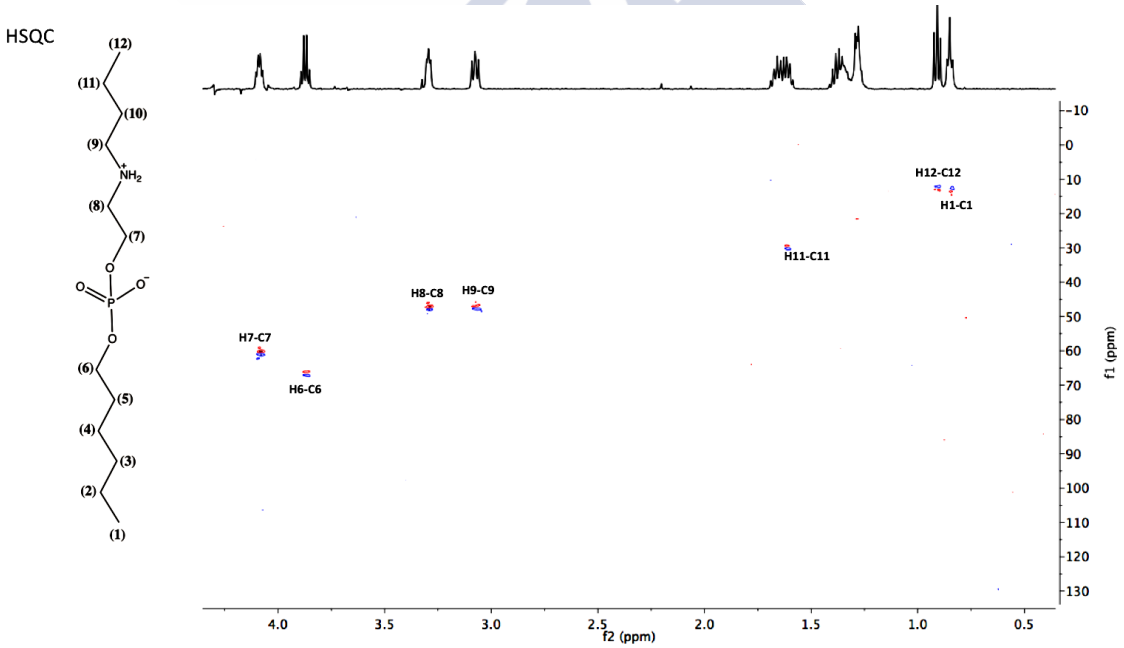


Figura A.6.17. Espectro HSQC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZW3**.

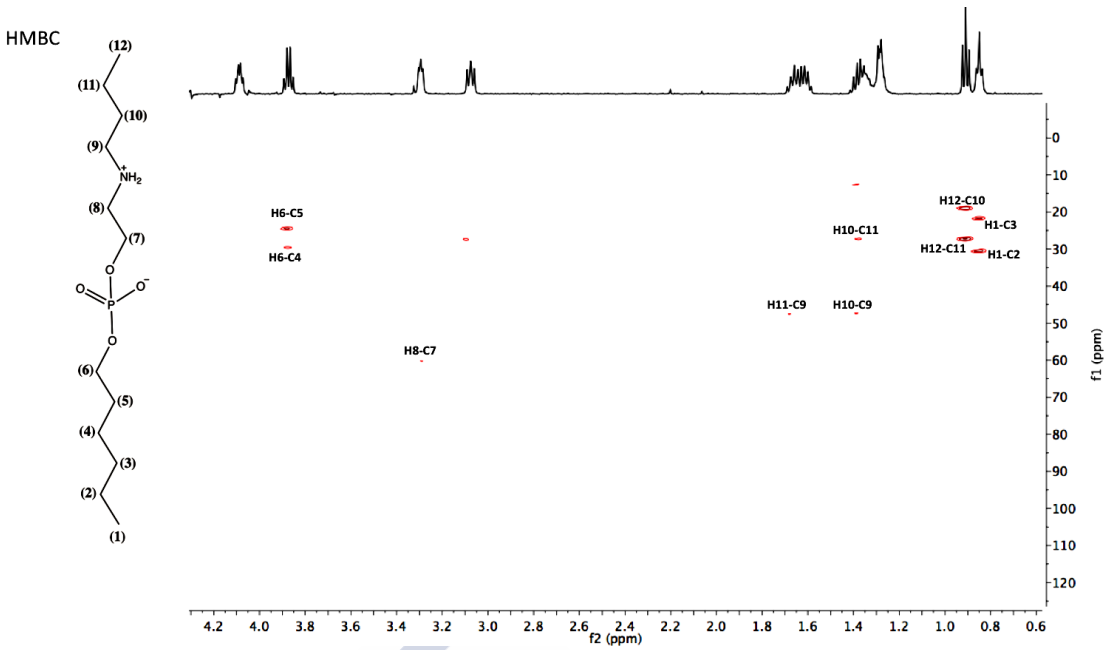


Figura A.6.18. Espectro HMBC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para el **ZW3**.

6.5.3 Valoraciones ITC del ZWP5 con el *p*-toluensulfonato añadiendo una sal externa

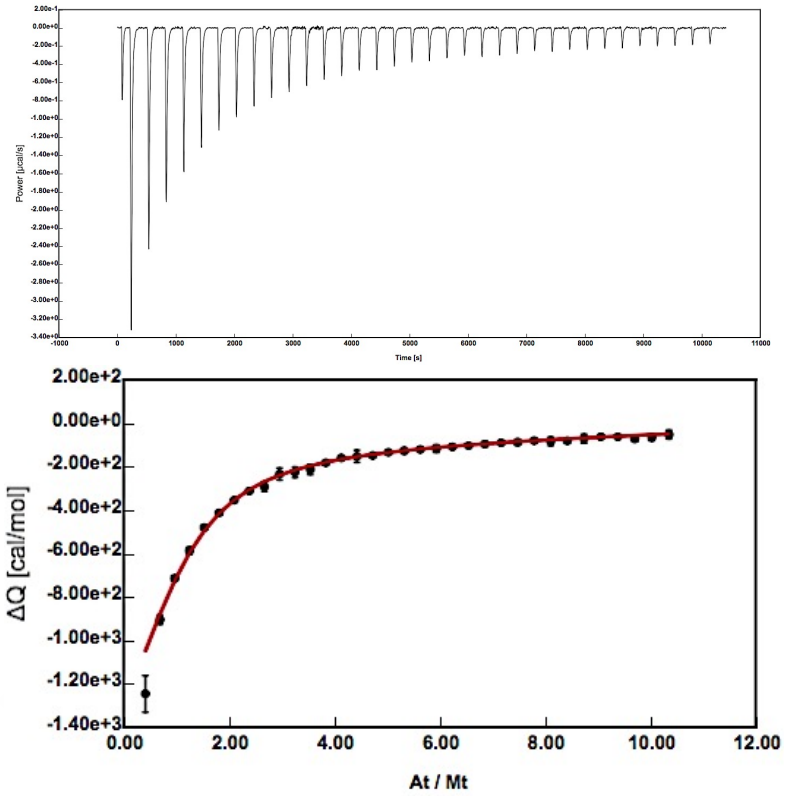


Figura A.6.19. Valoración microcalorimétrica en presencia de 10 mM de $NaBF_4$ de **ZWP5** con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de *p*-toluensulfonato (10 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

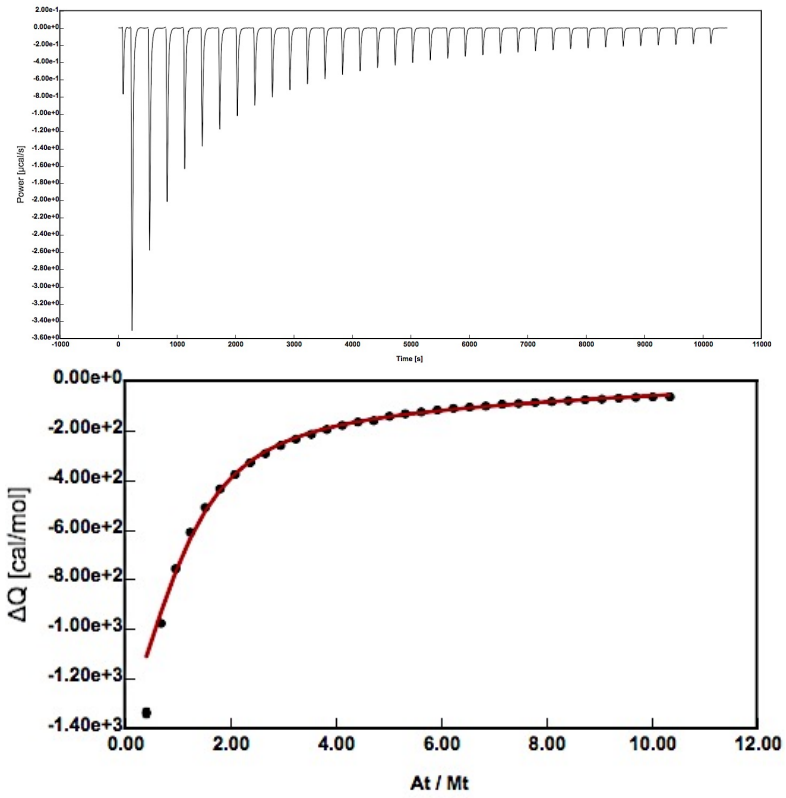


Figura A.6.20. Valoración microcalorimétrica en presencia de 10 mM de NaBr de **ZWP5** con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de *p*-toluensulfonato (10 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

6.5.4 Valoraciones ITC del pilarareno catiónico con el *p*-toluensulfonato añadiendo una sal externa

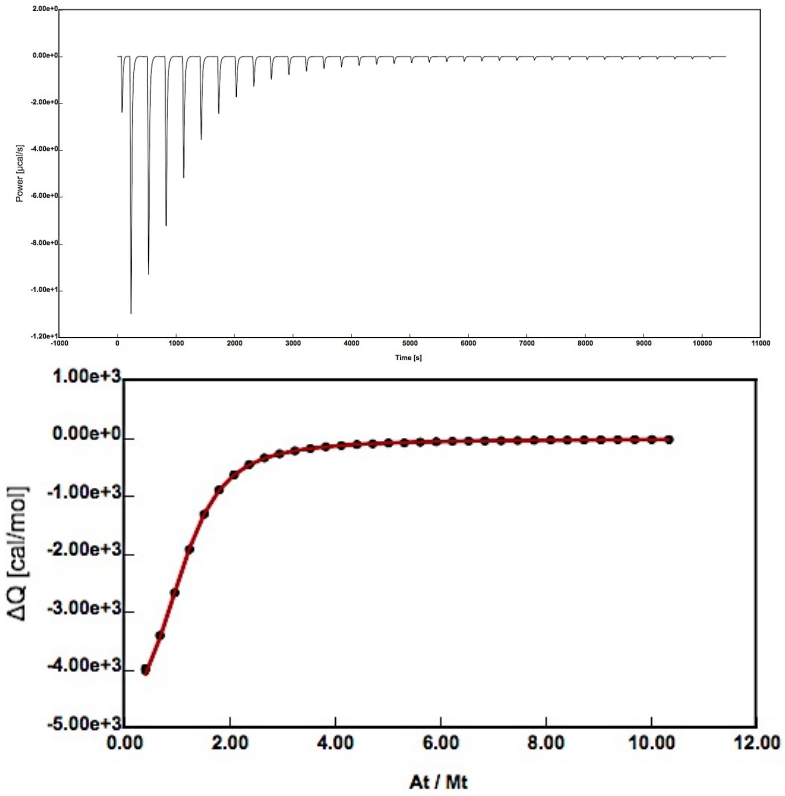


Figura A.6.21. Valoración microcalorimétrica en presencia de 10 mM de $NaBF_4$ del pilarareno catiónico con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de *p*-toluensulfonato (10 mM) sobre una disolución de pilarareno catiónico (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

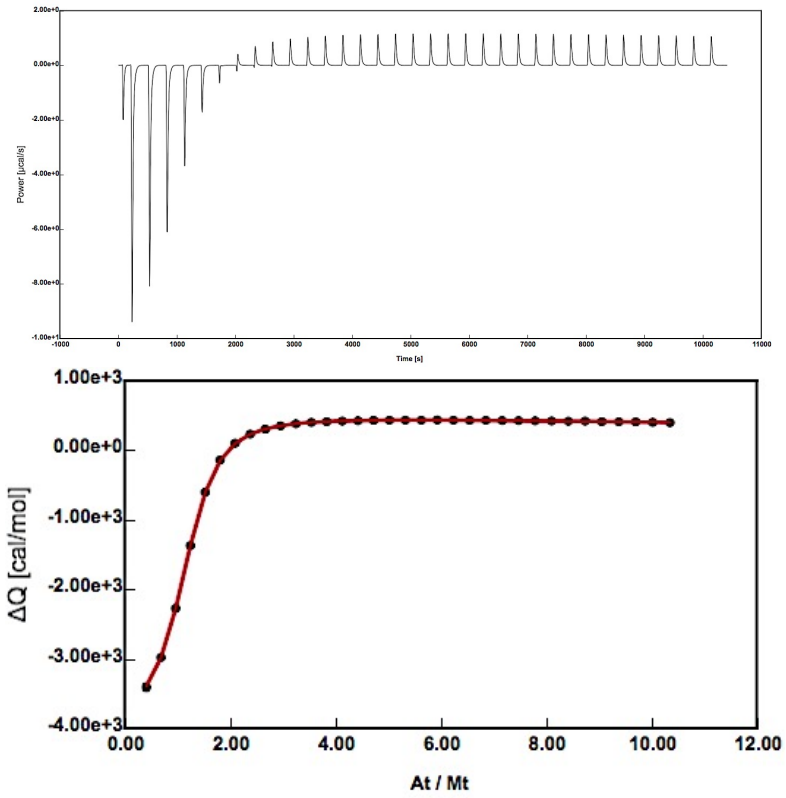


Figura A.6.22. Valoración microcalorimétrica en presencia de 10 mM de NaBr de pilarareno catiónico con *p*-toluensulfonato en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de *p*-toluensulfonato (10 mM) sobre una disolución de pilarareno catiónico (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.5 Espectros ^{1}H RMN del ZWP5 con el ZW2

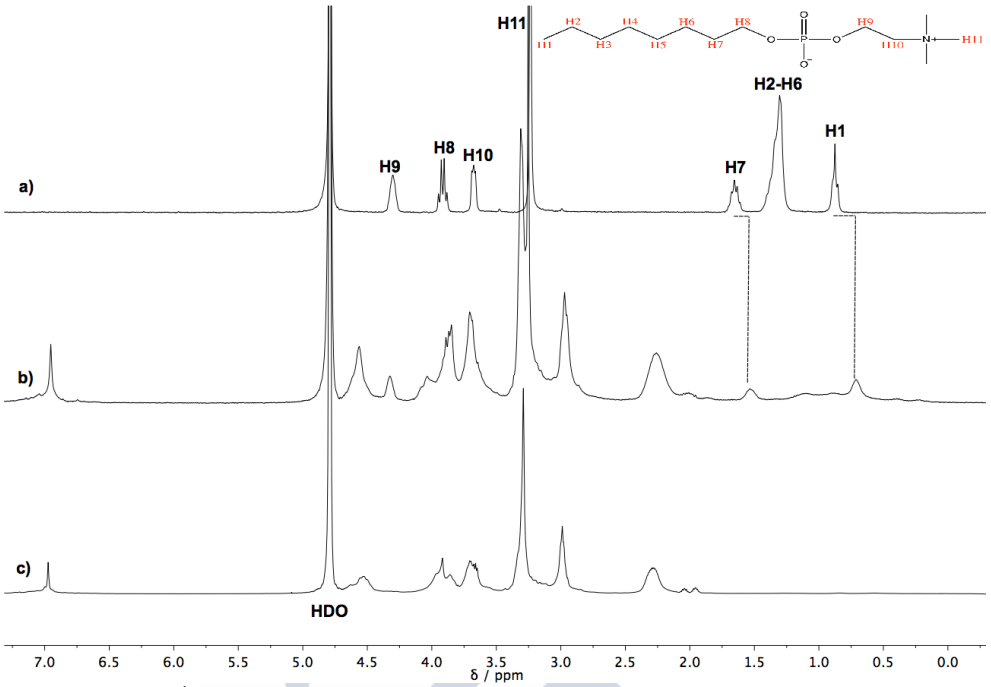


Figura A.6.23. Espectros ^{1}H RMN en D_2O a 25 ºC de: a) 4 mM de **ZW2**, b) 4 mM de **ZWP5** con 4 mM de **ZW2** y c) 2 mM de **ZWP5**.

6.5.6 Espectros 2D RMN del ZWP5 con el ZW3

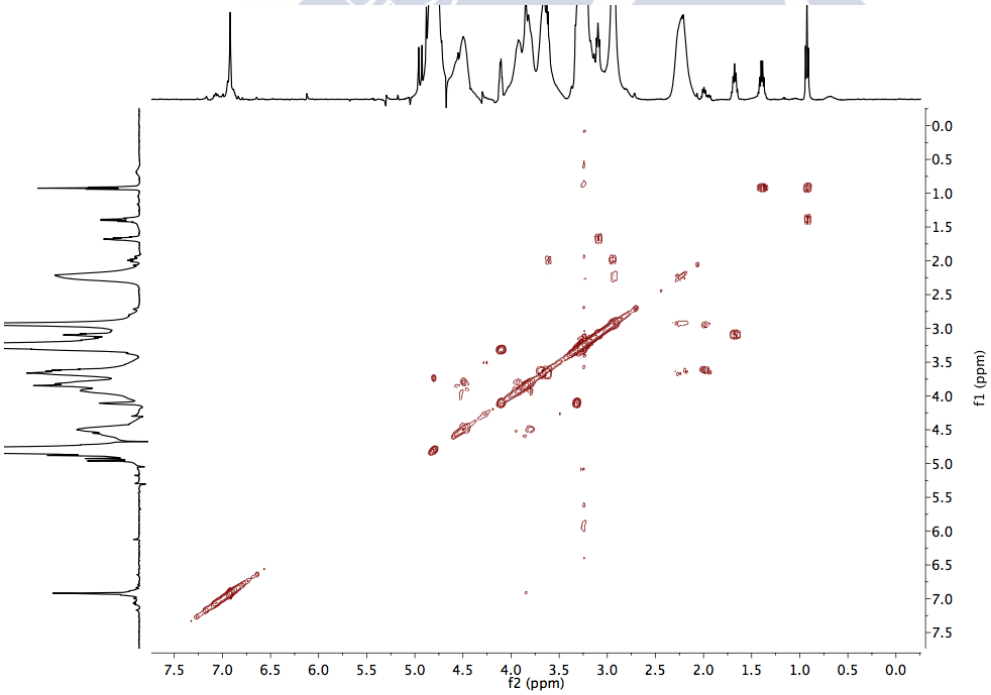


Figura A.6.24. Espectro COSY (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para una mezcla de **ZWP5** con **ZW3**.

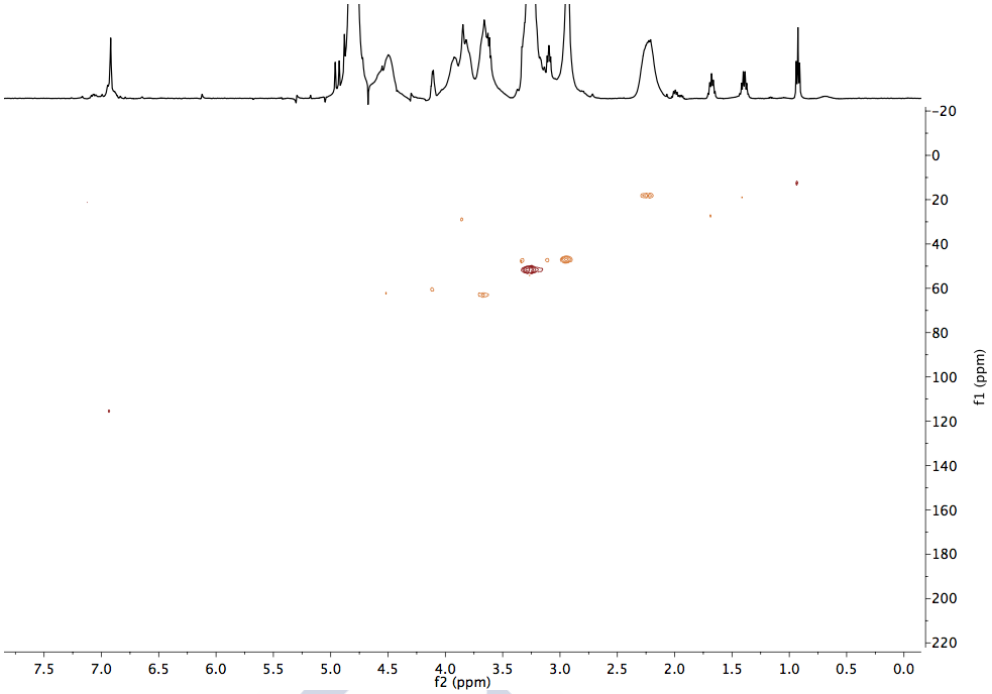


Figura A.6.25. Espectro HSQC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para una mezcla de **ZWP5** con **ZW3**.

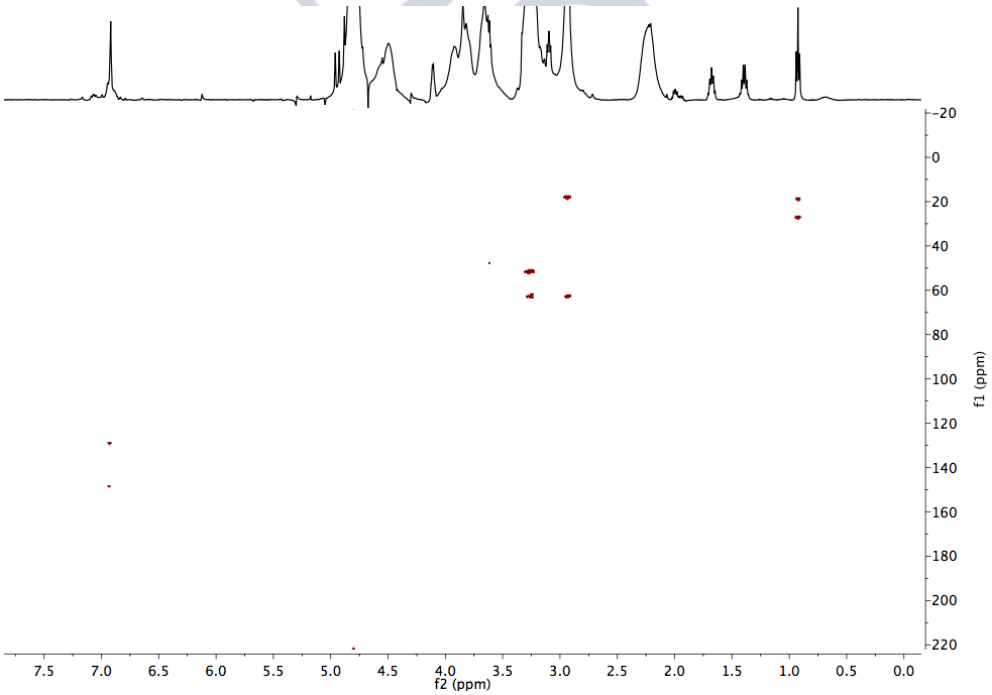


Figura A.6.26. Espectro HMBC (D_2O, 500 MHz, 25 ºC) obtenido para una mezcla de **ZWP5** con **ZW3**.

6.5.7 Valoración ITC del ZWP5 con el ZW2

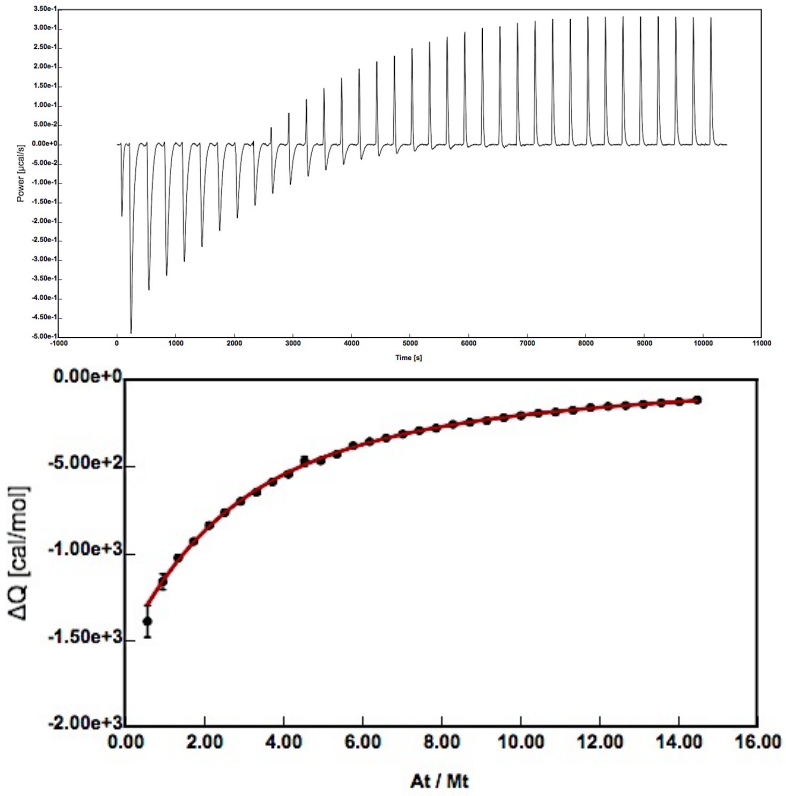


Figura A.6.27. Valoración microcalorimétrica de **ZW2** con **ZWP5** en agua a 25 ºC. Resultados para 35 inyecciones secuenciales (8 µL por inyección) de una disolución de **ZWP5** (7 mM) sobre una disolución de **ZW2** (0.1 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.5.8 Valoración ITC del ZWP5 con el ZW3 añadiendo $NaBF_4$ al medio

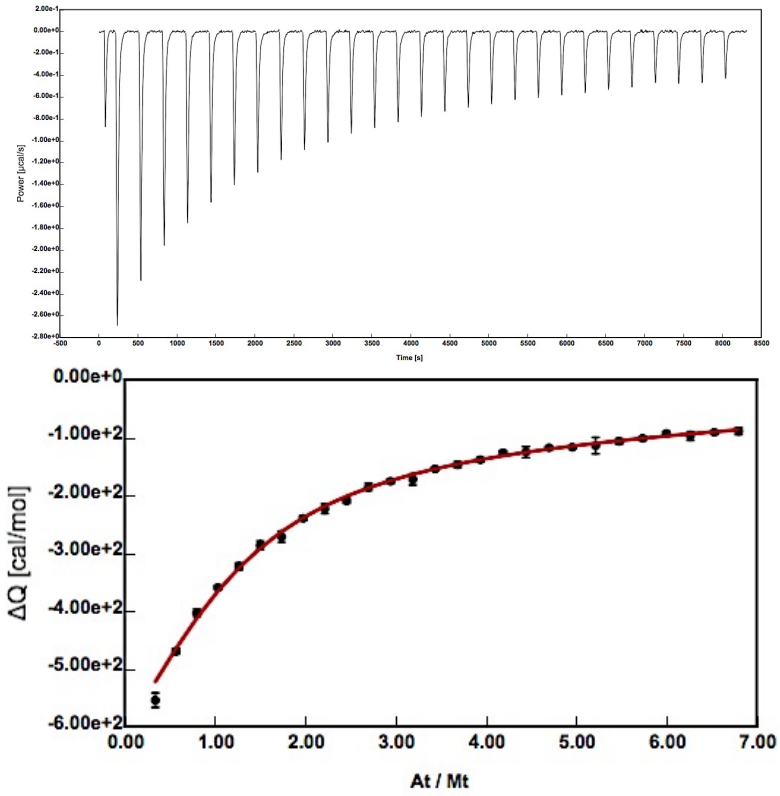


Figura A.6.28. Valoración microcalorimétrica en presencia de 50 mM de NaBr de **ZWP5** con **ZW3** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **ZW3** (15 mM) sobre una disolución de **ZWP5** (0.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(2) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(3) Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710.

(4) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5308-5315.

(5) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; García-Río, L.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12123-12132.

(6) Pessego, M.; Basílio, N.; Muñiz, M. C.; García-Río, L. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 6442-6448.

(7) Cattani, A.; Schmidtchen, F. P. *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341*, 291-296.

(8) Berger, M.; Schmidtchen, F. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9986-9993.

(9) Worm, K.; Schmidtchen, F. P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 65-66.

(10) Berger, M.; Schmidtchen, F. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8947-8948.

(11) Cresswell, A. L.; Piepenbrock, M.-O. M.; Steed, J. W. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2787-2789.

(12) JersChow, A.; Müller, N. *J. Magn. Reson.* **1997**, *375*, 372-375.

(13) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1998**, *10*, 197-237.

(14) Hu, X.-B.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J.-L. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696.

(15) Yao, Y.; Xue, M.; Chi, X.; Ma, Y.; He, J.; Abliz, Z.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6505-6507.

(16) Shinkai, S.; Mori, S.; Koreishi, H.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2409-2416.

(17) Drinkel, E.; Souza, F. D.; Fiedler, H. D.; Nome, F. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2013**, *18*, 26-34.

(18) Thordarson, P. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1305-1323.

(19) Douteau-Guével, N.; Coleman, A. W.; Morel, J.-P.; Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 629-633.

(20) Icke, R. N.; Wisegarver, B. B.; Alles, G. A. *Org. Synth.* **1945**, *25*, 89-91.

(21) Weers, J. G.; Rathman, J. F.; Axe, F. U.; Crichlow, C. A.; Foland, L. D.; Scheuing, D. R.; Wiersema, R. J.; Zielske, A. G. *Langmuir* **1991**, *7*, 854-867.

(22) Kang, E.-C.; Kataoka, S.; Kato, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2005**, *78*, 1558-1564.

CAPÍTULO 7

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 7

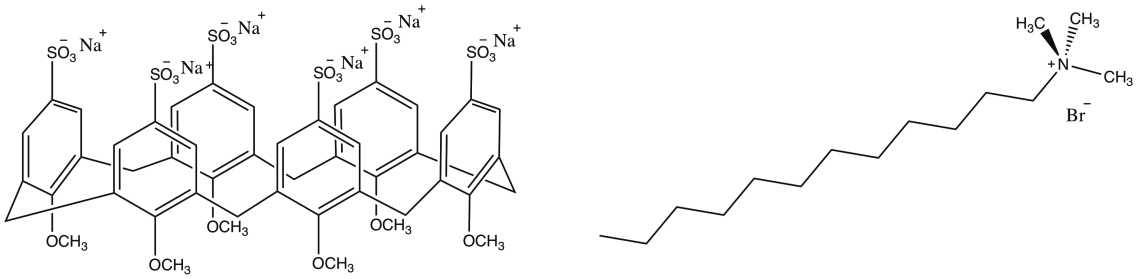
7. ESTUDIO DEL SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR FORMADO ENTRE EL SULFONATOCALIX[6]ARENO METILADO Y EL BROMURO DE DODECILTRIMETILAMONIO

7.1 INTRODUCCIÓN

Los anfífilos supramoleculares son, por definición, complejos no covalentes formados a partir de moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas.[1–5] En la práctica, la mayoría de los ejemplos de anfífilos supramoleculares reportados están compuestos por una molécula anfifílica que interacciona con una segunda especie para formar un complejo supramolecular con superiores (o distintas) propiedades anfifílicas. Pueden utilizarse diferentes estrategias para crear anfífilos supramoleculares, incluyendo interacciones *host-guest*, enlaces de hidrógeno, de transferencia de carga, apilamiento π o *coulombianas*, por citar algunos ejemplos.[6–24]

La asociación de polielectrolitos con surfactantes cargados opuestamente ha levantado un alto interés tanto para ampliar el conocimiento fundamental como para el desarrollo de potenciales aplicaciones tecnológicas. Muchas de las macromoléculas biológicas son polielectrolitos y, como resultado, la información obtenida del estudio de este tipo de sistemas puede ser de gran ayuda para entender los mecanismos biológicos que están controlados principalmente por interacciones electrostáticas como ocurre, por ejemplo, en la condensación de la cromatina.[25] Además, la asociación de biomoléculas cargadas como el ADN con surfactantes cargados opuestamente tiene varios tipos de potenciales aplicaciones, tales como la purificación, la extracción, la liberación de fármacos y genes, la transfección o los sistemas de sensores basados en membranas.[26–28]

Las mezclas de surfactantes con polielectrolitos exhiben un comportamiento complejo que depende fuertemente de la estructura y la carga de los dos componentes. Cuando un polielectrolito fuerte y flexible se mezcla con surfactantes de carga opuesta, la formación de agregados auto-ensamblados se detecta a concentraciones bien por debajo de la concentración micelar crítica (CMC). Para explicar los fenómenos de colapso y cooperación por encima de la CAC (concentración de agregación crítica), se ha venido utilizando un modelo en el cual tiene lugar la formación de *clusters* de micelas de surfactante con los polímeros "*loop*", con una neutralización de las cargas.[25] Para obtener un mejor entendimiento del comportamiento que siguen estas mezclas surfactante-polielectrolito, el estudio de las interacciones entre surfactantes iónicos y aditivos monoméricos u oligoméricos de superficie inactiva y cargados opuestamente puede aportar información del sistema, de tal forma que ya diferentes estudios que han sido publicados sobre la interacción entre oligoarenosulfonatos y el bromuro de dodeciltrimetilamonio (**C_{12}TAB**) han generado cierta controversia.[29,30]



SC6HM **C_{12}TAB**

Esquema 7.1

Para modelizar las mezclas surfactante-polielectrolito,[25,31–33] en este capítulo se propone el uso de mezclas de un derivado del *p*-sulfonatocalixareno (SCn) y el surfactante convencional bromuro de dodeciltrimetilamonio (**C_{12}TAB**) (Esquema 7.1). Los SCn son moléculas macrocíclicas anfitrionas solubles en agua formadas por n unidades de 4-hidroxibencenosulfonato unidas entre sí a través de puentes metileno en posición *meta*. Con cavidades hidrofóbicas ricas en electrones π y un portal superior funcionalizado con grupos sulfonato cargados negativamente, estos *hosts* poseen alta afinidad y selectividad hacia especies orgánicas cargadas positivamente.[34,35] Además de los complejos *host-guest* simples, se encontró que los SCn son también *hosts* muy útiles y efectivos para la construcción de anfífilos supramoleculares debido a su especial habilidad para inducir la agregación de un amplio abanico de moléculas huésped.[36–51] El auto-ensamblaje de materiales basados en SCn es un campo de estudio particularmente atractivo para aplicaciones biológicas y biomédicas debido a su baja toxicidad, su solubilidad en agua y la posibilidad de realizar su síntesis en escalas de multigramos.[52–54]

Debido al alto potencial de estos sistemas, el conocimiento profundo de los mecanismos de auto-ensamblaje es crucial para la optimización y el diseño racional de los mismos. Sin embargo, éstos son aspectos que permanecen todavía altamente inexplorados, a excepción de algunos trabajos sobre estudios sistemáticos sobre la agregación inducida de surfactantes y sondas. La agregación inducida por SCn muestra algunos paralelismos con los efectos similares exhibidos por polielectrolitos en presencia de compuestos anfifílicos cargados opuestamente. Como demostró Guo *et al.*, la principal diferencia entre estas dos clases de compuestos reside en el hecho de que los SCn pueden formar fuertes complejos *host-guest* 1:1 que predominan cuando el calixareno está presente en exceso, y así se consigue disociar los agregados.[55] Un modelo mecanístico que explica este fenómeno fue propuesto por nuestro grupo de investigación, permitiendo así un análisis cuantitativo de estos complejos sistemas.[46] Mientras que los SCn con cavidades bien definidas y alta afinidad asociativa poseen evidentes diferencias con respecto a los polielectrolitos, los derivados metilados de los SCn son mucho más flexibles y carecen de cavidades preorganizadas, mostrando una tendencia mucho menor (constantes de asociación más débiles) a formar complejos discretos 1:1 y, por lo tanto, diferencias más sutiles de los poliiones. De esta forma, en este trabajo es de especial interés la agregación inducida de iones de alquiltrimetilamonio a concentraciones por debajo de su concentración micelar crítica en presencia del 5,11,17,23,29,35-hexasulfonato-37,38,39,40,41,42-hexametoxicalix[6]areno (**SC6HM**) (Esquema 7.1).[36]

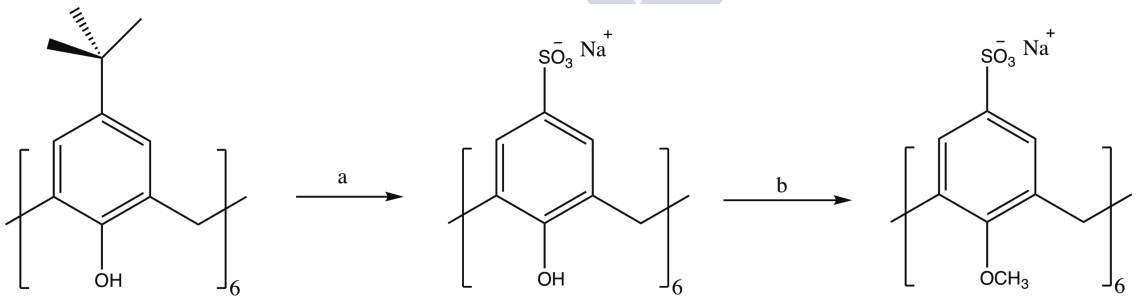
En el caso del sistema mixto **C_{12}TAB-SC6HM**, ya se demostró mediante espectroscopía de RMN (gradiente de pulsos *spin-echo*, PGSE) que la CAC coincide con el comienzo de la meseta observada en las medidas de tensión superficial a diferentes

concentraciones de surfactante.[36] Además, a concentraciones por debajo de la CAC (0.2 mM), se encontró que el **SC6HM** forma complejos *host-guest* de estequiometría 1:1 con el **C_{12}TAB**. En este capítulo, usando una combinación de técnicas de fluorescencia, conductividad, tensión superficial y de RMN se pretende obtener una perspectiva relativamente sencilla y clara sobre los fenómenos de agregación que tienen lugar en este sistema. Puede preverse que la información obtenida podría ser aplicable a otros sistemas como los mencionados previamente. Más específicamente, se intenta responder a cuestiones como, por ejemplo: para una concentración constante de **SC6HM**, ¿cómo responde el sistema a la continua adición de surfactante después de que las micelas mixtas **C_{12}TAB-SC6HM** ya hayan sido formadas? Para sistemas simples, está ampliamente aceptado que, para concentraciones por encima de la CMC, la adición de surfactante a la disolución resulta principalmente en un incremento en la concentración de surfactante micelizado, mientras que la concentración de monómeros libres permanece esencialmente inalterada e igual a la CMC, y esto puede resultar en un aumento en la concentración de micelas o en un crecimiento de la micela.[56,57] Por otro lado, dado que las micelas también son conocidas por su capacidad para encapsular o disolver especies hidrofóbicas y anfifílicas, es razonable considerar que la adición de **C_{12}TAB** puro al sistema conteniendo micelas mixtas **C_{12}TAB-SC6HM** debería resultar en la, al menos parcial, incorporación del anfífilo catiónico en los agregados. Pero, ¿cuál es su capacidad de carga? ¿Cómo afecta el incremento en la concentración de **C_{12}TAB** a la estructura de los agregados de este tipo de sistemas?

Además, en este capítulo también se analiza en detalle el efecto de la concentración de calixareno sobre el comportamiento de agregación del sistema mixto **C_{12}TAB/SC6HM** a través de medidas de tensión superficial y de fluorescencia, utilizando pireno y prodan como moléculas sonda.

7.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención del **SC6HM** se muestra en el Esquema 7.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice 7.5.1.



1 **2** **SC6HM**

Esquema 7.2

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN (^{1}H y PGSE) fueron adquiridos a 25 ºC en un espectrómetro Varian Inova 400. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Los espectros de difusión se obtuvieron con secuencia de pulsos eco estimulado estándar utilizando LED y gradiente de pulsos bipolar,[58] aplicando pulsos de gradientes

(G) rectangulares de 2 ms de duración y cuya potencia fue incrementada linealmente desde 2.1 hasta 64.3 G cm^{-1} en 20 pasos. La fuerza absoluta del gradiente fue calibrada previamente utilizando una muestra de difusión conocida como referencia. Para el calibrado de los experimentos de ^1H, se utilizó una muestra de D_2O 99 % a 25 ºC (D = 1.87×10^{-5} cm^2 s^{-1}). Para obtener resultados fiables de los coeficientes de difusión, el tiempo de difusión (Δ) del experimento se optimizó para cada muestra con el objetivo de capturar suavemente la atenuación de la intensidad de la señal para alcanzar la máxima diferencia en la intensidad entre las trazas con la potencia del gradiente máxima y mínima.

Conductividad. Las medidas de conductividad eléctrica se realizaron utilizando un conductivímetro Radiometer CDM3 con una célula constante de 0.968 cm^{-1}. El conductivímetro se calibró con dos disoluciones de conductividad estándar de KCl (0.0100 M, con k=1413 μS cm^{-1} a 25 ºC, y 0.100 M, con k=11.28 mS cm^{-1} a 25 ºC) suministradas por Crison. La temperatura se mantuvo constante (±0.1 ºC) pasando agua termostatizada a través del vaso con camisa que contenía la disolución.

Tensión superficial. La tensión superficial se midió mediante el método del plato de Wilhelmy utilizando un tensiómetro Krüss K-11 a 25º C. Se ha utilizado una placa comercial de platino suministrada por Krüss. Los valores presentados son el promedio de 10 medidas registradas en intervalos de 30 segundos, comprobándose que la tensión superficial se mantiene constante con el tiempo.

Fluorescencia. Los espectros de fluorescencia se adquirieron utilizando un fluorímetro Cary Eclipse, a una longitud de onda de excitación de 334 y 343 nm para el pireno y el Prodan, respectivamente. En los experimentos de *quenching*, la concentración de pireno se mantuvo constante (0.4 μM) y, para las concentraciones específicas de **SC6HM** y de **C_{12}TAB**, la concentración de cetilpiridinio se varió en un bajo rango de concentraciones que asegurase que la concentración de *quencher* fuese siempre menos del 5 % de la concentración de surfactante. La relación definida por el cociente de intensidad (I_0) en ausencia de *quencher* (Q) y la intensidad (I) en presencia de *quencher* viene dada por la ecuación (7.1):[59,60]

$$ln\frac{I_0}{I} = \frac{[Q]}{[M]} \qquad (7.1)$$

en donde $[M]$ es la concentración micelar. Considerando esta expresión, la concentración de micelas puede obtenerse directamente por la pendiente del logaritmo de la relación de intensidades frente a la concentración de *quencher*.

7.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.3.1 TENSIÓN SUPERFICIAL

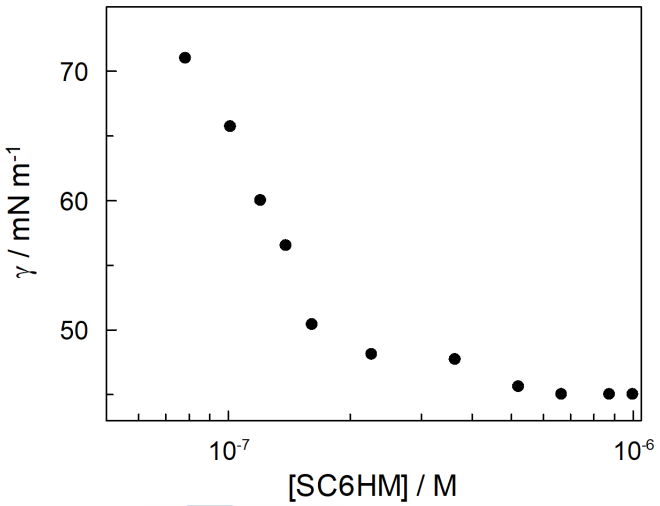


Figura 7.1. Tensión superficial de equilibrio del **C_{12}TAB** (1×10^{-4} M) representada frente a la concentración de **SC6HM**.

La Figura 7.1 muestra la tensión superficial de equilibrio aire-agua de una muestra de concentración constante de **C_{12}TAB** (1×10^{-4} M) frente a la concentración de **SC6HM**. Por debajo de 10^{-7} M de **SC6HM**, la tensión superficial del **C_{12}TAB** a una concentración de 1×10^{-4} M es similar a la que puede medirse en agua pura (72 mN m^{-1}), sin embargo, ésta decrece sustancialmente para mayores concentraciones de calixareno hasta alcanzar una zona plana con sólo aproximadamente 2×10^{-7} M de **SC6HM**, lo que supone una muestra de la poderosa capacidad de este macrociclo para promover la adsorción del **C_{12}TAB** en la interfase aire-agua.

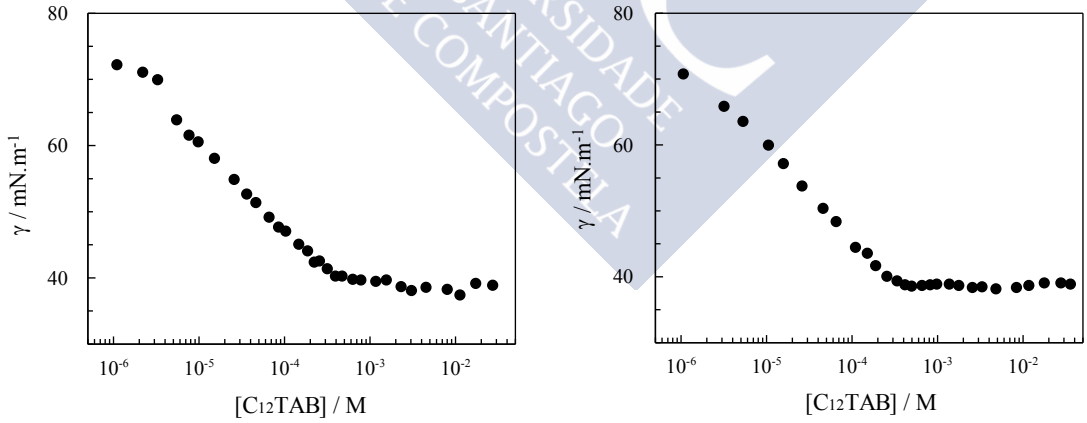


Figura 7.2. Tensión superficial de equilibrio medida medida frente a la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de [SC6HM]=5×10^{-7} M (izquierda) y [SC6HM]=1×10^{-6} M (derecha).

Experimentos complementarios a los presentados en la Figura 7.1 muestran que en presencia de bajas concentraciones de **SC6HM**, la tensión superficial del **C_{12}TAB** se estabiliza en una concentración alrededor de 3-4×10^{-4} M (Figura 7.2 y apéndice 7.5.2), que son valores comparables a los de la CMC1 (2×10^{-4} M) obtenida para mayores concentraciones de **SC6HM**. Si estas observaciones representan el comienzo de la formación de micelas, esto es, la CMC1, pueden realizarse dos importantes afirmaciones: (1) la CMC del sistema supraanfifiico **C_{12}TAB/SC6HM** es independiente de la

concentración de macrociclo en un amplio rango de concentraciones y (2) la concentración crítica para la formación de micelas puede observarse bien por encima de la neutralización de cargas, esto es, en el régimen no cooperativo. Debido a que en este régimen de concentraciones la mayoría de surfactante añadido por encima de la CMC1 no miceliza, produciendo un aumento de la concentración de **C_{12}TAB** libre, la concentración de agregados micelares debe de ser muy baja. Cabe destacar que este comportamiento es contrario al asumido para sistemas convencionales, en donde por encima de la CMC la concentración de surfactante libre puede asumirse como constante e igual a su concentración crítica, es decir, por encima de esta concentración todo el surfactante añadido conduce a un incremento en el número o el tamaño de los agregados.

En el apéndice 7.5.2 se muestra la gráfica que representa la tensión superficial frente a la concentración de **C_{12}TAB** en ausencia y en presencia de **SC6HM** (0.1 y 0.5 mM). Cabe comentar que las disoluciones utilizadas permanecieron claras bajo las condiciones experimentales y en ningún momento se observó la formación de precipitados, incluso a concentraciones a las cuales las cargas del **C_{12}TAB** neutralizan a las del **SC6HM**. Como se puede observar, en ausencia de **SC6HM**, la CMC del **C_{12}TAB** es de aproximadamente 14 mM, un valor compatible con los reportados con anterioridad,[56] mientras que en presencia tanto de 0.1 como de 0.5 mM de **SC6HM**, el comienzo de la meseta en la tensión superficial se desplaza hasta el valor aproximado de 0.16 mM, el cual se identifica como la CAC para la formación de micelas mixtas y está también en concordancia con los valores reportados previamente para la presencia de 5 mM de **SC6HM** (0.2 mM).[36] Es importante destacar que la CAC parece estar fuertemente afectada por la presencia de calixareno, situación usualmente observada en mezclas de polímeros neutros y surfactantes iónicos que interactúan débilmente.[31]

7.3.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Para complementar los resultados obtenidos por las medidas de tensión superficial, se realizaron medidas de conductividad eléctrica (k) en condiciones experimentales similares. En ausencia de **SC6HM** se obtuvo un valor de CMC igual a 13 mM para el **C_{12}TAB**, el cual es razonablemente consistente con el obtenido por las medidas de tensión superficial (ver apéndice 7.5.3).

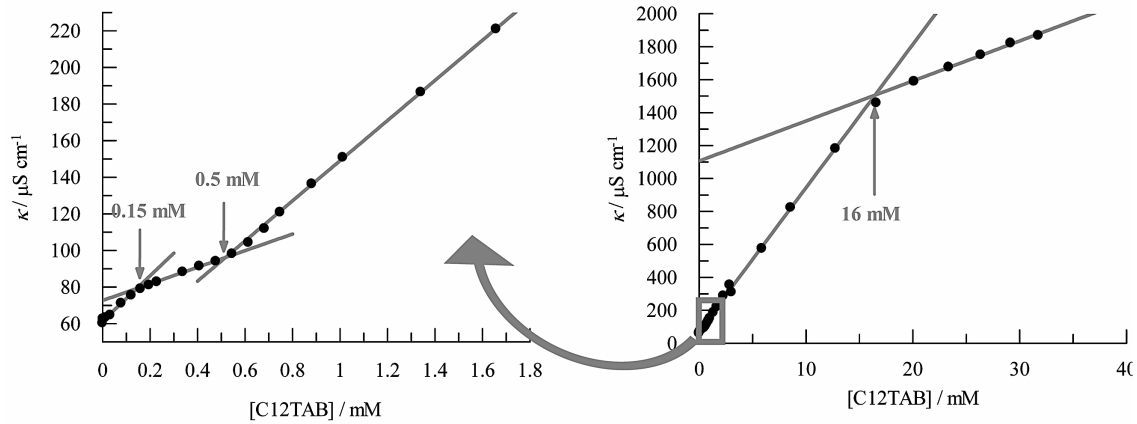


Figura 7.3. Gráficas de la conductividad (k) frente a la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de 0.1 mM de **SC6HM**. T=25 ºC. Izquierda: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 1.8 mM de **C_{12}TAB**. Derecha: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 35 mM. El error de los datos es inferior al 1 %.

En presencia de 0.1 mM (Figura 7.3) y 0.5 mM de **SC6HM** (apéndice 7.5.3), se observaron dos puntos de intersección adicionales en las representaciones de *k* frente a la concentración de **C_{12}TAB**. El primer punto puede observarse a 0.15 y 0.17 mM de **C_{12}TAB** en presencia de 0.1 y 0.5 mM de **SC6HM**, respectivamente, y puede atribuirse a la CAC (que además coinciden con los obtenidos por las medidas de tensión superficial). El segundo punto se observa a 0.5 y 2.1 mM de **C_{12}TAB** cuando la concentración de **SC6HM** en la disolución es de 0.1 y 0.5 mM, respectivamente. De los mismos puede decirse que tienen lugar ligeramente por debajo de los puntos de neutralización de carga y a partir de los mismos tiene lugar un incremento de la pendiente de *k* frente a la concentración de **C_{12}TAB**, contrariamente a lo esperado, pues la intersección de puntos asociados con los procesos de agregación está usualmente seguida por un descenso en la pendiente de *k* frente a la concentración de surfactante. Para mayores concentraciones de **C_{12}TAB**, se observó un tercer punto de intersección a 16 y 17 mM de **C_{12}TAB** para 0.1 y 0.5 mM de **SC6HM**, respectivamente. Así, todos estos datos combinados parecen indicar que, para concentraciones por encima del segundo punto de intersección, la adición de **C_{12}TAB** al sistema resulta en un sustancial incremento de iones libres en disolución. Además, este proceso parecer estar seguido por un segundo proceso de agregación (tercera intersección) cuando la concentración de **C_{12}TAB** libre alcanza el valor que se corresponde con la CMC del surfactante puro.

7.3.3 DIFUSIOMETRÍA DE RMN (DOSY)

En un esfuerzo por obtener un entendimiento más profundo del comportamiento observado, se realizaron experimentos de espectroscopía de RMN (PGSE) que fueron escogidos con la intención de medir los coeficientes de difusión. Cuando se realiza bajo las condiciones adecuadas, esta técnica puede resultar muy útil y proporcionar información directa acerca de los fenómenos de agregación que ocurren en disolución.[61] Previamente ya se había estudiado la influencia de la concentración de **C_{12}TAB** en el coeficiente de difusión observado (D_{obs}) tanto en ausencia como en presencia de **SC6HM** (5 mM). Los resultados de este estudio mostraron que el surfactante y el calixareno forman un complejo *host-guest* 1:1 por debajo de la CAC y, por encima de este punto, se forman unos agregados micelares estructurados.[36]

Así, en este trabajo se repitió el mismo experimento en presencia de 0.1 y 0.5 mM de **SC6HM**. Como puede observarse en la Figura 7.4, la forma de la gráfica obtenida en presencia de 0.1 mM de **SC6HM** es sustancialmente diferente a la observada cuando el experimento se realizó en presencia de 5 mM de **SC6HM**.[36] El D_{obs} para el **C_{12}TAB** empieza a caer a aproximadamente una concentración de 0.2 mM, valor que nuevamente coincide con el inicio de la formación de agregados micelares mixtos. Si la concentración de surfactante sigue aumentando, el D_{obs} pasa a través de un valor mínimo y posteriormente vuelve a aumentar hasta alcanzar aproximadamente el valor observado para el surfactante libre. Al sobrepasar este punto, el D_{obs} nuevamente vuelve a caer con una tendencia muy similar a la observada en ausencia de **SC6HM**.

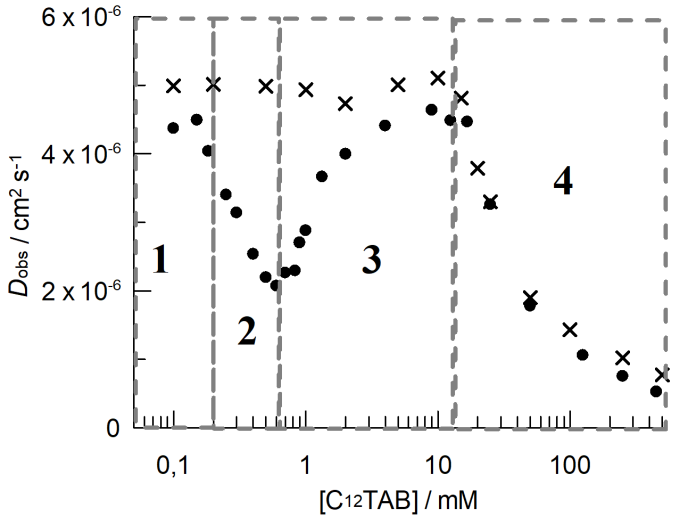


Figura 7.4. Variación del coeficiente de difusión observado (D_{obs}) en función de la concentración del **C_{12}TAB** en ausencia (cruces) y en presencia de 0.1 mM de **SC6HM** (puntos). T=25 ºC. Los datos representados como cruces se tomaron de la bibliografía.[36] El error asociado a los datos de difusión es inferior al 5 %.

Dado que los valores de D_{obs} para el **C12TAB** vienen dados por la suma de la fracción molar (χ) de todos los estados adoptados por el surfactante, esto es, libre (f), complejado (c) y micelizado (M), el D_{obs} vendrá dado por la ecuación (7.2):

$$D_{obs} = \chi_f D_f + \chi_c D_c + \chi_M D_M \qquad (7.2)$$

Considerando los tres posibles estados del **C_{12}TAB**, los resultados que se muestran en la Figura 7.4 pueden dividirse en cuatro regiones principales: 1) A concentraciones por debajo de la CAC, el **C_{12}TAB** existe tanto en la forma libre como en la complejada. Debido a que el complejo difunde más lentamente que el **C_{12}TAB** libre, el D_{obs} en este rango de concentraciones es menor que el obtenido en ausencia de **SC6HM**. 2) Por encima de la CAC, el surfactante se agrega junto con el calixareno para formar micelas mixtas y el D_{obs} cae considerablemente, sugiriendo así que virtualmente todo el surfactante que se añade a la disolución se dirige a participar en la formación de agregados. Esto parece ser cierto en la región comprendida entre la CAC y el mínimo observado en la gráfica mostrada en la Figura 7.4. Debe notarse que el primer mínimo en las gráficas de los D_{obs} tiene lugar cerca del punto de neutralización de carga. Los resultados más interesantes en la Figura 7.4 son los correspondientes a concentraciones por encima del mínimo. 3) Como puede observarse, después de ese punto mínimo, el D_{obs} aumenta significativamente hasta valores cercanos a los del **C_{12}TAB** libre y 4) luego cae otra vez hasta los valores obtenidos en ausencia de **SC6HM**. Estos resultados parecen demostrar que después de ese primer mínimo, la adición de **C_{12}TAB** al medio resulta en un incremento en la concentración de monómeros libres en disolución. Además, el D_{obs} cae nuevamente cuando la concentración de monómeros libres es aproximadamente equivalente a la CMC del **C_{12}TAB** puro (tercer punto de inflexión), lo que sugiere la existencia de una segunda concentración de agregación crítica independiente (CAC2).

Cuando el **SC6HM** está presente en disolución a una concentración de 0.1 mM, su coeficiente de difusión no pudo determinarse con precisión mediante espectroscopía de RMN (PGSE) por la baja concentración que restringe la aplicación de la técnica. Sin embargo, cuando se usó una concentración de 0.5 mM de **SC6HM** sí logró determinarse (Figura 7.5). Los resultados muestran que el D_{obs} del calixareno comienza a disminuir a concentraciones por encima de la CAC, indicando que esta especie forma parte de los

agregados. Por otro lado, puede verse claramente que el D_{obs} para el **SC6HM** disminuye más suavemente que el del **C12TAB** y se alcanza un mínimo a una concentración aproximada de 5 mM. La menor pendiente observada para el **SC6HM** parece indicar que la relación **C12TAB/SC6HM** en las micelas es mucho mayor que uno. En otras palabras, se requiere de varias moléculas de C12TAB para asociar una molécula de **SC6HM** a los agregados. Por encima del mínimo (≈2 mM) observado para el D_{obs} del **C12TAB** puede asumirse que la mayoría del **SC6HM** está formando parte de los agregados. Así, después de este punto, la variación observada del D_{obs} con la adición de surfactante puede asumirse debido a la variación de la morfología de los agregados, de la viscosidad de la disolución, o a una combinación de ambos fenómenos.

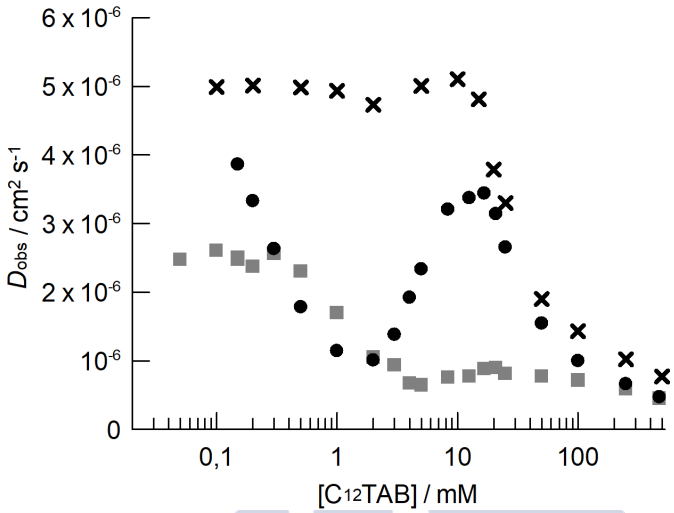


Figura 7.5. Variación de coeficiente de difusión observado (D_{obs}) para el **SC6HM** (cuadrados) y para el **C12TAB** (círculos) en función de la concentración de **C12TAB** en presencia de una concentración constante de **SC6HM** (0.5 mM). Por motivos comparativos se muestra también el D_{obs} del **C12TAB** en ausencia de **SC6HM** (cruces), los cuales fueron tomados de la bibliografía.[36] El error asociado con los datos de difusión es inferior al 5 %.

Si se realizan algunas aproximaciones, los datos de difusión pueden usarse conjunto a la ecuación (7.2) para estimar la concentración de surfactante libre y micelizado. Dado que la concentración de surfactante micelizado ha sido determinada, la relación **C12TAB/SC6HM** en las micelas se calculó para concentraciones por encima del punto de neutralización de cargas, teniendo en cuenta que bajo estas condiciones todas las moléculas de calixareno forman parte de las micelas (ver apéndice 7.5.4).

Como puede observarse, los resultados son muy informativos (ver apéndice 7.5.4.1 y 7.5.4.2). En el rango comprendido entre la neutralización de cargas y la CAC2, la concentración de surfactante libre aumenta considerablemente, mientras que la concentración de **C12TAB** micelizado permanece prácticamente constante en cuanto aumenta la concentración de surfactante total. Esto sugiere que después de que todas las moléculas de **SC6HM** hayan micelizado, la adición de surfactante al sistema resulta principalmente en un incremento de los monómeros libres. Por otro lado, en el mismo rango de concentraciones, la relación **C12TAB/SC6HM** (ver apéndice 7.5.4.3) varía bruscamente entre aproximadamente 3 y 6, sugiriendo que bajo estas condiciones los agregados micelas formados se caracterizan por poseer un alto contenido de **SC6HM**, que parece ser variable. Si esta estimación es correcta, implica que la concentración de **C12TAB** micelizado no permanece estrictamente constante, pues una fracción muy pequeña está siendo incorporada a las micelas. Finalmente, por encima de la CAC2, la relación **C12TAB** micelizado/**SC6HM** aumenta exponencialmente como cabría esperar.

7.3.4 NÚMEROS DE AGREGACIÓN

Los experimentos de desactivación de la fluorescencia pueden ser utilizados para calcular números de agregación micelares (*N*).[59,60] Se sabe que la concentración de surfactante libre se necesita para obtener *N*, y es frecuentemente asumido que su concentración es casi igual a la CMC. Sin embargo, aunque esto puede ser cierto para sistemas de surfactantes puros, en sistemas más complejos la situación puede ser completamente diferente, tal y como se demuestra en este trabajo. En cualquier caso, la concentración de micelas puede obtenerse directamente a partir de experimentos de *quenching* de la fluorescencia.

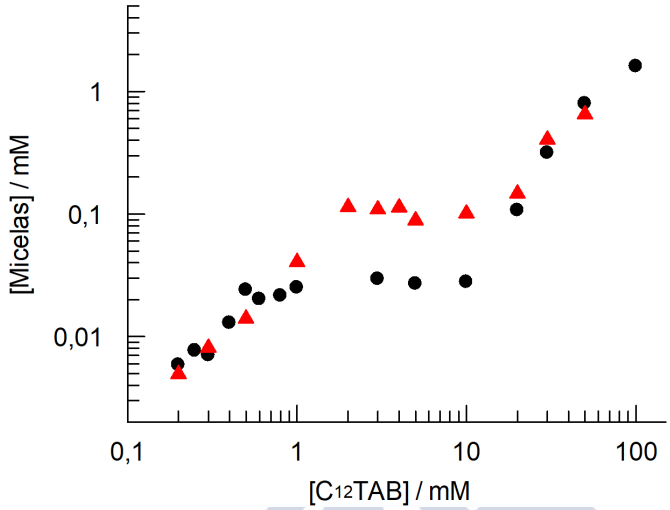


Figura 7.6. Gráfica de la concentración de micelas frente a la concentración total de surfactante. [SC6HM]= 0.1 mM (círculos) y [SC6HM]= 0.5 mM (triángulos). T= 25 ºC.

En este estudio, se obtuvo la concentración de micelas usando pireno como sonda fluorescente y cetilpiridinio como inhibidor (Figura 7.6). La tendencia observada está de acuerdo con las obtenidas por otras técnicas: la concentración de micelas aumenta hasta el punto en el cual la concentración de **C12TAB** está ligeramente por debajo del punto de neutralización de cargas (≈0.5 mM y ≈2 mM en los casos de **SC6HM** en 0.1 y 0.5 mM, respectivamente) para luego alcanzar una zona plana en la que la concentración de micelas permanece constante. Como es de esperar, cuando la concentración de **C_{12}TAB** alcanza la CAC2, la concentración de micelas aumenta de nuevo.

Como puede observarse, en el intervalo entre el punto de neutralización de cargas y la CAC2, tanto la concentración de micelas como la concentración de surfactante micelizado aumenta con la concentración de **SC6HM** y es prácticamente independiente de la concentración de **C_{12}TAB**. De esta forma, los resultados sugieren que en este rango la concentración de agregados puede ser controlada por la adición de calixareno.

Los números de agregación pueden calcularse combinando la concentración de surfactante micelizado estimada a partir de los datos de difusión y la concentración de micelas determinada por los experimentos de *quenching* de la fluorescencia. Los resultados (Figura 7.7) parecen mostrar que los números de agregación permanecen aproximadamente constante (sobre 20±5) a bajas concentraciones de **C_{12}TAB** y empiezan a aumentar gradualmente por debajo de la CAC2 después de alcanzar valores sobre 60, el cual está bien por encima de la CAC2, pero es similar a los obtenidos en ausencia de **SC6HM**.[62] Estos resultados indican que las micelas disuelven una pequeña fracción del **C_{12}TAB** añadido a la disolución. Además, esta situación es consistente con los resultados

obtenidos de la relación **C_{12}TAB/SC6HM** y contribuyen al cambio de estructura/tamaño de las micelas (Tabla 7.1).

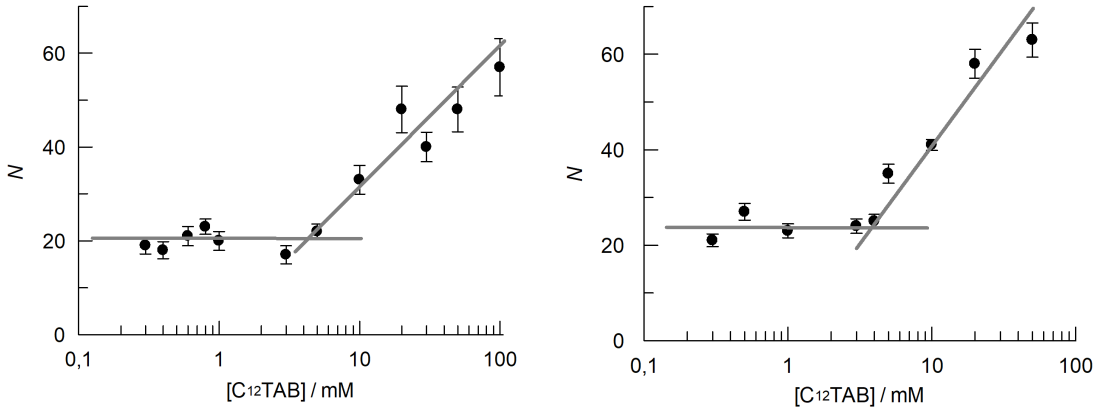
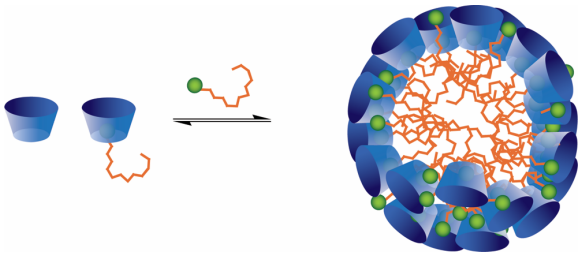
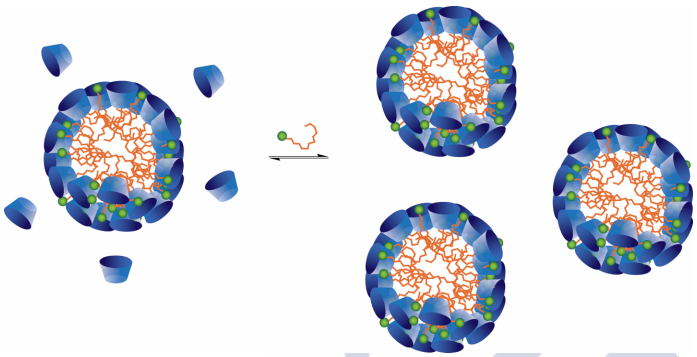
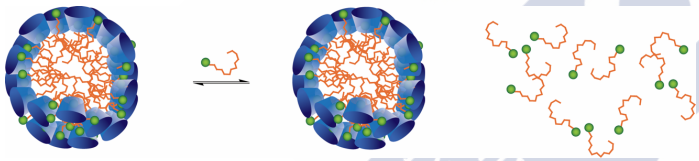
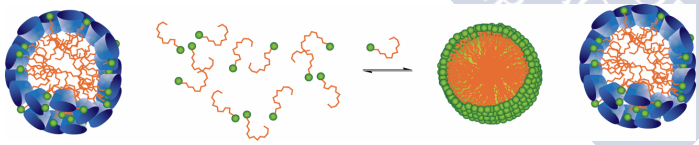
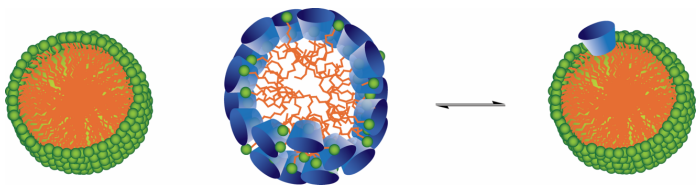


Figura 7.7. Números de agregación micelar (*N*) representados frente a la concentración total de surfactante. Los valores se calcularon a partir de la ecuación $N=[C_{12}TAB]_{micelizado}/[M]$. La concentración de micelas ([*M*]) se obtuvo de los experimentos de *quenching* de la fluorescencia y la concentración de surfactante micelizado ($[C_{12}TAB]_{micelizado}$) se estimó a partir de los experimentos de difusión (ver apéndice). Dado que estos valores últimos se estimaron de acuerdo a diferentes aproximaciones (ver apéndice), se obtuvieron también diferentes valores de *N*. Así, se representa la media de estos valores junto con su desviación estándar. Izquierda: [SC6HM]= 0.1 mM. Derecha: [SC6HM]= 0.5 mM. T= 25 ºC. Las líneas se introducen simplemente a efectos visuales.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 7.1. Representación esquemática de la evolución de los agregados con la concentración de surfactante en los sistemas mixtos **SC6HM-C_{12}TAB**. Cabe destacar que el **SC6HM** es altamente flexible y no adopta necesariamente la conformación "cono".[63,64] Se representa en la misma sólo por motivos ilustrativos.

	El **SC6HM** induce la formación de agregados micelares mixtos a concentraciones bien por debajo de la CMC del **C_{12}TAB** puro.
	En tanto que el **SC6HM** existe en estado monomérico, la adición de **C_{12}TAB** a la disolución produce un aumento en la concentración de micelas.
	Después de que todo el **SC6HM** haya sido transferido a la fase micelar, la adición de **C_{12}TAB** resulta en un incremento de la concentración de monómeros de surfactante libre.
	Cuando la concentración de monómeros de surfactante libre alcanza la CMC del surfactante puro, éstos se agregan de manera independiente para formar micelas puras.
	Finalmente, las micelas mixtas y las puras reaccionan rápidamente para redistribuir las moléculas de **SC6HM**.

7.3.5 ESPECTROSCOPÍA ^{1}H RMN

Las variaciones del desplazamiento químico (δ_{obs}) para los átomos de hidrógeno aromáticos (ArH) del **SC6HM** se muestran en la Figura 7.8. Debe notarse que los valores de δ_{obs} empiezan a disminuir a concentraciones superiores a la CAC o, más específicamente, a aproximadamente 0.2, 0.3 y 1.5 mM en presencia de 0.1, 0.5 y 5 mM (estos datos no se muestran) de **SC6HM** (en todos los experimentos la CAC es igual a 0.2 mM). Este fenómeno es consistente con el hecho de que ciertas moléculas de **C_{12}TAB** necesitan transferir una molécula de calixareno a las micelas, indicando que, incluso cuando el **SC6HM** está presente en exceso, los agregados están formados por complejos 1:*n* con *n*>1. Esta observación está apoyada por la relación de **C_{12}TAB** micelizado/**SC6HM** determinada con anterioridad.

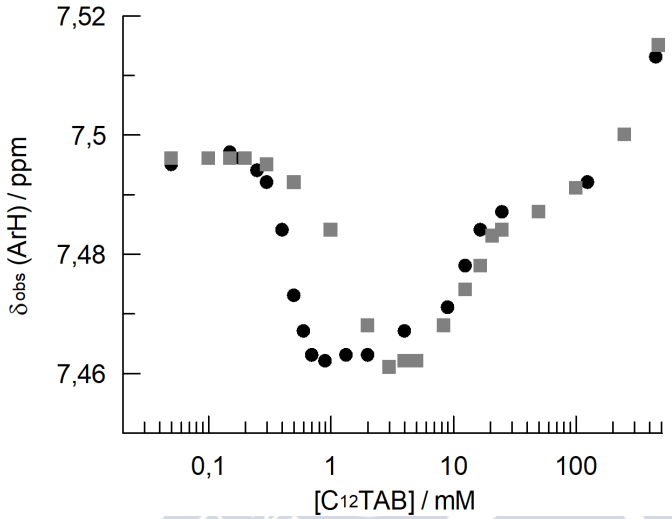


Figura 7.8. Variación de los desplazamientos químicos espectroscópicos ^{1}H RMN (δ_{obs}) para los protones aromáticos del **SC6HM** en función de la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de 0.1 mM (círculos) y de 0.5 mM (cuadrados) de **SC6HM**. T= 25 ºC. El error asociado con los datos de δ_{obs} es menor al 1 %.

Luego de la inicial caída en los datos de δ_{obs}, se observa un valor mínimo a concentraciones cercanas al punto de neutralización de cargas y a partir de este punto tiene lugar un nuevo incremento del δ_{obs} y una nueva discontinuidad, compatible con una segunda CAC2. Si el mínimo es interpretado como la región en la cual todas las moléculas de **SC6HM** forman parte de los agregados (conclusión apoyada por los datos de difusión), debería esperarse que los valores de δ_{obs} permaneciesen constantes entre este punto y la CAC2. Sin embargo, como puede observarse, los valores de δ_{obs} aumentan claramente, sugiriendo que, aunque una fracción considerable del **C_{12}TAB** añadido permanece libre en disolución, los agregados están absorbiendo una pequeña fracción de surfactante, la cual genera cambios en la composición de los agregados y afecta a los δ_{obs} obtenidos para el **SC6HM**.

7.3.6 FLUORESCENCIA

Las intensidades relativas de la primera y tercera bandas vibrónicas (relación I_1/I_3) en el espectro de emisión del pireno puede usarse como medida de la micropolaridad de los agregados micelares y así identificar su CMC. Este método tiene la ventaja de detectar la presencia de agregados micelares a muy bajas concentraciones en las cuales otras técnicas, como la conductividad o la difusiometría, pueden fallar.

La Figura 7.9-izquierda muestra la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de **SC6HM** en presencia de una cantidad constante e igual a 2×10^{-4} M de **C_{12}TAB**. Como puede observarse, para concentraciones de calixareno mayores que aproximadamente 10^{-7} M, la relación I_1/I_3 empieza a disminuir, indicando la presencia de agregados micelares apolares que disuelven al pireno. Estos resultados están en concordancia con los obtenido por tensión superficial (Figura 7.1), mostrando que, además de la saturación de la interfase aire-agua, los agregados micelares se forman a una concentración muy baja de calixareno.

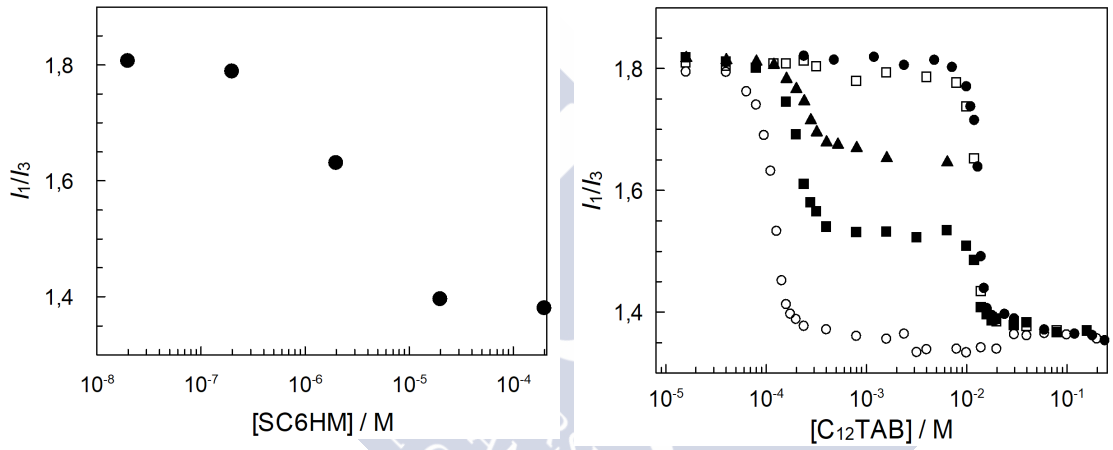


Figura 7.9. Relación I_1/I_3 del espectro de emisión del pireno representada frente a (izquierda) la concentración de **SC6HM** para una concentración constante de **C_{12}TAB** (2×10^{-4} M) y frente a (derecha) la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de diferentes concentraciones de **SC6HM**: 0 M (círculos negros), 2×10^{-7} M (cuadrados blancos), 1×10^{-6} M (triángulos), 2×10^{-6} M (cuadrados negros) y 5×10^{-4} M (círculos blancos).

La Figura 7.9-derecha muestra los experimentos complementarios a los de la Figura 7.2. En este caso, la concentración de **SC6HM** se mantuvo constante y se investigó la influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en la relación de intensidades I_1/I_3. Como puede observarse, la CMC1 (en este caso tomada como el punto donde I_1/I_3 alcanza la meseta después de la primera caída) parece mostrarse independiente de la concentración de **SC6HM**, situándose entre 2×10^{-4} M y 4×10^{-4} M. A altas concentraciones de **C_{12}TAB** puede observarse una segunda CMC2 y los valores de I_1/I_3 coinciden con los observados en ausencia de **SC6HM**, sugiriendo la formación de micelas mixtas que contienen una menor fracción de calixareno y con propiedades similares a las observadas para los agregados de **C_{12}TAB** puro, tal y como se mostró anteriormente y en otros trabajos.[36]

La parte más interesante de los datos mostrados en la Figura 7.9-derecha es la que se corresponde con el rango de concentraciones comprendido entre la CMC1 y la CMC2. Como puede observarse, conforme aumenta la concentración de **SC6HM**, disminuyen los valores I_1/I_3 correspondiente a la zona plana (los cuales son constantes para este rango de concentraciones de **C_{12}TAB**). Este suceso sólo puede interpretarse de dos formas: por un lado, la polaridad de las micelas disminuye a medida que la concentración de

calixareno aumenta, mientras que la otra explicación es que para bajas concentraciones de **SC6HM** se forma una pequeña concentración de micelas insuficiente para encapsular todo el pireno presente en el medio (0.4 μM). Si esto es cierto, la pequeña concentración de agregados no debe de variar significativamente en este amplio rango de concentraciones de **C_{12}TAB**, de acuerdo a los experimentos previos que muestran un gran incremento en la concentración de surfactante libre entre las dos CMC´s.

Además de la relación I_1/I_3 obtenida a partir de los espectros de emisión de fluorescencia del pireno, la emisión del excímero, que muestra un máximo alrededor de los 500 nm, también puede utilizarse para testar la agregación de surfactantes. La Figura 7.10 muestra las variaciones observadas en la intensidad de emisión relativa del excímero (I_e/I_1, donde I_1 se corresponde con la intensidad de emisión de la primera banda vibrónica del monómero) en función de la concentración de **C_{12}TAB**, en ausencia y en presencia de **SC6HM**. En ausencia de calixareno, el cociente I_e/I_1 muestra un marcado aumento cerca de la CMC seguido por un acentuado descenso cuando continúa aumentando la concentración de **C_{12}TAB**. Este comportamiento puede interpretarse fácilmente como el comienzo de la formación de micelas. Justo antes de la CMC, la concentración de micelas es baja, de tal forma que los agregados son ocupados por más de una molécula de pireno. El incremento de la concentración local de sonda facilita la formación de excímeros, lo que provoca un aumento en la intensidad de emisión de estas especies. No obstante, cuando la concentración de micelas aumenta, las moléculas de sonda se redistribuyen entre los agregados y la probabilidad de encontrar más de una molécula de pireno por micela disminuye, provocando la desaparición de la emisión del excímero. Un comportamiento similar se observa en presencia de 5×10^{-4} M de **SC6HM**, pero, en este caso, la emisión del excímero aparece y desaparece a concentraciones de **C_{12}TAB** inferiores debido a la agregación inducida por el calixareno.

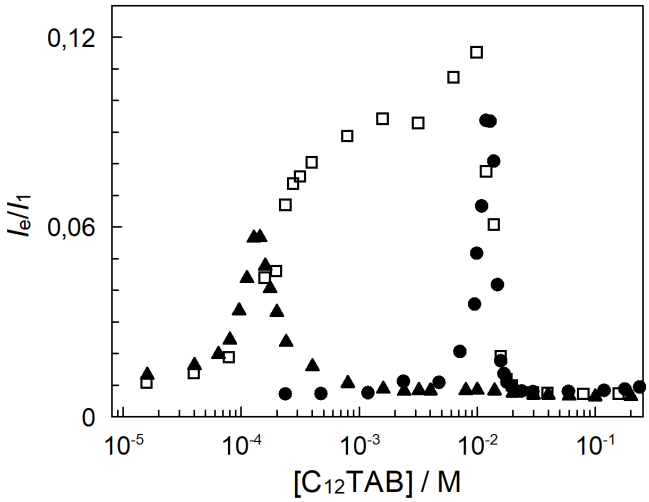


Figura 7.10. Relación I_e/I_1 del espectro de emisión del pireno representados frente a la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de diferentes concentraciones de **SC6HM**: 0 M (círculos), 2×10^{-6} M (cuadrados) y 5×10^{-4} M (triángulos).

Para 2×10^{-6} M de **SC6HM**, la emisión del excímero también empieza a observarse para una concentración de surfactante de aproximadamente 1×10^{-4} M, pero en este caso el fenómeno no va seguido por un fuerte descenso conforme la concentración de **C_{12}TAB** aumenta, sino que la emisión del excímero aumenta gradualmente desde aproximadamente 1×10^{-4} M hasta 1×10^{-2} M de **C_{12}TAB**, apoyando la hipótesis de la existencia de una baja concentración de micelas durante este amplio rango de concentraciones. Cabe destacar que, para una concentración de **C_{12}TAB** igual a 4×10^{-3} M, tiene lugar un segundo incremento en la emisión del excímero en concordancia con el

comienzo de la agregación de los monómeros de **C_{12}TAB** libres, alcanzando el máximo en la CMC2, que coincide con la CMC del surfactante puro, y luego tiene lugar un repentino descenso de la emisión del excímero debido a la redistribución de la sonda, como se mencionó anteriormente.

Muchos estudios emplean sondas moleculares con características fluorescentes que reflejan el microentorno de agregados de surfactantes, de tal forma que la incorporación de dichas sondas en micelas acuosas revela eficientemente parámetros como la CMC.

Atributos como los valores de la intensidad de fluorescencia, la longitud de onda máxima de excitación y emisión, el tiempo de vida de la fluorescencia o la polarización son potenciales indicadores característicos de los alrededores de la sonda. La mayoría de las sondas se eligen por su particular afinidad hacia una o dos de las regiones principales de la micela: el núcleo hidrocarbonado formado por las colas de los surfactantes, la interfase compuesta principalmente por los grupos de cabeza de los anfífilos y los alrededores de la fase del disolvente acuoso.

El Prodan es una sonda con potenciales ventajas adicionales para la caracterización de micelas. La N,N-Dimetil-6-propionil-2-naftilamina o Prodan es una sonda fluorescente ampliamente utilizada en el estudio de sistemas coloidales, tales como micelas y microemulsiones, debido a su diferente comportamiento según cual sea el medio en el que se encuentra, mostrando grandes cambios tanto en el espectro de absorción como en el de emisión.[65-74] Se trata de una sonda hidrofóbica que puede emplearse tanto en disolventes polares como apolares, con capacidad para formar enlaces de hidrógeno y que emite una intensa banda de fluorescencia que se desplaza hacia mayores longitudes de onda conforme aumenta la polaridad del microentorno.[75-79] Por ejemplo, los rangos de emisión del máximo de fluorescencia van desde los 400 nm en disolventes apolares como el ciclohexano hasta los 530 nm en disoluciones acuosas. Otra ventaja del Prodan es la ausencia de carga permanente, lo que elimina complicaciones de posibles interacciones iónicas. Vistos los resultados obtenidos con el pireno, se decidió testar el comportamiento de otra sonda, en presencia de las micelas mixtas **SC6HM**:**C_{12}TAB**.

En la Figura 7.11-Izquierda se muestran los espectros de fluorescencia de muestras de concentración constante de Prodan (1×10^{-6} M) a las cuales se le fueron añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **C_{12}TAB**. Como puede observarse, el aumento de la concentración de surfactante altera significativamente el espectro de emisión de fluorescencia de la sonda. Por un lado, es destacable el desplazamiento de la longitud de onda máxima de emisión a partir de cierta concentración de **C_{12}TAB**, relacionado con la localización de la sonda en un microambiente con distinta polaridad y, por otro lado, también puede percibirse un notable aumento de la intensidad de fluorescencia, consecuencia de un incremento de la concentración local del fluoróforo en la micela. En la Figura 7.11-Derecha se muestra representada la longitud de onda máxima de emisión de fluoresencia (λ_{max}) del Prodan en función de la concentración de **C_{12}TAB**. Como puede observarse, a bajas concentraciones de surfactante la λ_{max} coincide aproximadamente con la obtenida en agua pura, situada en torno a los 522 nm. A partir de una concentración de aproximadamente 15 mM de **C_{12}TAB** se produce un brusco descenso en el valor de la λ_{max}, consecuencia de la localización de la sonda molecular en la interfase apolar de los agregados formados. El valor de dicha concentración se corresponde con la CMC y coincide con los obtenidos por las otras técnicas. Finalmente, aun añadiendo más surfactante, el valor de la λ_{max} se estabiliza y se mantiene constante, indicando que el equilibrio entre la sonda fluorescente en agua y el medio micelar se encuentra desplazada a favor de este último.

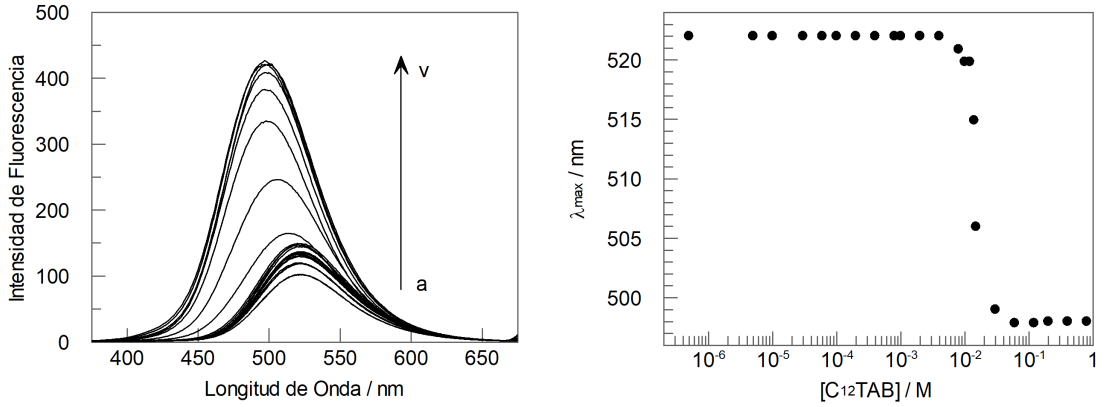


Figura 7.11. Izquierda: Espectros de fluorescencia del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de mayores cantidades de C12TAB (desde a= 5×10^{-7} M hasta v =8×10^{-1} M). λ_{exc}= 343 nm. Derecha: Influencia de la concentración de C12TAB en la longitud de onda máxima de emisión de fluorescencia en disolución acuosa a 25 ºC.

La Figura 7.12 muestra los espectros de emisión de fluorescencia del Prodan en función de la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de una cantidad constante de **SC6HM** (5×10^{-4} M). Tal y como se muestra, el comportamiento observado es el esperable para la formación de agregados coloidales con una variación del desplazamiento en la longitud de onda de emisión máxima y un aumento de la intensidad de la señal, consecuencias de la encapsulación de la sonda fluorescente en los agregados micelares. A efectos visuales también se muestran representados los espectros seleccionados en los diferentes intervalos de concentración de surfactante empleada con el objetivo de obtener una mejor visualización de la destacable variación tanto del desplazamiento de la longitud de onda máxima como de la intensidad de fluorescencia.

Los resultados son aun más interesantes que los obtenidos en los experimentos análogos utilizando pireno como molécula sonda. En la Figura 7.13 se muestra como varía la longitud de onda máxima de emisión de fluorescencia del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de 5×10^{-4} M de **SC6HM**. Como puede observarse, a bajas concentraciones de surfactante, la λ_{max} coincide con el valor obtenido en ausencia de calixareno que a su vez coincide con el obtenido para la sonda libre en medio acuoso, aproximadamente 522 nm. A partir de una concentración de **C_{12}TAB** de aproximadamente 2×10^{-4} M, el valor de la λ_{max} comienza a disminuir como consecuencia de la formación de los agregados, que hacen que la sonda se sitúe preferiblemente en la interfase de los mismos. Dicho punto puede asignarse como la CMC1 y está en concordancia con la obtenida con anterioridad por otras metodologías.

El fuerte descenso continúa hasta una concentración de **C_{12}TAB** de aproximadamente 3 ó 4 mM, valor que coincide con el punto de neutralización de cargas en el cual se obtuvo una longitud de onda máxima de aproximadamente 475 nm. De dicha caída puede destacarse que posee dos pendientes diferentes, seguramente como consecuencia tanto del descenso de la polaridad como de la modificación de la estructura de las micelas supramoleculares que tienen lugar a medida que se añade el **C_{12}TAB** al medio. Al sobrepasar este mínimo tiene lugar un nuevo aumento de la λ_{max} que continua hasta alcanzar el valor obtenido en ausencia de calixareno y el cual puede identificarse como la CMC2, a partir de la cual el valor se estabiliza y coincide con los obtenidos para las micelas simples de surfactante puro.

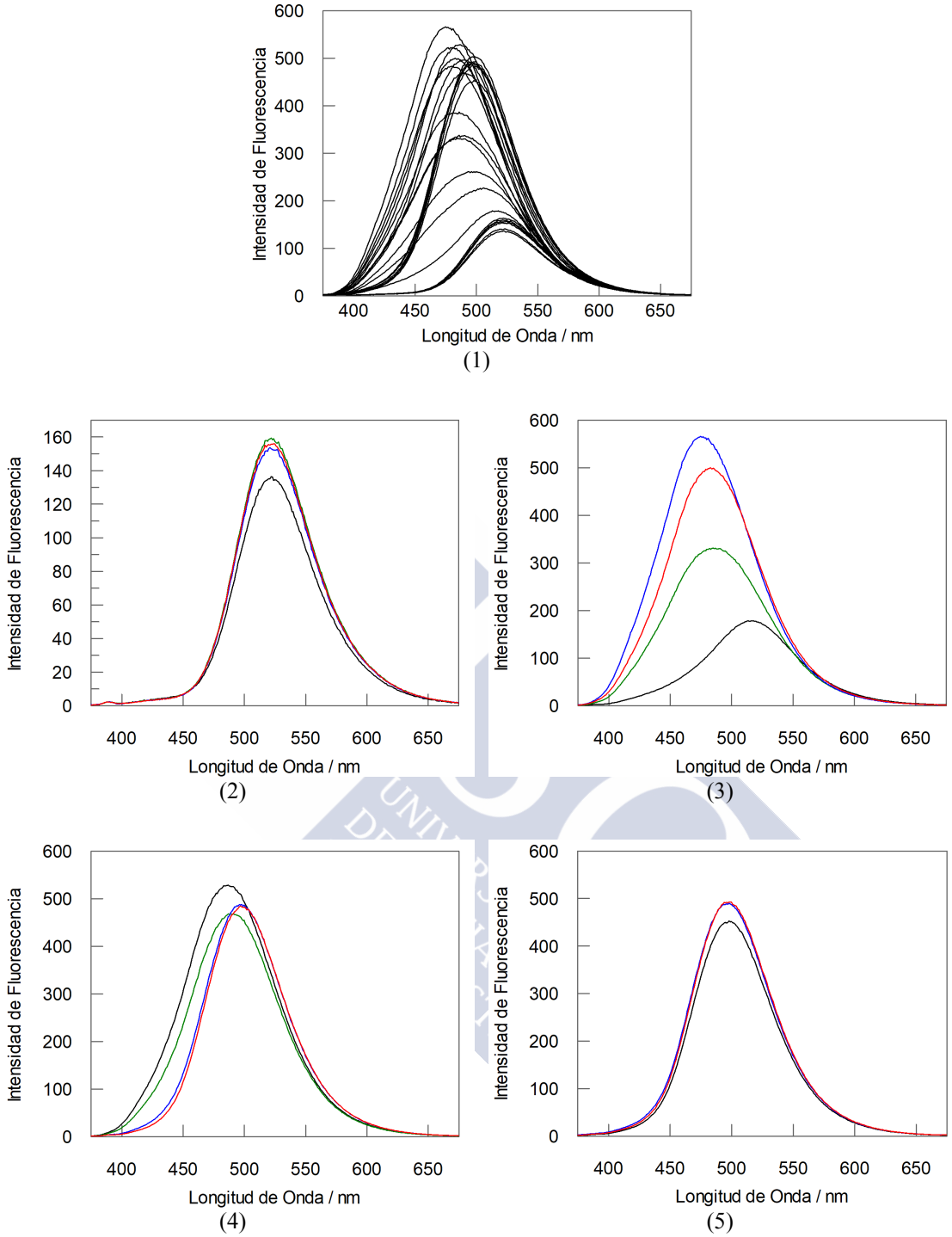


Figura 7.12. Espectros de fluorescencia del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de **SC6HM** (5×10^{-4} M) con mayores cantidades de **C_{12}TAB**. λ_{exc}= 343 nm. (1): desde 5×10^{-7} M hasta 8×10^{-1} M. (2) Espectros seleccionados con concentración de **C_{12}TAB**: 5×10^{-7} M (negro), 5×10^{-6} M (verde), 1×10^{-5} M (azul) y 3×10^{-5} M (rojo). (3) Espectros seleccionados con concentración de **C_{12}TAB**: 2×10^{-4} M (negro), 8×10^{-4} M (verde), 4×10^{-3} M (azul) y 1×10^{-2} M (rojo). (4) Espectros seleccionados con concentración de **C_{12}TAB**: 1.2×10^{-2} M (negro), 1.5×10^{-2} M (verde), 3×10^{-2} M (azul) y 6×10^{-2} M (rojo) (5) Espectros seleccionados con concentración de **C_{12}TAB**: 2×10^{-1} M (negro), 4×10^{-1} M (rojo) y 8×10^{-1} M (azul).

La parte más interesante de los datos mostrados en la Figura 7.13 es la situada en el rango de concentraciones de surfactante entre la CMC1 y la CMC2. En una reciente colaboración del grupo,[80] se estudió la carga de las micelas supramoleculares compuestas por el **SC6HM** y el **C_{12}TAB** a través de medidas de electroforesis. Parte de los resultados

obtenidos se muestran en la Figura 7.14. Como puede observarse, el análisis de la movilidad electroforética en función de la concentración de **C_{12}TAB** muestra marcadamente la existencia de 3 puntos críticos. El primero de ellos, localizado alrededor de 0.2 mM de surfactante, indica el comienzo de la incorporación de las moléculas de **C_{12}TAB** al calixareno y se identifica como la CMC1, en la cual predominan las especies aniónicas. Al sobrepasar este punto, la movilidad electroforética aumenta, cruzando el valor de la movilidad electroforética nula alrededor de 3 mM de **C_{12}TAB**, el cual se corresponde con una relación 6:1 de moléculas de surfactante por molécula de calixareno, en concordancia con los resultados obtenidos por RMN. Una vez que la concentración de surfactante supera el valor de 3 mM, los agregados mixtos **C_{12}TAB-SC6HM** pasan a estar cargados positivamente. De nuevo, estos valores son consistentes con los obtenidos en el análisis de los experimentos de conductividad. Por último, el tercer punto de inflexión, situado a una concentración de **C_{12}TAB** de 18 mM, puede atribuirse a la CMC2 del surfactante libre. De esta forma, el experimento electroforético sirve como una evidencia directa de la transformación de micelas aniónicas en catiónicas en el sistema estudiado.

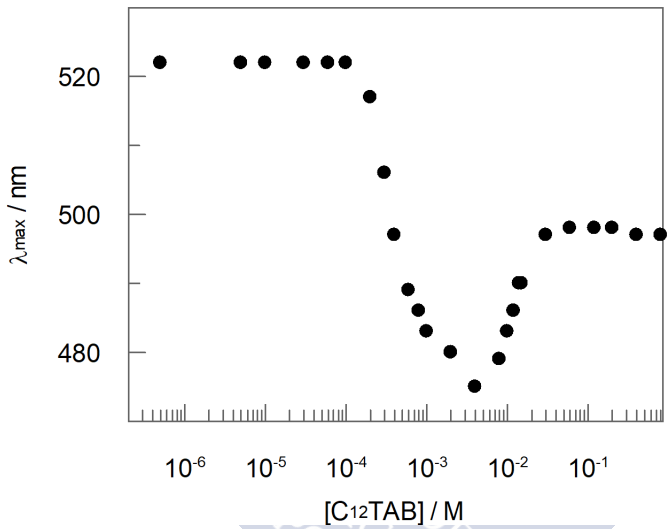


Figura 7.13. Influencia de la concentración de C12TAB en la longitud de onda máxima de emisión de fluorescencia del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de 5×10^{-4} M de **SC6HM** en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}= 343 nm.

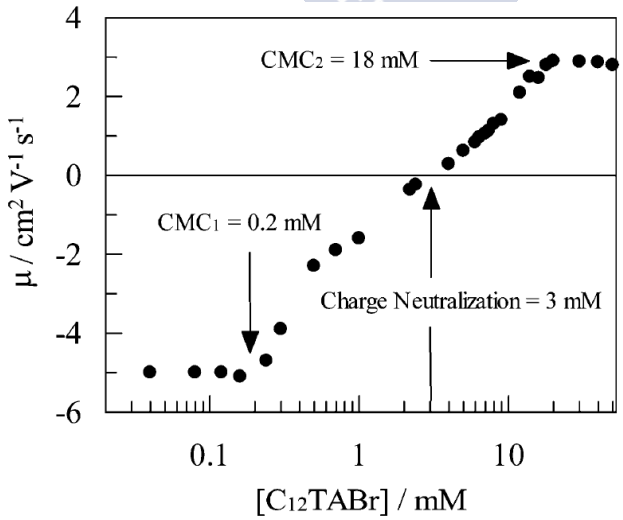


Figura 7.14. Movilidad electroforética del **C_{12}TAB** en presencia de 0.5 mM de **SC6HM**. Reprinted with permission from Ref. 80.

Volviendo a la Figura 7.13 y analizando el rango de concentraciones comprendido entre la CMC1 y la CMC2 cabe comentar varios aspectos. Los resultados obtenidos indican que las micelas supramoleculares suponen un medio mucho más apolar para el Prodan que las micelas de **C_{12}TAB** puro. Como puede observarse, la diferencia de polaridad entre las micelas supramoleculares y las formadas por el surfactante puro llega a ser tan grande como la que existe entre el agua pura y las micelas de surfactante catiónico convencional. En un principio tenemos agregados micelares aniónicos y, a medida que se incorpora **C_{12}TAB**, las micelas mixtas se van convirtiendo en una estructura micelar cada vez más compacta que alcanza su empaquetamiento máximo en el punto de neutralización de cargas, en el cual se produce un ambiente muy apolar que coincide con el punto mínimo de los datos obtenidos. Una vez se continúa añadiendo más **C_{12}TAB** al medio, el surfactante que se incorpora a las micelas supramoleculares irá poco a poco descompactando la estructura formada y dando lugar a unas micelas catiónicas con muy bajo contenido de calixareno y similares a las formadas por el surfactante puro.

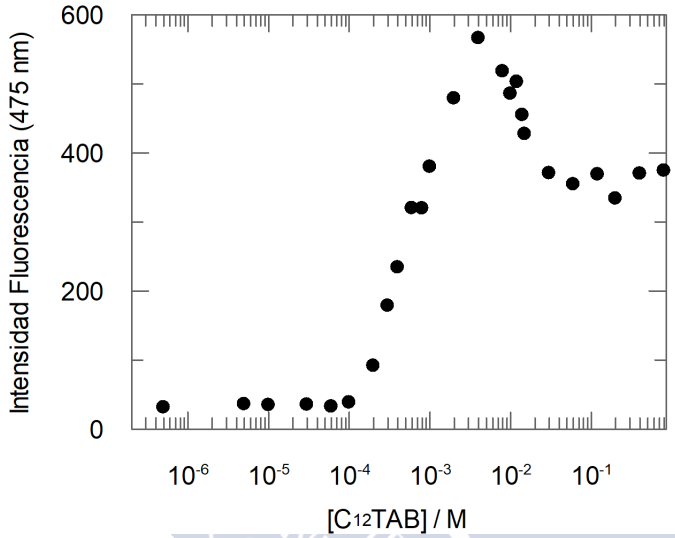


Figura 7.15. Influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en la intensidad de fluorescencia (a 475 nm) del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de 5×10^{-4} M de **SC6HM** en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}= 343 nm.

La interpretación de los resultados es muy similar analizando la intensidad de fluorescencia de la sonda (Figura 7.15) en lugar de la longitud de onda máxima de emisión. Tal y como se muestra, la intensidad de fluorescencia del Prodan es prácticamente la misma que en agua hasta que comienzan a formarse los agregados (CMC1= 2×10^{-4} M). A partir de ese punto, la intensidad comienza a aumentar bruscamente como consecuencia de la mayor concentración de sonda en las micelas supramoleculares, alcanzando un valor máximo cercano al punto de neutralización de cargas ($3\text{-}4\times10^{-3}$ M). El posterior aumento de la concentración de surfactante produce la disminución de la intensidad de fluorescencia como consecuencia de la localización del Prodan en un tipo de agregados con una estructura menos compacta hasta alcanzar la CMC2 (entre 10 y 20 mM), a partir de la cual se forman los agregados de surfactante puro y el valor de la intensidad de fluorescencia se estabiliza.

La Figura 7.16 muestra la influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en la longitud de onda del máximo de emisión de fluorescencia del Prodan (círculos negros) comparada con los resultados de otros experimentos análogos en los que se añadieron diferentes cantidades de calixareno. Cuando se añade una cantidad constante de **SC6HM** al medio existen dos aspectos destacables. En primer lugar, que para todas las concentraciones de calixareno, la agregación del surfactante supramolecular se produce a una concentración

de **C_{12}TAB** de aproximadamente 2×10^{-4} M (resultado compatible con los obtenidos por las otras técnicas), lo que supone una disminución de unas 50 veces con respecto a la CMC del surfactante catiónico convencional y confirma la gran capacidad de los sulfonatocalixarenos para inducir la agregación de surfactantes convencionales. El segundo aspecto, más sorprendente, es que para bajas concentraciones de calixareno el resultado obtenido con el Prodan es muy similar al que se obtiene utilizando pireno como molécula sonda, mientras que, para altas concentraciones de **SC6HM**, la longitud de onda del máximo desciende hasta casi los 470 nm, indicando que el interior de las micelas mixtas es mucho más apolar que el de las micelas de surfactante convencional puro, seguramente como resultado de una estructura micelar mucho más compacta en el caso de las micelas mixtas. Por otro lado, a altas concentraciones de **C_{12}TAB** los valores de λ_{max} vuelven a coincidir aproximadamente con los observados en ausencia de **SC6HM**, sugiriendo así la formación de micelas mixtas con una menor fracción de calixareno y con propiedades similares a las observadas para los agregados de **C_{12}TAB** puro.

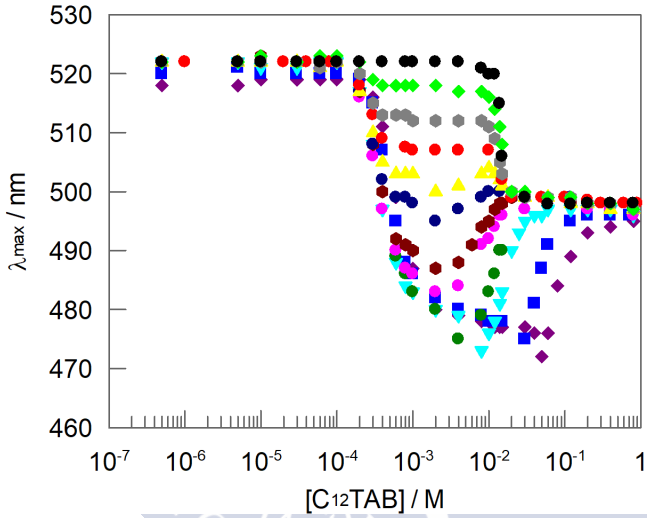


Figura 7.16. Influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en la longitud de onda del máximo de emisión de fluorescencia del Prodan (1×10^{-6} M) en presencia de mayores cantidades de **SC6HM**: 0 M (negro), 1×10^{-5} M (lima), 2×10^{-5} M (gris), 3×10^{-5} M (rojo), 4×10^{-5} M (amarillo), 5×10^{-5} M (azul marino), 7.5×10^{-5} M (granate), 1×10^{-4} M (fucsia), 5×10^{-4} M (verde), 1×10^{-3} M (cian), 5×10^{-3} M (azul) y 1×10^{-2} M (morado).

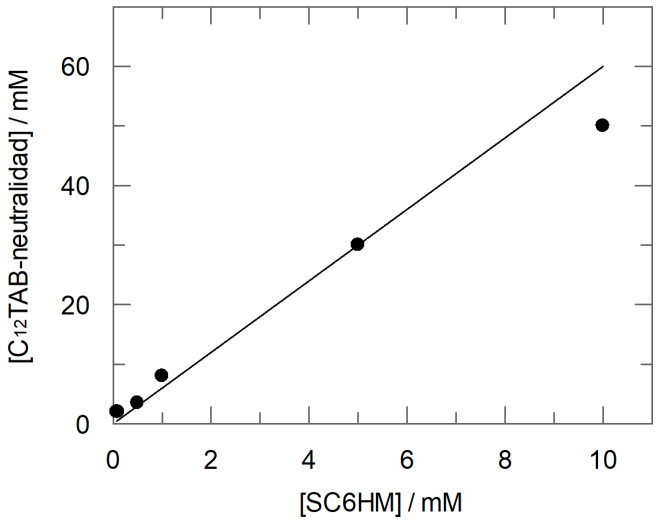


Figura 7.17. Puntos mínimos de los experimentos realizados con el Prodan. La línea negra representa los puntos de neutralidad de cargas teóricos.

El otro aspecto a destacar de los resultados mostrados en la Figura 7.16 tiene que ver con el mínimo que puede observarse en los experimentos realizados con altas concentraciones de calixareno. Cuando el experimento se realiza con una concentración superior a 4×10^{-5} M de **SC6HM** en el medio, entre la CMC1 y la CMC2 puede observarse un valor de λ_{max} mínimo que interesantemente coincide con la neutralidad de cargas de los agregados, tomada en el punto en el cual la relación [surfactante]/[calixareno] es igual a 6, que es el valor esperado teóricamente como punto de neutralización de un efecto óptimo de complejación. La Figura 7.17 muestra la relación entre la neutralidad de cargas terórica y los puntos mínimos encontrados en los experimentos de fluorescencia del Prodan. Cabe comentar que para bajas concentraciones de calixareno este punto no se encuentra ya que coincide en zonas de la CMC1 o previas a la misma. Como puede observarse, los puntos experimentales coinciden en gran medida con los teóricos.

7.4 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten obtener ciertas conclusiones cualitativas. Por encima de la CAC, la adición de surfactante al medio da lugar a la formación de agregados micelares mixtos y, mientras que cualquier fracción de **SC6HM** permanezca libre (o como un complejo *host-guest* 1:1), la adición de más **C_{12}TAB** resulta principalmente en un aumento de la concentración de surfactante micelizado.

Una vez que todo el **SC6HM** monomérico ha sido consumido, el aumento en la concentración de **C_{12}TAB** tiene dos efectos principales. En primer lugar, una pequeña fracción del **C_{12}TAB** añadido se asocia a las micelas aniónicas cambiando así la composición micelar. Sorprendentemente, en este rango de concentraciones, la gran mayoría del **C_{12}TAB** añadido permanece libre en disolución. Así, cuanto más surfactante se añade a la disolución, una pequeña fracción es solubilizada en la fase micelar, lo que demuestra que la capacidad de carga de las micelas es significativamente limitada y la concentración de surfactante libre aumenta hasta alcanzar el valor de la CMC para el **C_{12}TAB** puro. Por encima de esta concentración, se empiezan a formar micelas puras de manera independiente que reaccionan rápidamente con las micelas mixtas para dar lugar a micelas mixtas con bajo contenido de **SC6HM**. Finalmente, cuando la concentración de **C_{12}TAB** está en un gran exceso (y por encima de la CMC), las micelas mixtas tienen un contenido tan bajo de calixareno que sus propiedades son similares a la de las micelas constituidas por **C_{12}TAB** puro.

También se investigó la influencia de la concentración del **SC6HM** en la micelización del **C_{12}TAB** a través de medidas de tensión superficial y utilizando pireno y Prodan como sondas fluorescentes. Los resultados muestran que la agregación inducida de este surfactante catiónico tiene lugar incluso cuando el **SC6HM** está presente en concentraciones por debajo del rango de micromolar. La CMC1 del sistema mixto muestra una escasa dependencia de la concentración de calixareno, mientras que la concentración de los agregados micelares mixtos sí depende altamente de este parámetro. Así, los resultados de este estudio muestran que en el rango de concentraciones comprendido entre la CMC1 y la CMC del surfactante puro, la concentración de micelas puede ser finamente modulada mediante el control de la concentración de calixareno. Además, los resultados obtenidos con el Prodan muestran que la polaridad de las micelas mixtas es muy inferior a la que poseen los agregados de surfactante convencional puro.

7.5 APÉNDICE

7.5.1 Síntesis y Caracterización del SC6HM

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible, y usados sin purificaciones posteriores, a excepción del **C_{12}TAB**, que se recristalizó hasta seis veces a partir de acetona.

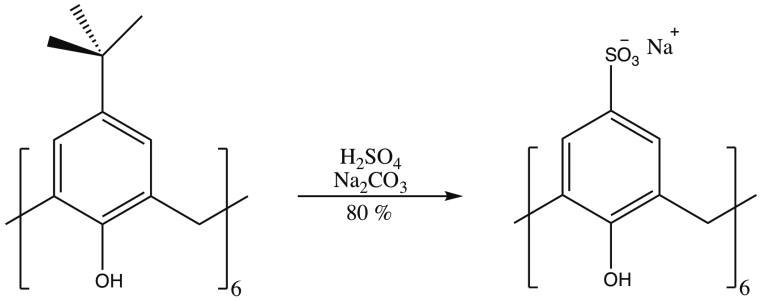
Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolvente deuterado (D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente, D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el *software* MestReNova (MestReLab Research Inc.).

Los espectros de masas, MALDI-TOF de alta resolución se realizaron en un espectrómetro Bruker Autoflex con analizador lineal.

La técnica de espectrometría de masas se llevó a cabo en el Centro de Apoyo Científico y Tecnológico de la Universidad de Santiago de Compostela (CACTUS).

Para la síntesis del **SC6HM** se siguió una versión modificada del método descrito por el grupo de Seiji Shinkai.[81]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



1 2

Sobre 150 mL de H_2SO_4 se añadió **1** (20 g, 20.55 mmol). La mezcla se agitó a 80 ºC durante 4 horas. Para cerciorarse de que la reacción había finalizado, se comprobó que una alícuota de la mezcla se disolvía en agua. Una vez enfriada a temperatura ambiente, la mezcla se filtró en placa. El sólido resultante se disolvió en metanol y se precipitó de nuevo con acetato de etilo. Una vez filtrado, el sólido seco (la forma ácida del SC6) se disolvió en agua (pH≈2-3) para la posterior neutralización mediante adiciones de pequeñas cantidades de Na_2CO_3 (hasta pH≈7-8). Posteriormente a la disolución se le añadió carbón activo, se filtró a través de celita y se evaporó a sequedad para volver a precipitar el producto con metanol. Después del filtrado, la sal de sodio del calixareno se recristalizó 3 veces en una mezcla metanol-agua para obtener **2** (20.54 g, 16.44 mmol) como un sólido blanco en un rendimiento del 80 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 7.50 (s, 12H); 3.98 (s, 12H).

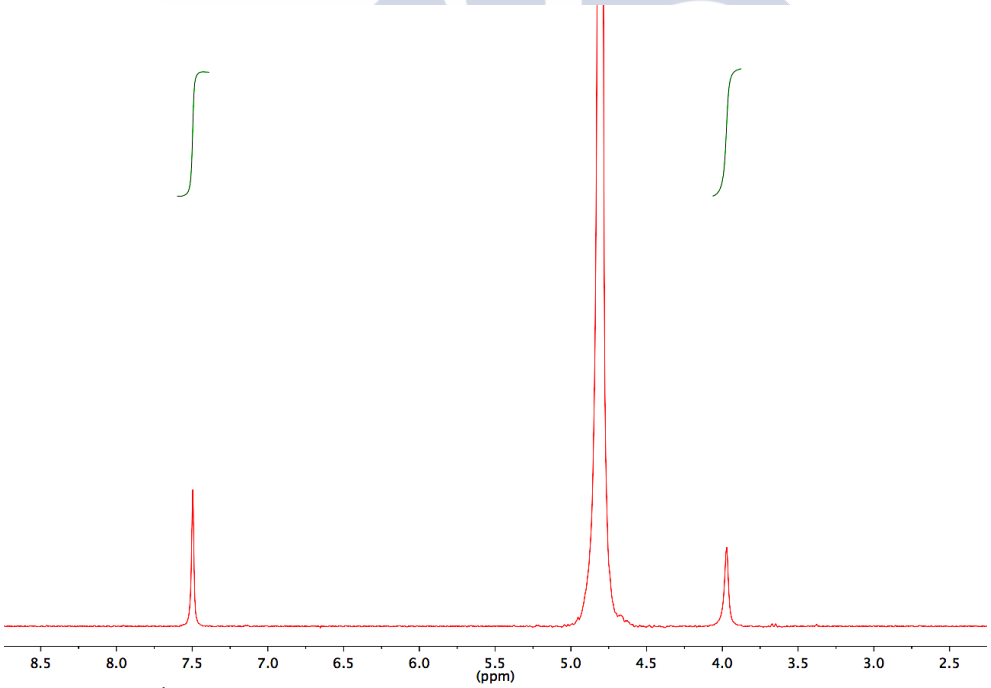
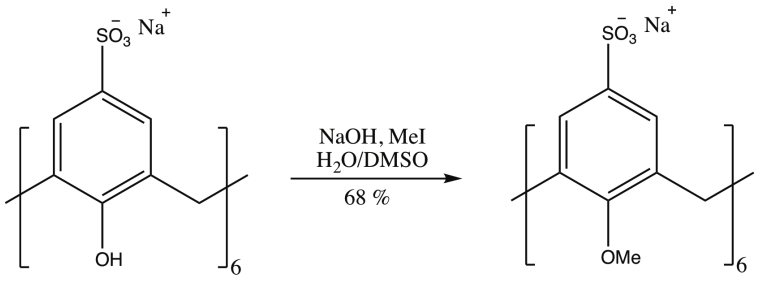


Figura A.7.1. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **2**.



2 SC6HM

En 45 mL de agua se preparó una mezcla de 2 (7.3 g, 5.85 mmol) y NaOH (7.11 g, 177.8 mmol). Posteriormente, bajo agitación, sobre la mezcla se añadió, gota a gota, una disolución de MeI (25.54 g, 179.9 mmol) en 180 mL de DMSO. La mezcla resultante se agitó a 50 ºC. La reacción se monitorizó por ^{1}H RMN, añadiendo NaOH (1 g, 25 mmol) y la cantidad equivalente de MeI (3.55 g, 25 mmol) cada 24 horas hasta la completa metilación. Una vez enfriada a temperatura ambiente, el producto se precipitó con etanol. El filtrado se recogió por filtración, se disolvió en agua y se precipitó de nuevo con etanol. La operación se repitió tres veces para obtener el SC6HM (5.30 g, 3.97mmol) como un sólido blanco en un 68 % de rendimiento.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 7.48 (s, 12H); 4.08 (s, 12H); 3.34 (s, 18H).

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M+Na^+] 1355.1 (calculado 1355.0).

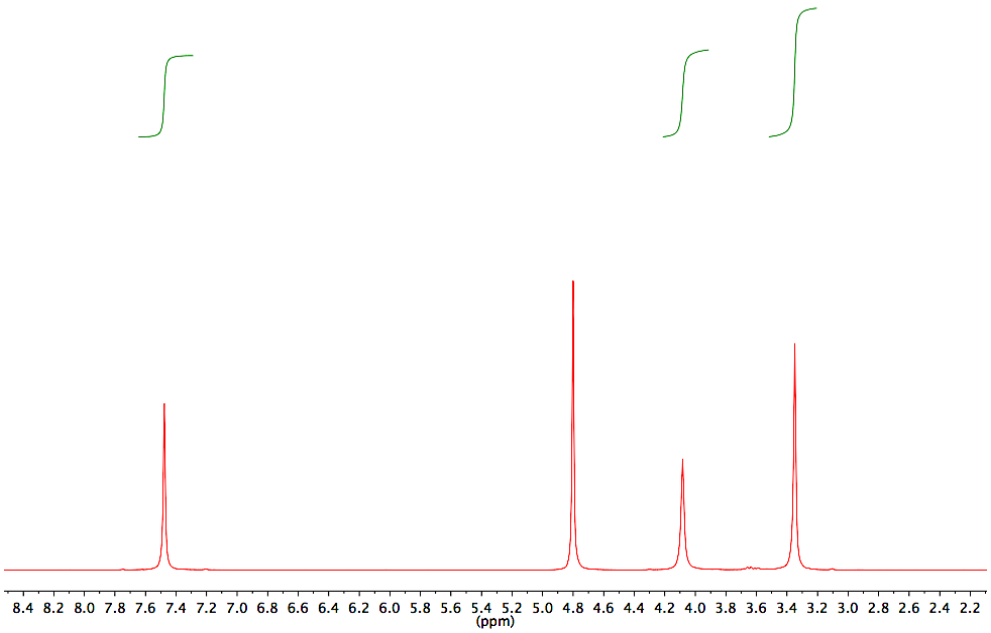


Figura A.7.2. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el **SC6HM**.

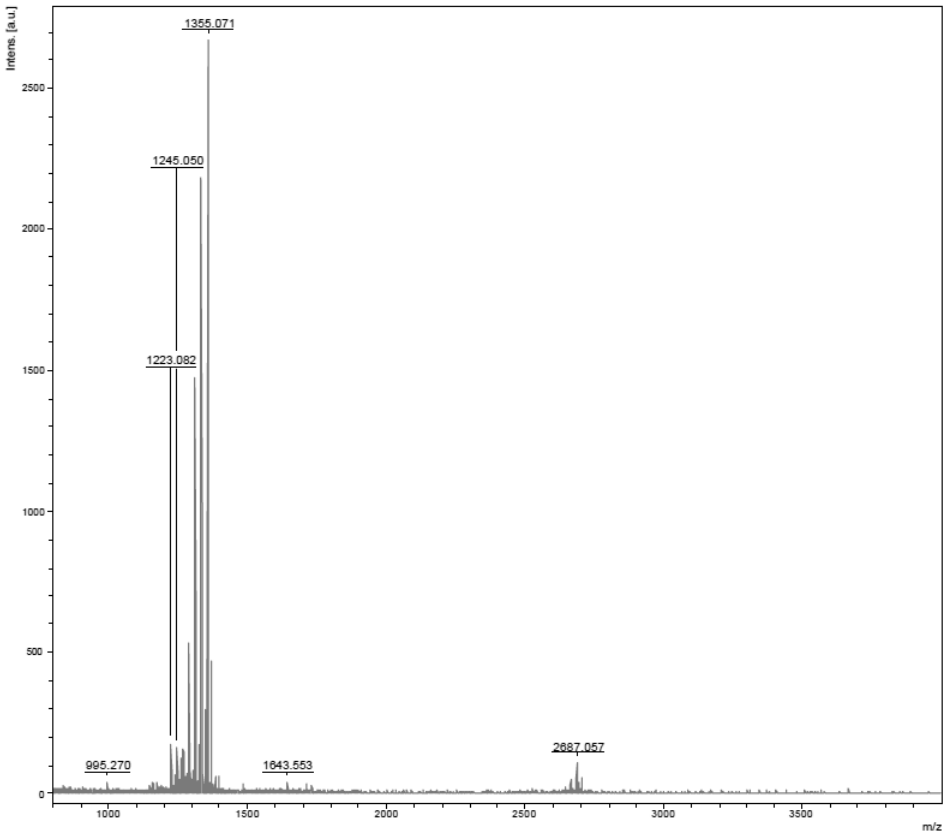


Figura A.7.3. Espectro MALDI-TOF obtenido para el **SC6HM**.

7.5.2 Influencia de la concentración de C_{12}TAB sobre la tensión superficial, en presencia y ausencia de SC6HM

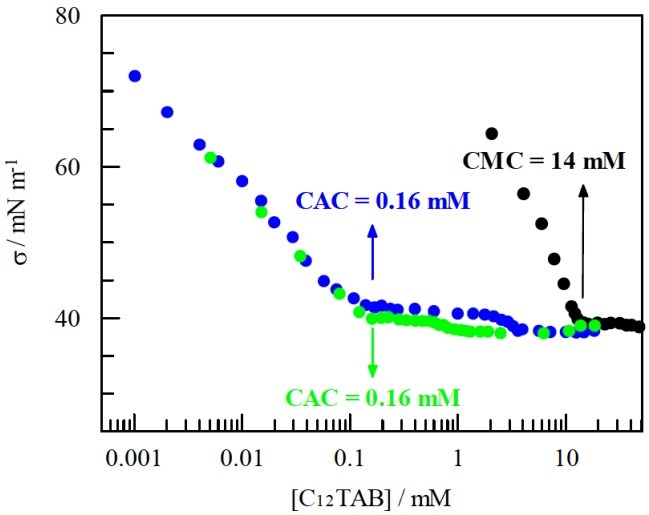


Figura A.7.4. Tensión superficial (σ) representada frente a la concentración de **C_{12}TAB** en ausencia (negro) y en presencia de 0.1 mM (lima) y 0.5 mM (azul) de **SC6HM**. T=25 ºC. El error de los datos es siempre menor que 1 mN m^{-1}.

7.5.3 Influencia de la concentración del C12TAB sobre la conductividad eléctrica, en presencia y ausencia de SC6HM

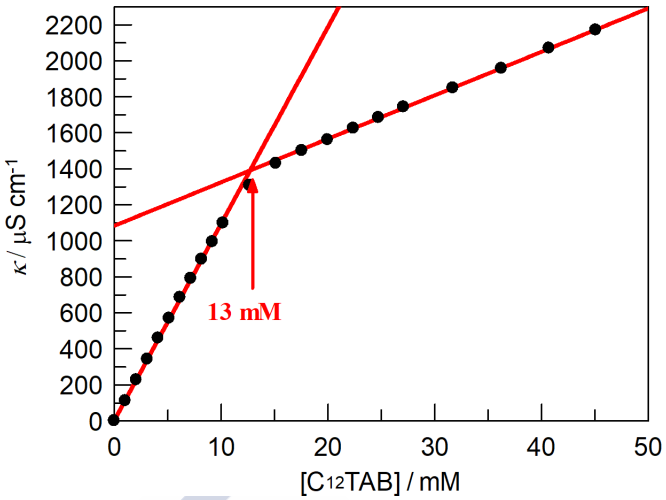


Figura A.7.5. Conductividad (*k*) del C12TAB en función de su concentración. T=25 ºC. El error de los datos es inferior al 1%.

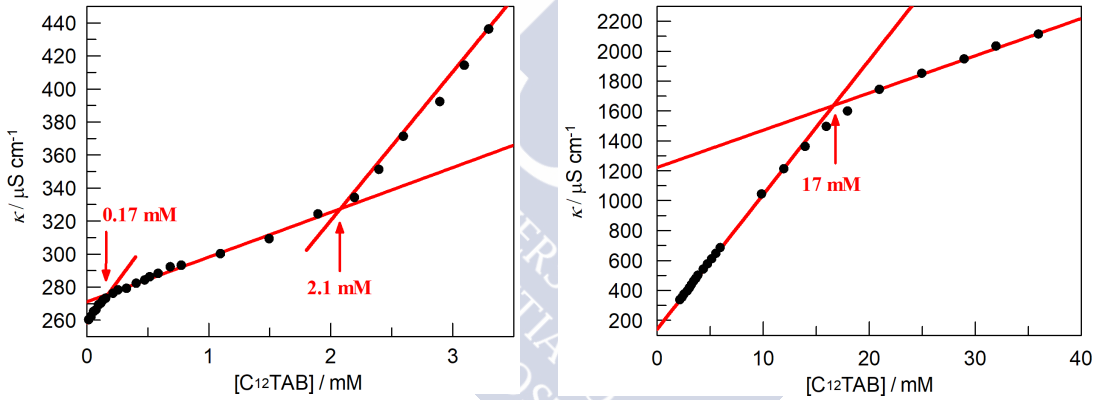


Figura A.7.6. Conductividad (*k*) representada frente a la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de 0.5 mM de **SC6HM**. T=25 ºC. Izquierda: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 3.5 mM de **C_{12}TAB**. Derecha: Datos conductimétricos obtenidos entre 2 y 40 mM de **C_{12}TAB**. El error de los datos es inferior al 1 %.

7.5.4 Estimación de la relación molar C_{12}TAB:SC6HM presente en las micelas a partir de los coeficientes de auto-difusión

En presencia de agregados micelares mixtos, el coeficiente de difusión observado (D_{obs}) para el **C_{12}TAB** viene dado por:

$$D_{obs} = \chi_f D_f + \chi_c D_c + \chi_M D_M \qquad \text{(A.7.1)}$$

La constante de equilibrio para la formación del complejo *host-guest* es de 1550 M^{-1}.[36] Considerando este valor, justo por debajo de la CAC (≈0.2 mM), la fracción de **C_{12}TAB** complejado en presencia de 0.1 y 0.5 mM de **SC6HM** es del 11 % y el 39 %, respectivamente. Sin embargo, a medida que la concentración de **C_{12}TAB** sobrepasa la CAC, existirá menos **SC6HM** disponible para formar complejos con el surfactante libre

debido a su incorporación a las micelas. En este caso, la fracción molar de surfactante libre y micelizado llega a ser mucho más grande que la fracción de **C_{12}TAB** complejado, de tal forma que la ecuación (A.7.1) puede simplificarse para dar la ecuación (A.7.2):

$$D_{obs} = \chi_f D_f + \chi_M D_M \qquad \text{(A.7.2)}$$

Teniendo en cuenta esta aproximación, la fracción de surfactante libre puede ser calculada a partir de la ecuación (A.7.3) (considerando que $\chi_f + \chi_M = 1$):

$$\chi_f = \frac{D_{obs} - D_M}{D_f - D_M} \qquad \text{(A.7.3)}$$

Para aplicar la ecuación (A.7.3), se tomó el coeficiente de difusión del surfactante libre (D_f= 4.96×10^{-6} cm^2 s^{-1}) como la media del D_{obs} obtenido para el **C_{12}TAB** puro por debajo de la CMC (datos representados como cruces en la Figura 7.5) y, como segunda aproximación, se consideró que para concentraciones de surfactante superiores a 2 mM (en presencia de 0.5 mM de **SC6HM**), todo el calixareno es incorporado a las micelas, de tal forma que su coeficiente de difusión es igual a D_M. Utilizando este procedimiento, se estimó la concentración de surfactante libre y micelizado y se calculó la relación molar **C_{12}TAB** micelizado:**SC6HM**. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras A.7.7-A.7.12. En esta aproximación se usaron tres diferentes conjuntos de valores para D_M: el D_{obs} del calixareno correspondiente a cada concentración de surfactante (círculos de la Figura 7.5), un valor constante máximo de D_M correspondiente al D_{obs} del **SC6HM** (D_M = 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1}) obtenido en presencia de 2 mM de **C_{12}TAB** y un valor mínimo obtenido para 479 mM de **C_{12}TAB** (D_M= 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}). Como puede observarse, la concentración de surfactante micelizado es completamente independiente de los valores escogidos, mientras que, en el caso de la concentración de surfactante libre, los valores calculados son altamente dependientes del valor escogido para D_M en las concentraciones por encima de la CAC2.

El mismo tratamiento mencionado anteriormente se utilizó para los datos de difusión obtenidos en presencia de 0.1 mM de **SC6HM**, pero en este caso los valores correspondientes al D_{obs} del **SC6HM** en estas condiciones no fueron utilizados debido a la imposibilidad de obtenerlos con precisión bajo las condiciones experimentales empleadas. De esta forma, sólo se usaron los valores de D_M de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}.

7.5.4.1 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la concentración de monómeros de surfactante libre

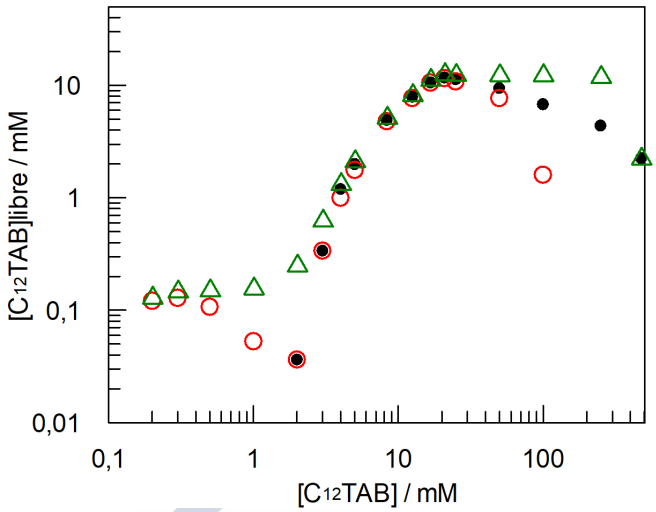


Figura A.7.7. Gráfica de la concentración de surfactante libre representado frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos negros se obtuvieron considerando valores de D_M variables (correspondientes al D_{obs} del **SC6HM** mostrado en la Figura 8.5 del apartado 8.3), los círculos rojos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.5 mM. T= 25 ºC.

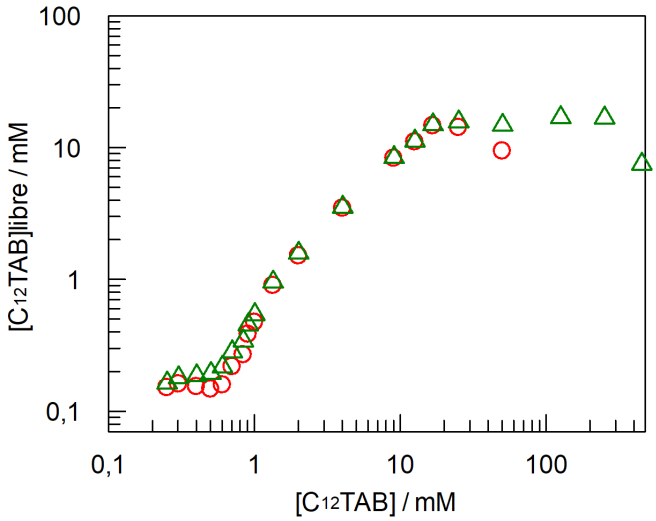


Figura A.7.8. Gráfica de la concentración de surfactante libre representado frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.1 mM. T= 25 ºC.

7.5.4.2 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la concentración de surfactante micelizado

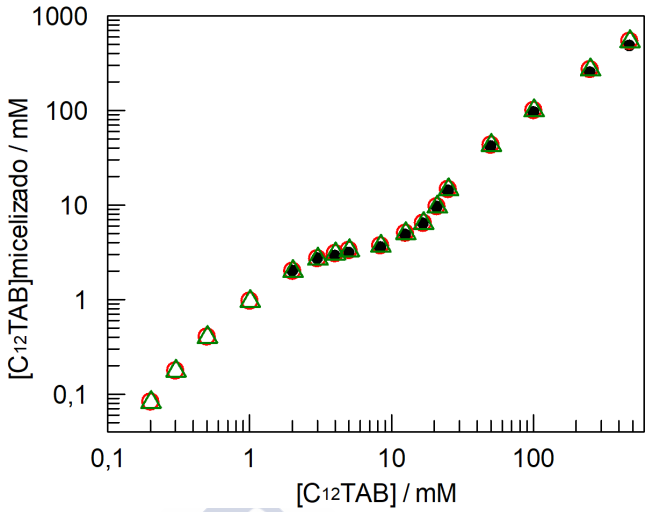


Figura A.7.9. Gráfica de la concentración de surfactante micelizado representada frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos negros se obtuvieron considerando valores de D_M variables (correspondientes al D_{obs} del **SC6HM** mostrado en la Figura 8.5 del apartado 8.3), los círculos rojos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.5 mM. T= 25 ºC.

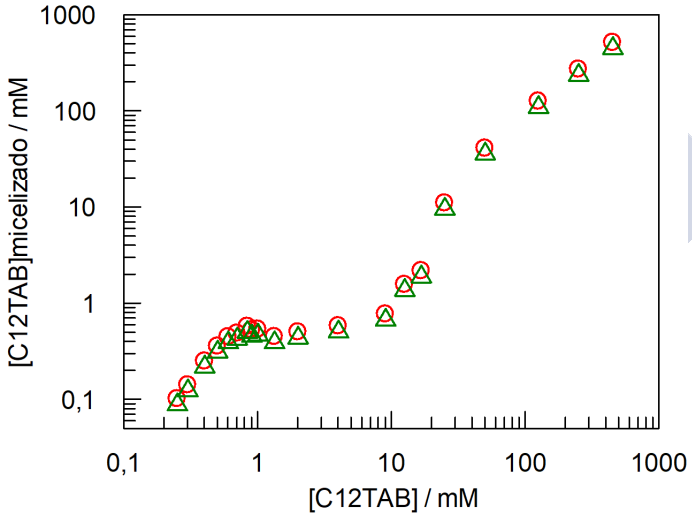


Figura A.7.10. Gráfica de la concentración de surfactante micelizado representada frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.1 mM. T= 25 ºC.

7.5.4.3 Influencia de la concentración de C_{12}TAB en la relación molar C_{12}TAB micelizado:SC6HM

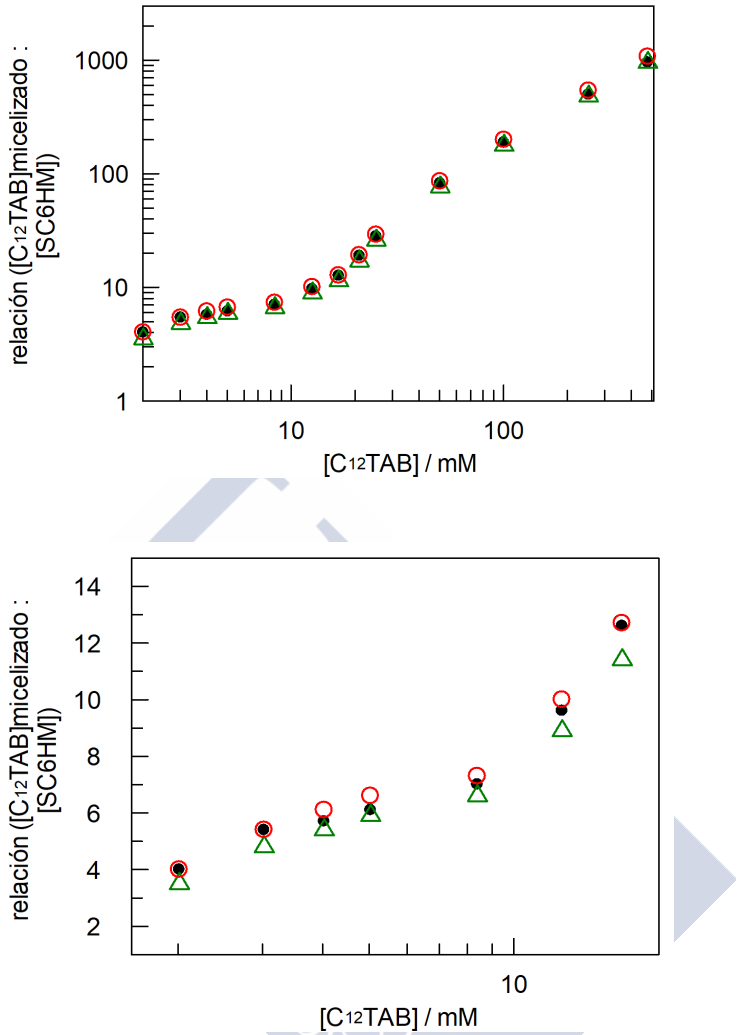


Figura A.7.11. Gráfica de la relación molar **C_{12}TAB** micelizado:**SC6HM** representada frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos negros se obtuvieron considerando valores de D_M variables (correspondientes al D_{obs} del **SC6HM** mostrado en la Figura 8.5 del apartado 8.3), los círculos rojos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.5 mM. T= 25 ºC. Arriba: Rango completo de concentraciones estudiado. Abajo: Intervalo de datos seleccionados entre 2 y 15 mM de **C_{12}TAB**.

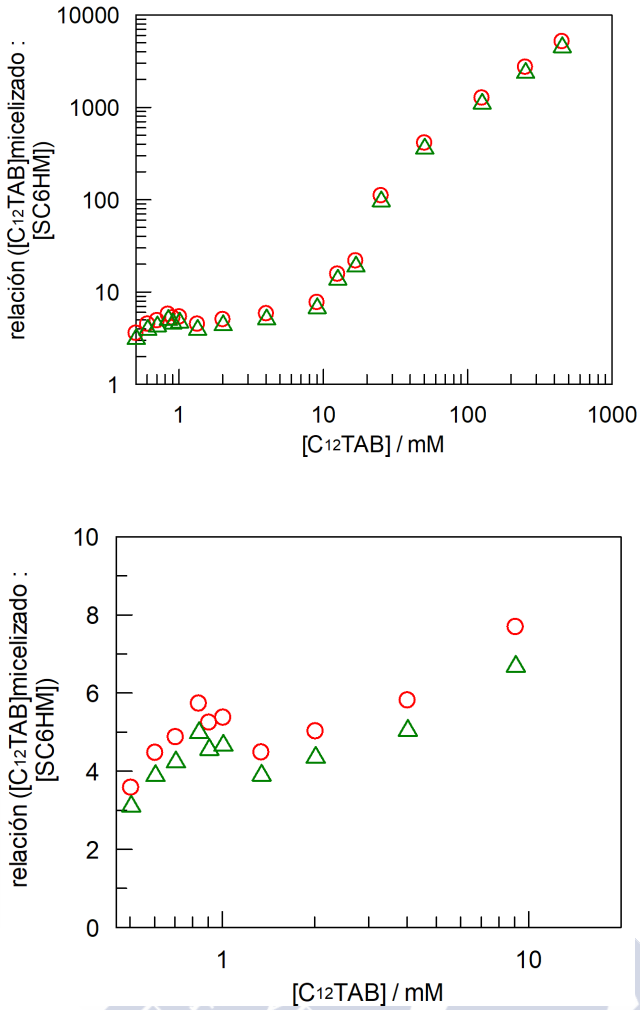


Figura A.7.12. Gráfica de la relación molar **C_{12}TAB** micelizado:**SC6HM** representada frente a la concentración total de **C_{12}TAB**. Los círculos y los triángulos se obtuvieron considerando valores fijos de D_M, de 1.04×10^{-6} cm^2 s^{-1} y de 4.44×10^{-7} cm^2 s^{-1}, respectivamente. [SC6HM]= 0.1 mM. T= 25 ºC. Arriba: Rango completo de concentraciones estudiado. Abajo: Intervalo de datos seleccionado entre 0.5 y 20 mM de **C_{12}TAB**.

7.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Zhang, X.; Wang, C. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 94-101.

(2) Wang, C.; Wang, Z.; Zhang, X. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 608-618.

(3) Xing, P.; Sun, T.; Hao, A. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 24776-24793.

(4) Kang, Y.; Liu, K.; Zhang, X. *Langmuir* **2014**, *30*, 5989-6001.

(5) Yu, G.; Jie, K.; Huang, F. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7240-7303.

(6) Jeon, Y. J.; Bharadwaj, P. K.; Choi, S.; Lee, J. W.; Kim, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4474-4476.

(7) Liu, K.; Yao, Y.; Wang, C.; Liu, Y.; Li, Z.; Zhang, X. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 8622-8628.

(8) Cao, Y.; Hu, X. Y.; Li, Y.; Zou, X.; Xiong, S.; Lin, C.; Shen, Y. Z.; Wang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10762-10769.

(9) Shao, L.; Zhou, J.; Hua, B.; Yu, G. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 7215-7218.

(10) Zhou, Q.; Jiang, H.; Chen, R.; Qiu, F.; Dai, G.; Han, D. A. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 10658-10660.

(11) Zhou, Q.; Wang, H.; Gao, T.; Yu, Y.; Ling, B.; Mao, L.; Zhang, H.; Meng, X.; Zhou, X. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11315-11317.

(12) Chi, X.; Ji, X.; Xia, D.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 1440-1443.

(13) Liu, Z.; Qiao, J.; Tian, Y.; Wu, M.; Niu, Z.; Huang, Y. *Langmuir* **2014**, *30*, 8938-8944.

(14) Ji, X.; Li, J.; Chen, J.; Chi, X.; Zhu, K.; Yan, X.; Zhang, M.; Huang, F. *Macromolecules* **2012**, *45*, 6457-6463.

(15) Kumar, M.; Venkata Rao, K.; George, S. J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 1300-1313.

(16) Xia, D.; Li, Y.; Jie, K.; Shi, B.; Yao, Y. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2910-2913.

(17) Kumar, S.; Singh, P.; Mahajan, A.; Kumar, S. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3400-3403.

(18) Ramesh, N.; Sarangi, N. K.; Patnaik, A. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 5345-5354.

(19) Zhang, K. Da; Zhou, T. Y.; Zhao, X.; Jiang, X. K.; Li, Z. T. *Langmuir* **2012**, *28*, 14839-14844.

(20) Olson, M. A.; Messina, M. S.; Thompson, J. R.; Dawson, T. J.; Goldner, A. N.; Gaspar, D. K.; Vazquez, M.; Lehrman, J. A.; Sue, A. C.-H. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 5714-5720.

(21) He, Q.; Ao, Y.-F.; Huang, Z.-T.; Wang, D.-X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 11785-11790.

(22) Li, J.; Shi, K.; Drechsler, M.; Tang, B. Z.; Huang, J.; Yan, Y. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 12466-12469.

(23) Zhang, Y.; Feng, Y.; Wang, Y.; Li, X. *Langmuir* **2013**, *29*, 4187-4192.

(24) Chi, X.; Zhang, H.; Vargas-Zúñiga, G. I.; Peters, G. M.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5829-5832.

(25) Perico, A.; Ciferri, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 6312-6320.

(26) Dias, R.; Lindman, B. *DNA Interactions with Polymers and Surfactants* Ed: John Wiley & Sons, Hoboken, **2008**.

(27) Takeuchi, T.; Montenegro, J.; Hennig, A.; Matile, S. *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 303-307.

(28) Montenegro, J.; Matile, S. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 681-689.

(29) Menger, F. M.; Shi, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6672-6673.

(30) Jiang, L. X.; Huang, J. Bin; Bahramian, A.; Li, P. X.; Thomas, R. K.; Penfold, J. *Langmuir* **2012**, *28*, 327-338.

(31) Taylor, D. J. F.; Thomas, R. K.; Penfold, J. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2007**, *132*, 69-110.

(32) Tam, K. C.; Wyn-Jones, E. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 693-709.

(33) Zhou, S.; Chu, B. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 545-556.

(34) Guo, D.-S.; Wang, K.; Liu, Y. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2008**, *62*, 1-21.

(35) Guo, D.-S.; Liu, Y. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1925-1934.

(36) Basílio, N.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9315-9319.

(37) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L.; Leis, J. R.; Marques, E. F.; Vázquez-Vázquez, C. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6551-6553.

(38) Wang, K.; Guo, D.-S.; Wang, X.; Liu, Y. *ACS Nano* **2011**, *5*, 2880-2894.

(39) Guo, D.-S.; Jiang, B.-P.; Wang, X.; Liu, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 720-723.

(40) Wang, Y.-X.; Guo, D.-S.; Cao, Y.; Liu, Y. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 8058-8063.

(41) Wang, K.; Guo, D.-S.; Zhao, M. Y.; Liu, Y. *Chem. Eur. J.* **2014**, 1475-1483.

(42) Jiang, B.; Guo, D.-S; Liu, Y.; Wang, K.; Liu, Y. *ACS Nano* **2014**, *8*, 1609-1618.

(43) Qin, Z.; Guo, D.-S.; Gao, X.-N.; Liu, Y. *Soft Matter* **2013**, *10*, 2253-2263.

(44) Wang, Y. X.; Zhang, Y. M.; Liu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 4543-4549.

(45) Basílio, N.; Francisco, V.; García-Río, L. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 3140-3157.

(46) Basílio, N.; Piñeiro, Á.; Da Silva, J. P.; García-Río, L. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 9113-9119.

(47) Megyesi, M.; Biczók, L. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 2814-2819.

(48) Wintgens, V.; Miskolczy, Z.; Guigner, J. M.; Amiel, C.; Harangozó, J. G.; Biczók, L. *Langmuir* **2015**, *31*, 6655-6662.

(49) Wintgens, V.; Le Coeur, C.; Amiel, C.; Guigner, J. M.; Harangozó, J. G.; Miskolczy, Z.; Biczók, L. *Langmuir* **2013**, *29*, 7682-7688.

(50) Harangozó, J. G.; Wintgens, V.; Miskolczy, Z.; Guigner, J. M.; Amiel, C.; Biczók, L. *Langmuir* **2016**, *32*, 10651-10658.

(51) Gattuso, G.; Notti, A.; Pappalardo, A.; Pappalardo, S.; Parisi, M. F.; Puntoriero, F. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 188-191.

(52) Guo, D.-S.; Liu, Y. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1925-1934.

(53) Coleman, A. W.; Jebors, S.; Cecillon, S.; Perret, P.; Garin, D.; Marti-Battle, D.; Moulin, M. *New J. Chem.* **2008**, *32*, 780-782.

(54) Ma, X.; Zhao, Y. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7794-7839.

(55) Liu, Y.-C.; Wang, Y.-Y.; Tian, H.-W.; Liu, Y.; Guo, D.-S. *Org. Chem. Front.* **2016**, *3*, 53-61.

(56) Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena* Ed: John Wiley & Sons, Hoboken, **2004**.

(57) K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. L. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution* Ed: John Wiley & Sons, Chichester, **2002**.

(58) Wu, D.; Chen, A.; Johnson, C. S. *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *115*, 260-264.

(59) Turro, N. J.; Yetka, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5951-5952.

(60) Prieto, M. F. R.; Rodríguez, M. C. R.; González, M. M.; Rodríguez, A. M. R.; Fernández, J. C. M. *J. Chem. Educ.* **1995**, *72*, 662-663 .

(61) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520-554.

(62) Malliaris, A.; Le Moigne, J.; Sturm, J.; Zana, R. *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 2709-2713.

(63) Castro, R.; Godínez, L. A.; Criss, C. M.; Bott, G.; Kaifer, A. E. *Chem. Commun.* **1997**, 935-936.

(64) Alvarez, J.; Wang, Y.; Gómez-Kaifer, M. *Chem. Commun.* **1998**, 1455-1456.

(65) Karukstis, K. K.; Suljak, S. W.; Waller, P. J.; Whiles, J. A.; Thompson, E. H. Z. J. *Phys. Chem.* **1996**, *100*, 11125-11132.

(66) Karukstis, K. K.; Frazier, A. A.; Loftus, C. T.; Tuan, A. S. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 8163-8169.

(67) Novaira, M.; Biasutti, M. A.; Silber, J. J.; Correa, N. M. J. *Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 748-759.

(68) Novaira, M.; Moyano, F.; Biasutti, M. A.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *Langmuir* **2008**, *24*, 4637-4646.

(69) Weber, G.; Farris, F. J. *Biochemistry* **1979**, *18*, 3075-3078.

(70) Grabowski, Z. R.; Rotkiewicz, K.; Rettig, W. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3899-4031.

(71) Krasnowska, E. K.; Gratton, E.; Parasassi, T. *Biophys. J.* **1998**, *74*, 1984–1993.

(72) Sengupta, B.; Guharay, J.; Sengupta, P. K. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2000**, *56*, 1433-1441.

(73) Parasassi, T.; Krasnowska, E. K. *J. Fluoresc.* **1998**, *8*, 365-373.

(74) Krasnowska, E. K.; Bagatolli, L. A.; Gratton, E.; Parasassi, T. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2001**, 1511, 330-340.

(75) Balter, A.; Nowak, W.; Pawełkiewicz, W.; Kowalczyk, A. *Chem. Phys. Lett.* **1988**, *143*, 565-570.

(76) Catalan, J.; Perez, P.; Laynez, J.; Blanco, F. G. *J. Fluoresc.* **1991**, *1*, 215-223.

(77) Zurawsky, W. P.; Scarlata, S. F. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6012-6016.

(78) Cerezo, M.; Rocafort, S. C.; Sierra, P. S.; García-Blanco, F. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 3306-3312.

(79) Moyano, F.; Biasutti, M. A.; Silber, J. J.; Correa, N. M. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 11838-11846.

(80) Basílio, N.; Spudeit, D. A.; Bastos, J.; Scorsin, L.; Fiedler, H. D.; Nome, F.; García-Río, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*, 26378-26385.

(81) Shinkai, S.; Mori, S.; Koreishi, H.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2409-2416.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 8

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

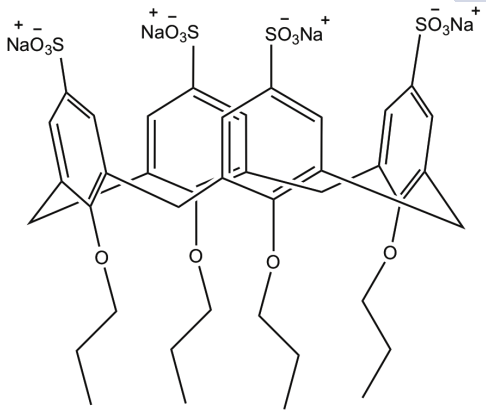
CAPÍTULO 8

8. SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES BASADOS EN UN CALIXARENO HIDROFÓBICO

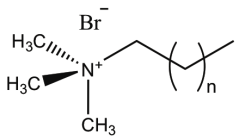
8.1 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, los agregados de moléculas anfifílicas, tales como micelas y vesículas, han recibido una especial atención dentro de la química supramolecular debido a su potencial aplicación para la encapsulación, el transporte y la liberación de fármacos de forma controlada, que es un campo de estudio que suscita un alto interés tanto a nivel académico como industrial.[1–3] De esta forma, el control de la agregación/desagregación de anfífilos es de gran importancia en esta área y puede llevarse a cabo mediante la modificación o la incorporación de grupos funcionales sensibles a estímulos externos en la estructura de estos sistemas, tales como el pH, la temperatura, el estado redox o la luz.[4–9]

La formación de complejos de inclusión anfifílicos es un área todavía poco explorada, pero altamente atractiva debido a la simplicidad, la versatilidad y principalmente a la reversibilidad de las interacciones establecidas en este tipo de complejos. La utilización de macrociclos solubles en agua, tales como las ciclodextrinas, los cucurbiturilos, los pilararenos y los calixarenos es prometedora debido a su capacidad para formar complejos de inclusión con una gran variedad de moléculas y, principalmente, debido a su relativa inocuidad.[10–15] La formación espontánea de vesículas a partir de la agregación de un complejo ternario, utilizando el cucurbit[8]urilo, se demostró por primera vez por Kimoon Kim *et al*.[16] Posteriormente, otros grupos de investigación han publicado trabajos donde se describe la formación y agregación de complejos de inclusión anfifílicos, utilizando ciclodextrinas, calixarenos y pilararenos.[17–23]



SC4TP



n=4 **C_6TAB**
n=6 **C_8TAB**
n=8 **C_{10}TAB**
n=10 **C_{12}TAB**
n=12 **C_{14}TAB**
n=14 **C_{16}TAB**
n=16 **C_{18}TAB**

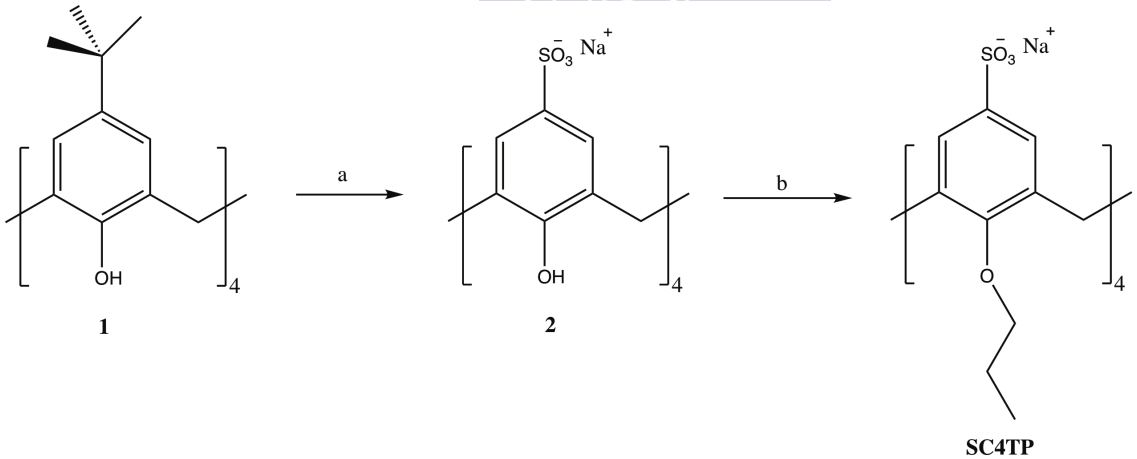
Esquema 8.1

Debido a que su modificación química es relativamente sencilla, los calixarenos son macrociclos particularmente atractivos en la construcción de surfactantes.[24] Éstos se distinguen de los surfactantes convencionales debido a su capacidad para formar complejos *host-guest* con multitud de moléculas orgánicas e iones. El grupo de investigación de Seiji Shinkai fue pionero en el diseño y la síntesis de calixarenos anfifílicos.[25,26] En su laboratorio se demostró que los *p*-sulfonatocalix[n]arenos (SCn) con cadenas alquílicas en el portal inferior forman agregados micelares en disolución acuosa. El mismo grupo ha constatado que el tipo de agregados que se forman en disoluciones de calixarenos anfifílicos es dependiente de la conformación adoptada por el surfactante, siendo la conformación "cono" la ideal para la formación de micelas.[27] Posteriormente a los estudios iniciados por Seiji Shinkai *et al.*, el diseño de calixarenos anfifílicos ha atraído la atención de otros investigadores, y en la bibliografía pueden encontrarse ejemplos muy variados de este tipo de surfactantes con distintas propiedades y aplicaciones.[28–36]

Así, en este capítulo se presentan los resultados obtenidos en el estudio de la agregación de un *p*-sulfonatocalix[4]areno tetrapropilado (**SC4TP**) con diferentes bromuros de alquiltrimetilamonio (**C_nTAB**) (Esquema 8.1). La introducción de cadenas propílicas en el portal inferior del calixareno provoca la inhibición de la rotación de las unidades fenólicas a través del anillo del macrociclo, confiriendo al mismo una conformación estructural fija tipo "cono", favoreciendo así la formación de micelas, pues la flexibilidad del macrociclo es un factor determinante para el tipo de agregados formados al mezclar estos macrociclos con surfactantes catiónicos convencionales.

8.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética utilizada para la obtención de **H** se muestra en el Esquema 8.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice 8.5.1.



1 **2** **SC4TP**

Esquema 8.2

Conductividad. La conductividad eléctrica se registró con un conductivímetro Crison GLP 32. La temperatura se mantuvo constante por medio de un baño de agua termostatizado a (25 ± 0.1) ºC. La celda del conductivímetro se sumergió en un vaso con un volumen conocido de agua *Milli Q*, con agitación suave y constante. El estudio de la variación de la conductividad eléctrica en función de la concentración se realizó mediante

la adición de volúmenes conocidos de una disolución concentrada de surfactante al vaso conteniendo al electrodo.

Fluorescencia. La disolución de pireno se preparó en etanol, añadiendo un pequeño volumen (15 μL) de ésta a las disoluciones de surfactante de concentración deseada, previamente preparadas en las cubetas de fluorescencia (2.5 mL). Los espectros de emisión del pireno (1 μM) se registraron en un fluorímetro Cary Eclipse, con una longitud de onda de excitación de 334 nm. Se utilizaron cubetas de cuarzo de (10 x 10) mm de paso de luz y 3.5 mL de capacidad, las cuales permanecieron tapadas durante la realización de las medidas.

Espectroscopía RMN. Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolvente deuterado (D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova (MestReLab Research Inc.).

8.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.3.1 DETERMINACIÓN DE LA CMC DEL SC4TP MEDIANTE CONDUCTIVIDAD

En primer lugar, se determinó la concentración micelar crítica (CMC) del **SC4TP**, que se comporta como un surfactante por sí mismo, a través de medidas de conductividad eléctrica (*k*). El uso de medidas conductimétricas para el estudio de la autoagregación de surfactantes iónicos es una de las técnicas más comunes en esta área. Además de la CMC, utilizando este método también se puede determinar directamente otra importante propiedad de los agregados micelares como es la fracción de carga micelar neutralizada (parámetro β).

El principio del método de la conductividad[37] se basa en el hecho de que, a concentraciones de tensioactivo inferiores a la CMC, el sistema se comporta como un electrolito fuerte, de tal forma que la conductividad aumenta linealmente con la concentración de surfactante. Cuando se alcanza la CMC, la concentración de monómeros de surfactante se mantiene aproximadamente constante, por lo que el incremento de la concentración de surfactante en esta región resulta casi exclusivamente en un incremento de la concentración micelar. En la CMC se comienzan a formar micelas, que pueden estar formadas por decenas o cientos de moléculas de tensioactivo, es decir, son estructuras de gran tamaño con una movilidad iónica inferior a la de los monómeros por separado. Además, en el agregado micelar, algunas de las moléculas de surfactante están asociadas a los correspondientes contraiones para estabilizar la micela (de lo contrario, decenas o cientos de cargas del mismo signo agrupadas tan cerca crearían una estructura muy inestable), por lo tanto, la conductividad de la disolución, por encima de la CMC, se incrementa con una pendiente menor que la observada en ausencia de micelas debido a su gran tamaño y a que sus cargas están parcialmente contrarrestadas por los contraiones.

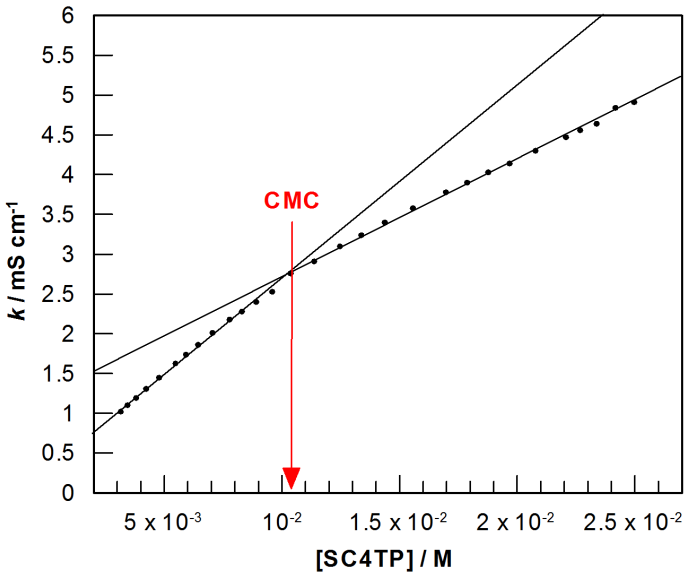


Figura 8.1. Conductividad eléctrica a 25 ºC de una disolución acuosa de **SC4TP** en función de su concentración.

De esta forma, la CMC puede ser determinada a través de la intersección entre dos rectas trazadas a partir de las medidas de conductividad eléctrica obtenidas a concentraciones por debajo y por encima de la concentración micelar crítica.

Por otro lado, a partir de los mismos datos experimentales, también se puede obtener el parámetro β. Como aproximación generalmente aceptada,[38–40] se considera que el cociente entre las pendientes obtenidas a partir de los datos de conductividad frente a la concentración de surfactante es igual al grado de ionización de las micelas (parámetro α), de tal forma que la fracción de carga micelar neutralizada se obtiene directamente a partir de la relación β=1-α.

La Figura 8.1 muestra los resultados obtenidos para el experimento conductivimétrico con el calixareno. Como puede observarse, éstos indican que el **SC4TP** posee una CMC de aproximadamente 1.05×10^{-2} M. Además, se determinó que los agregados formados por el macrociclo anfifílico poseen una carga micelar neutralizada de 0.63.

En la Tabla 8.1 se comparan valores de CMC y parámetro β de *p*-sulfonatocalix[4]arenos modificados en su portal inferior con cadenas hidrocarbonadas de diferentes longitudes: 3 carbonos (**SC4TP**), 4 carbonos (**SC4TB**), 6 carbonos (**SC4TH**) y 8 carbonos (**SC4TO**).[34] Como puede observarse, apenas existe variación en la fracción de carga micelar neutralizada aumentando el tamaño de la cadena alquílica, indicando que la hidratación del grupo de cabeza no varía en exceso con el incremento de dichas cadenas. Además, debido a que los cambios en los valores de β puede estar relacionados con cambios geométricos en la estructura de los agregados, también puede decirse que las micelas formadas a partir de **SC4** anfifílicos presentan geometrías similares independientemente de la longitud de la cadena alquílica utilizada para funcionalizar el portal inferior de los macrociclos. Por otro lado, como se puede observar, la CMC de los **SC4** disminuye notablemente al incrementar el número de carbonos en las cadenas alquílicas, siendo éste el comportamiento observado generalmente para las diferentes clases de surfactantes,[41] pues el mayor número de grupos CH_2 contribuye favorablemente a la formación de micelas mediante el establecimiento de más interacciones hidrofóbicas y CH-π.

Tabla 8.1. Valores de la concentración micelar crítica (CMC) y la fracción de carga micelar neutralizada (β) para diferentes *p*-sulfonatocalix[4]areno anfifílicos a 25 ºC.[34]

Surfactante	CMC (mM)	β
SC4TP	10.5	0.63
SC4TB	3.20	0.69
SC4TH	0.488	0.73
SC4TO	0.0850	0.70

8.3.2 DETERMINACIÓN DE CMC´s MEDIANTE LA FLUORESCENCIA DE EMISIÓN DEL PIRENO

En todas las metodologías de fluorescencia es necesario incorporar al sistema un compuesto capaz de emitir luz, conocido como sonda fluorescente. Las más adecuadas son aquellas cuya fotofísica se vea fuertemente influenciada por la naturaleza del medio o microambiente en el que se encuentran, de tal forma que esta dependencia posibilite la caracterización del entorno de la sonda, lo que convierte a este tipo de técnicas en una herramienta ampliamente utilizada en el estudio de sistemas que presentan más de una fase o microfase.

Una de las ventajas de las sondas fluorescentes es que la concentración necesaria para las medidas es muy inferior a la de las sondas de absorción, lo que minimiza la posibilidad de interacciones sonda-sonda que puedan tener lugar durante los estudios de absorción.

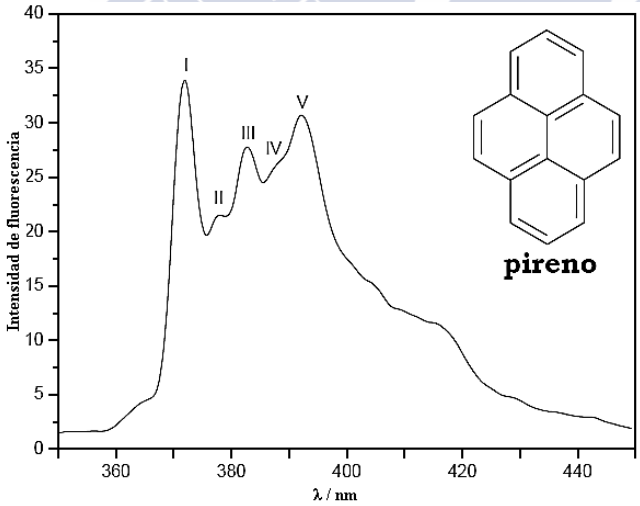


Figura 8.2. Espectro de fluorescencia de emisión típico del pireno.

El pireno es una de las sondas fluorescentes neutras más utilizadas. Se trata de un hidrocarburo aromático policíclico que presenta un espectro de emisión muy característico, compuesto por cinco bandas de vibración (Figura 8.2). La primera banda (I), localizada alrededor de los 373 nm es intensa (asociada a una transición permitida) y su magnitud muestra escasa dependencia con la polaridad del disolvente. La intensidad de la tercera banda (III), ubicada alrededor de los 384 nm, muestra un significativo aumento de intensidad en disolventes polares. Las intensidades relativas de estas bandas

están determinadas por la magnitud del acoplamiento vibrónico entre el primer y segundo estado singulete excitado. El comportamiento descrito para estas dos transiciones permitió desarrollar una escala de polaridades en función de la relación entre ambas intensidades debido a la alta sensibilidad a la polaridad del medio en el que se encuentra disuelta la molécula sonda. Más concretamente, el cociente entre las intensidades de la banda I y la banda III (I_1/I_3) disminuye drásticamente cuando se pasa de un medio polar a uno apolar. Así, esta particularidad hace que el pireno sea una sonda fluorescente particularmente útil en la caracterización de sistemas microheterogéneos.[42]

El carácter hidrofóbico del pireno permite el uso de la relación I_1/I_3 para la determinación de la CMC, pues la naturaleza apolar de este compuesto se traduce en su solubilización preferente en el interior micelar, dando como resultado una más o menos marcada variación de la polaridad en cuanto comienza la formación de los primeros agregados, es decir, cuando se alcanza la CMC. Por lo tanto, a través de la monitorización de este parámetro en función de la concentración de surfactante puede determinarse fácilmente la CMC.

En la Figura 8.3 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante convencional como es el bromuro de dodeciltrimetilamonio (**C_{12}TAB**). Si, por definición, la CMC es la concentración mínima de surfactante a partir de la cual comienzan a formarse micelas espontáneamente en una disolución y teniendo en cuenta que todas las medidas se realizaron en medio acuoso, donde la relación I_1/I_3 del pireno es de aproximadamente 1.8, se escogió como valor de la CMC el punto en donde la relación I_1/I_3, alrededor de 1.8, comienza a caer de una forma más o menos brusca. Una vez que dicha relación ha disminuido drásticamente, el parámetro se estabiliza y se obtienen valores más o menos constantes para sucesivos aumentos de la concentración de tensioactivo. Así, para el **C_{12}TAB** se obtuvo una CMC de aproximadamente 1.07×10^{-2} M.

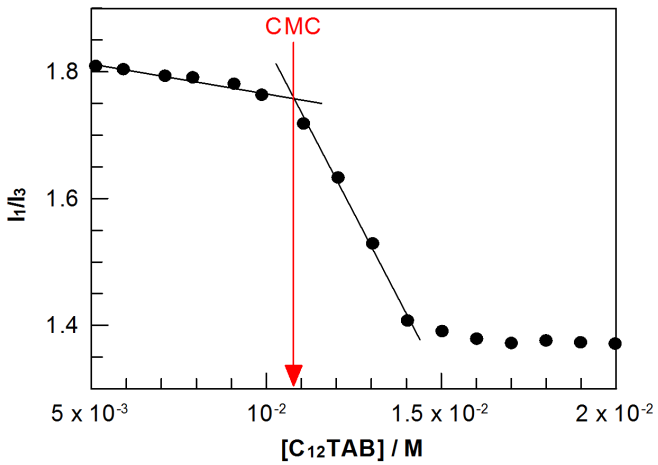


Figura 8.3. Influencia de la concentración de **C_{12}TAB** en el cociente I_1/I_3 del pireno. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

8.3.3 SURFACTANTES SUPRAMOLECULARES

Haciendo uso de la técnica de fluorescencia de emisión y utilizando pireno como molécula sonda, tal y como se ha comentado en el punto anterior, se han estudiado los sistemas de agregación mixtos formados entre el **SC4TP** y diferentes bromuros de alquiltrimetilamonio (**C_nTAB**) (Esquema 8.1).

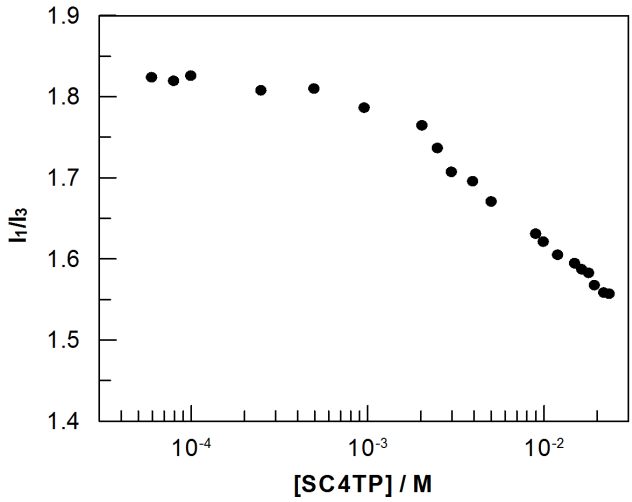


Figura 8.4. Influencia de la concentración de **SC4TP** en el cociente I_1/I_3 del pireno. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

Antes de abordar el estudio de los sistemas mixtos formados por el calixareno y los surfactantes, es importante conocer el efecto del macrociclo sobre el espectro de emisión del pireno en ausencia de sales de alquiltrimetilamonio. Por un lado, se comprobó que el calixareno no influye en la fluorescencia del pireno en las longitudes de onda utilizadas (ver apéndice 8.5.2). Por otro lado, en la Figura 8.4 se muestra como varía el cociente I_1/I_3 en función de la concentración del **SC4TP**. El perfil de los datos sugiere que el pireno es incorporado en la cavidad del calixareno formando un complejo *host-guest*, pues muestran que el entorno experimentado por el pireno en la cavidad es menos polar que el del seno acuoso. Sin embargo, también puede observarse que, hasta aproximadamente 1×10^{-3} M, la adición de **SC4TP** prácticamente no afecta a la relación I_1/I_3, por lo que puede anticiparse que este fenómeno no interferirá de forma significativa en los resultados obtenidos en los estudios de los sistemas mixtos.

8.3.3.1 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP+C_{12}TAB

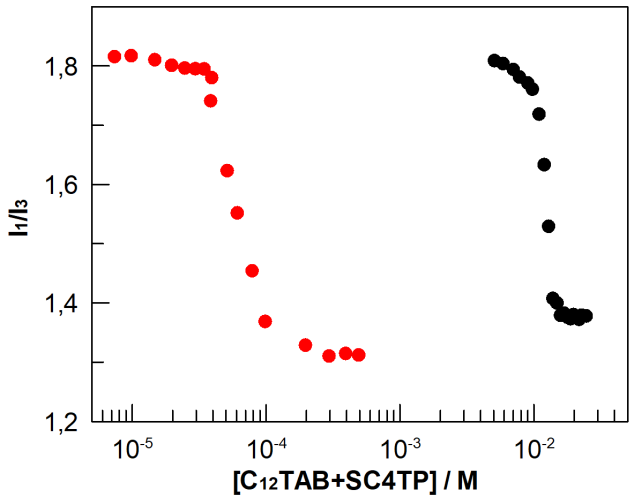
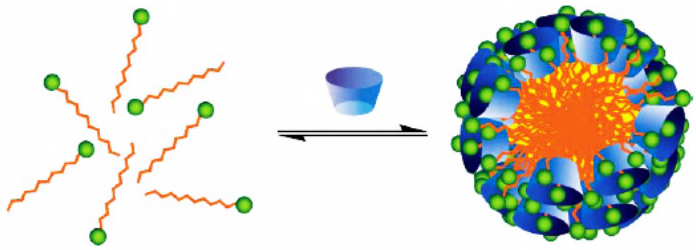


Figura 8.5. Influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en el cociente I_1/I_3 en ausencia (negro) y en presencia de una cantidad equimolar de **SC4TP** (rojo). [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

En la Figura 8.5 se muestra la influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en la relación I_1/I_3 en ausencia y en presencia de una cantidad equimolar de **SC4TP**. Tal y como puede

observarse, se ha obtenido un valor de la CMC para el sistema mixto formado por **SC4TP** y **C_{12}TAB**, en proporciones equimolares, de aproximadamente 3.5×10^{-5} M. De esta forma, la variación en el cociente I_1/I_3 con la concentración de mezcla demuestra que el pireno es encapsulado en los agregados supramoleculares a concentraciones muy inferiores a la CMC del surfactante puro, por lo que puede decirse que la presencia de **SC4TP** induce la agregación del **C_{12}TAB** (Esquema 8.2) a concentraciones muy inferiores a las observadas para el surfactante puro (1.07×10^{-2} M). Más concretamente, la CMC del tensioactivo disminuye alrededor de 306 veces en presencia de **SC4TP**.



Esquema 8.2

Con el objetivo de obtener una mejor comprensión del fenómeno de agregación del **C_{12}TAB** en presencia de **SC4TP**, se realizaron varias series de experimentos en los cuales se registraron los espectros de fluorescencia del pireno en función de la concentración de **C_{12}TAB**, en presencia de mayores concentraciones de **SC4TP**.

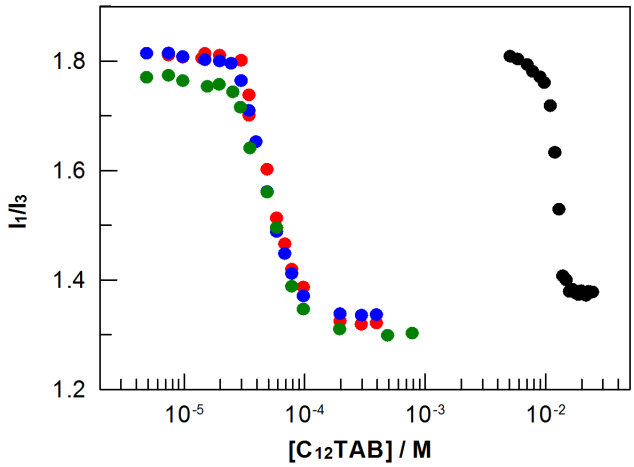


Figura 8.6. Influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en el cociente I_1/I_3 en ausencia (negro) y en presencia de cinco (rojo), diez (azul) y veinte (verde) veces más de **SC4TP**. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

En la Figura 8.6 se muestran los resultados de los experimentos cuando la relación de concentraciones entre el **SC4TP** y el **C_{12}TAB** ([**SC4TP**]/[**C_{12}TAB**]) es igual a cinco, diez y veinte. Como se puede observar, el perfil de las curvas I_1/I_3 frente a la concentración de surfactante en presencia de calixareno prácticamente no varía. Curiosamente, en todos los casos el valor de la CMC para los sistemas mixtos permanece inalterada, obteniendo un valor para la misma de aproximadamente 3.5×10^{-5} M, lo que supone una disminución del valor de la CMC de aproximadamente 306 veces con respecto al obtenido para el surfactante en ausencia de calixareno.

Por lo tanto, puede deducirse que existe una concentración "límite" de **SC4TP** a partir de la cual deja de provocarse ese efecto de inducción a la agregación por parte del **C_{12}TAB**, pues tanto para relaciones [**SC4TP**]/[**C_{12}TAB**] igual a 1, 5, 10 ó 20, se obtuvo

una CMC del sistema mixto de aproximadamente 3.5×10^{-5} M. Así, puede decirse que la CMC es independiente de la concentración de calixareno y que los experimentos no se han visto afectados por la concentración de **SC4TP**, pues para determinar dichas CMC´s en ningún momento se llegó a valores de 1×10^{-3} M, que es la concentración a partir de la cual el **SC4TP** si podría afectar a la relación I_1/I_3 del espectro de fluorescencia del pireno (Figura 8.4).

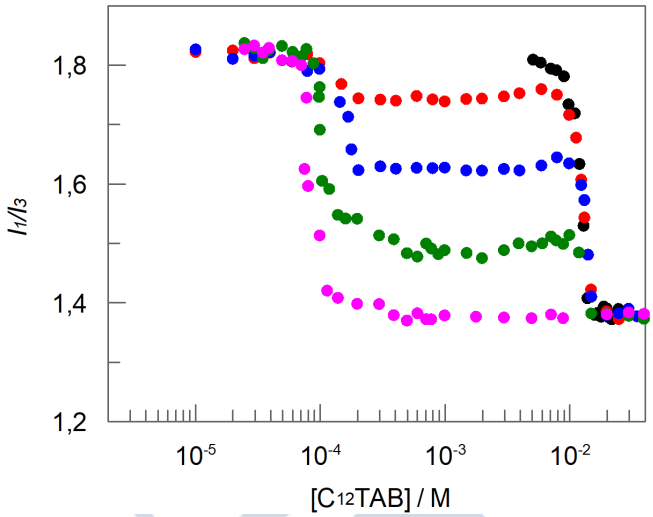


Figura 8.7. Influencia de la concentración del **C_{12}TAB** en el cociente I_1/I_3 en presencia de distintas concentraciones de **SC4TP**: [SC4TP]= 0 M (negro), [SC4TP]= 5×10^{-7} M (rojo), [SC4TP]= 1×10^{-6} M (azul), [SC4TP]= 3.5×10^{-6} M (verde) y [SC4TP]= 1×10^{-5} M (fucsia).

Como se vio anteriormente, el perfil de las curvas de I_1/I_3 frente a la concentración de surfactante prácticamente no varía cuando la concentración de **SC4TP** es igual o mayor que la de **C_{12}TAB**. Para comprender mejor el fenómeno de agregación del **C_{12}TAB** en presencia de **SC4TP** se realizaron series de experimentos donde se registraron los espectros de fluorescencia del pireno en función de la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de menores concentraciones de **SC4TP** (Figura 8.7). Como puede observarse, en presencia de concentraciones relativamente bajas de **SC4TP** (entre 5×10^{-7} y 1×10^{-6} M) los valores de la CMC aumentan hasta aproximadamente 9×10^{-5} M, siendo este un aumento prácticamente despreciable con respecto a los experimentos anteriores si se tiene en cuenta el amplio rango de concentraciones estudiado. Además, este cambio en la CMC puede ser compatible con la variación en la fuerza iónica del sistema. Así, respecto al perfil de las curvas, se observa que en la CMC los valores observados para el cociente I_1/I_3 se incrementan con la disminución de la concentración de **SC4TP** y que, al aumentar la concentración de **C_{12}TAB**, estos valores convergen más rápidamente con los registrados en ausencia de calixareno. Los experimentos de caracterización de agregados formados en disoluciones de surfactantes en los que se utilizan moléculas sonda como el pireno pueden estar limitados por la concentración de agregados en disolución de tal forma que, cuando la concentración de agregados es inferior a la concentración de sonda, el pireno no sea totalmente transferido desde el medio acuoso hacia el interior de los agregados, de tal forma que por encima de la CMC observada, los valores I_1/I_3 vendrán dados por el promedio de los valores de I_1/I_3 del pireno libre y del encapsulado.

Vistos los resultados obtenidos con el **C_{12}TAB**, se decidió realizar experimentos de fluorescencia similares con el **SC4TP** y otros bromuros de alquiltrimetilamonio de diferente longitud de cadena (**C_nTAB**) que confirmasen la generalidad del comportamiento observado. Como se muestra más adelante, el **SC4TP** tiene un efecto muy similar en la agregación de los surfactantes catiónicos convencionales, observándose

la formación de agregados a concentraciones muy inferiores a la CMC del surfactante puro.

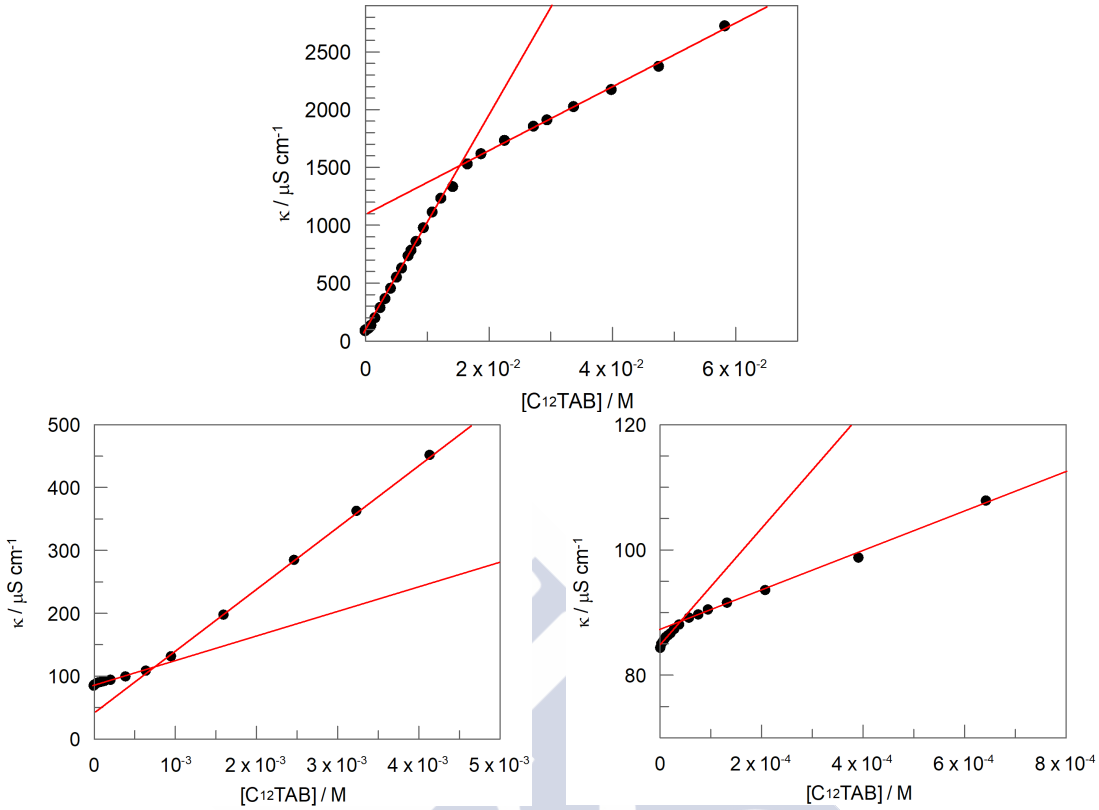


Figura 8.8. Gráficas de la conductividad (*k*) frente a la concentración de **C_{12}TAB** en presencia de 0.2 mM de **SC4TP**. T=25 ºC. Arriba: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 7×10^{-2} M de **C_{12}TAB**. Abajo-Izquierda: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 5×10^{-3} M. Abajo-Derecha: Datos conductimétricos obtenidos entre 0 y 8×10^{-4} M.

Para complementar los resultados obtenidos por las medidas de fluorescencia, se realizaron medidas de conductividad eléctrica (*k*) en condiciones experimentales similares. Por un lado, en ausencia de **SC4TP**, se obtuvo un valor de CMC igual a 13 mM para el **C_{12}TAB** (ver apéndice 8.5.3), el cual es compatible con el obtenido por las medidas de fluorescencia (Figura 8.3). Por otro lado, en presencia de 0.2 mM de **SC4TP** (Figura 8.8), se observaron dos puntos de intersección adicionales en las representaciones de *k* frente a la concentración de **C_{12}TAB**. El primer punto puede observarse a aproximadamente 5×10^{-5} M de **C_{12}TAB** (Figura 8.8-Abajo-Derecha), y puede atribuirse al comienzo de la formación de las micelas mixtas. El segundo punto se observa a aproximadamente 7.7×10^{-4} M de **C_{12}TAB** (Figura 8.8-Abajo-Izquierda), del cual puede decirse que tiene lugar ligeramente por debajo del punto de neutralización de cargas entre especies. Contrariamente a lo esperado para la agregación de surfactantes convencionales, en los cuales la intersección de puntos asociados a los procesos de agregación suele venir acompañada por un descenso en la pendiente de *k* frente a la concentración de tensioactivo, a partir de este punto tiene lugar un incremento de la pendiente de *k* frente a la concentración de **C_{12}TAB**. Finalmente, para mayores concentraciones de **C_{12}TAB**, se observó un tercer punto de intersección a aproximadamente 1.5×10^{-2} M de **C_{12}TAB** (Figura 8.8-Arriba) compatible con el valor de la CMC del surfactante puro. De esta forma, la combinación de los datos parece indicar que, para concentraciones por encima del segundo punto de intersección, la adición de **C_{12}TAB** al sistema resulta en un sustancial incremento de iones libres en disolución. Además, este proceso parecer estar seguido por un segundo proceso de agregación

(tercera intersección) cuando la concentración de **C_{12}TAB** libre alcanza el valor que se corresponde con la CMC del surfactante puro.

8.3.3.2 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP+C_{18}TAB

En la Figura 8.9 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante catiónico convencional, el bromuro de octadeciltrimetilamonio (**C_{18}TAB**), en ausencia y en presencia del calixareno anfifílico. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el surfactante puro de aproximadamente 3.3×10^{-4} M, mientras que, si el experimento se realiza en presencia de 1 mM de **SC4TP** en el medio, la CMC del sistema mixto desciende hasta aproximadamente 2×10^{-6} M, lo que implica una reducción de su valor de alrededor de 165 veces, poniendo de manifiesto la excelente capacidad del **SC4TP** para inducir la agregación de este tipo de surfactantes.

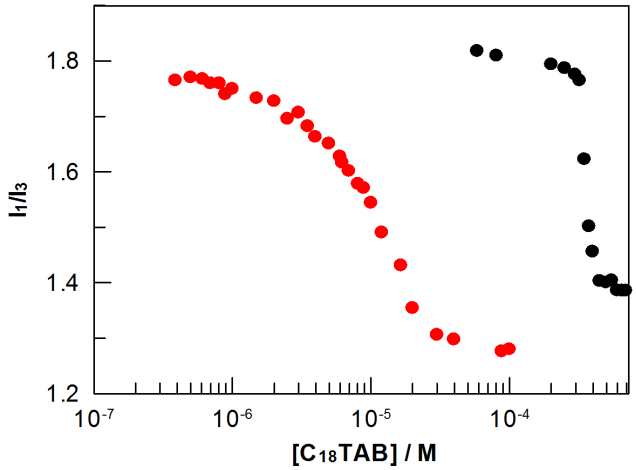


Figura 8.9. Influencia de la concentración del **C_{18}TAB** en el cociente I_1/I_3 en ausencia (negro) y en presencia de 1 mM de **SC4TP** (rojo). [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

8.3.3.3 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{16}TAB

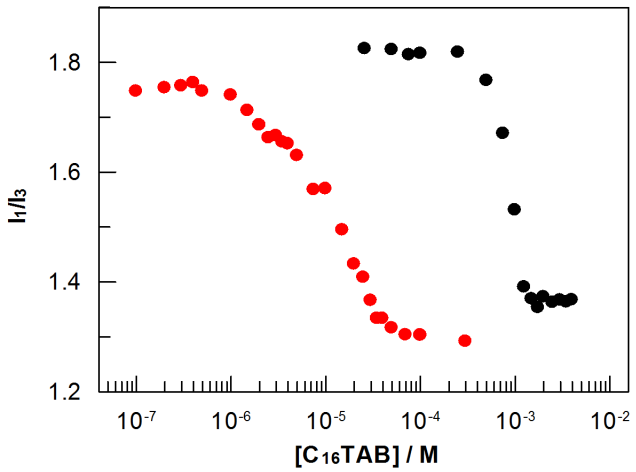


Figura 8.10. Influencia de la concentración del **C_{16}TAB** en el cociente I_1/I_3 en ausencia (negro) y en presencia de 1 mM de **SC4TP** (rojo). [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

En la Figura 8.10 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante catiónico convencional, el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (**C_{16}TAB**), en ausencia y en presencia del calixareno anfifílico. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el surfactante puro de aproximadamente 4.5×10^{-4} M, mientras que, si el experimento se realiza en presencia de 1 mM de **SC4TP** en el medio, la CMC del sistema mixto desciende hasta aproximadamente 1.2×10^{-6} M, lo que implica una reducción de su valor de alrededor de 375 veces.

8.3.3.4 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{14}TAB

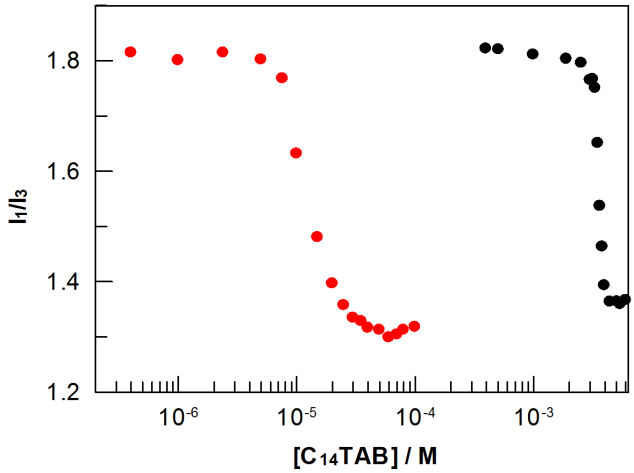


Figura 8.11. Influencia de la concentración del **C_{14}TAB** en el cociente I_1/I_3 en ausencia (negro) y en presencia de 1 mM de **SC4TP** (rojo). [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

En la Figura 8.11 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante catiónico convencional, el bromuro de tetradeciltrimetilamonio (**C_{14}TAB**), en ausencia y en presencia del calixareno anfifílico. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el surfactante puro de aproximadamente 3.2×10^{-3} M, mientras que, si el experimento se realiza en presencia de 1 mM de **SC4TP** en el medio, la CMC del sistema mixto desciende hasta aproximadamente 6.8×10^{-6} M, lo que implica una reducción de su valor de alrededor de 471 veces.

8.3.3.5 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_{10}TAB

En la Figura 8.12 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante catiónico convencional, el bromuro de deciltrimetilamonio (**C_{10}TAB**), en presencia de 1 mM de **SC4TP** en el medio. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el sistema mixto de aproximadamente 2.4×10^{-4} M, lo que supone un descenso de alrededor de 280 veces respecto al valor de la misma para el surfactante puro, 6.7×10^{-2} M.[44]

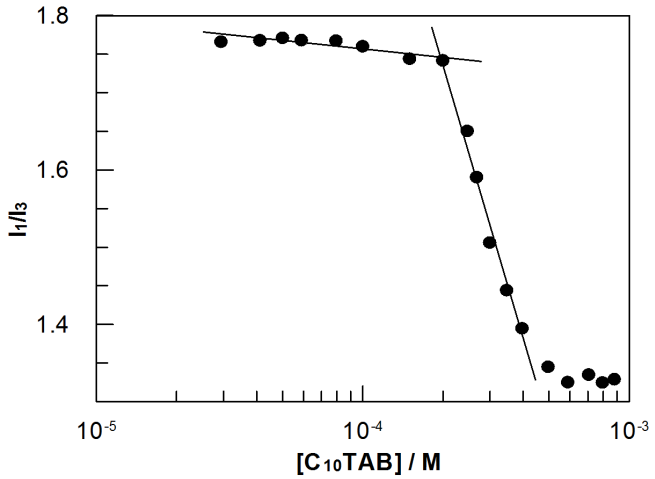


Figura 8.12. Influencia de la concentración del **C_{10}TAB** en el cociente I_1/I_3 en presencia de 1 mM de **SC4TP**. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

8.3.3.6 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_8TAB

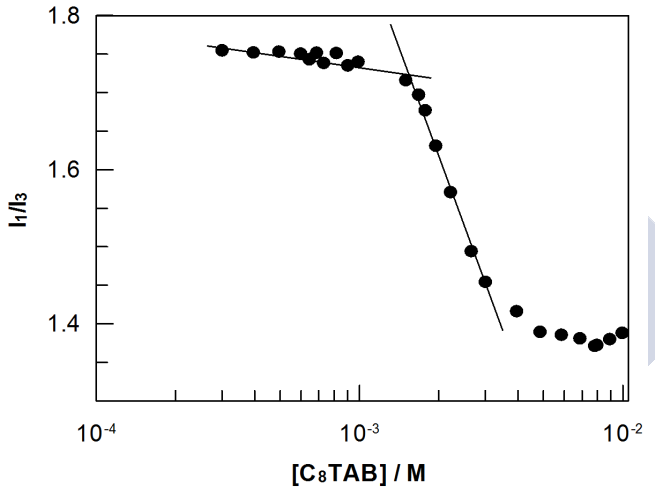


Figura 8.13. Influencia de la concentración del **C_8TAB** en el cociente I_1/I_3 en presencia de 1 mM de **SC4TP**. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

En la Figura 8.13 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración del surfactante catiónico convencional bromuro de octiltrimetilamonio (**C_8TAB**) en presencia de 1 mM de calixareno anfifílico. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el surfactante supramolecular de aproximadamente 1.5×10^{-3} M, lo que supone una reducción del valor para el surfactante catiónico puro (CMC= 2.5×10^{-1} M)[39] de alrededor de 167 veces.

Para obtener información acerca de la localización de los surfactantes incorporados al calixareno y comprender mejor el fenómeno de agregación de las sales de alquiltrimetilamonio en presencia del **SC4TP**, se realizó una valoración de resonancia magnética nuclear de protón entre el **C_8TAB** y el calixareno que permita determinar el tipo de interacciones que se establecen entre ambas especies a concentraciones por debajo de la CMC.

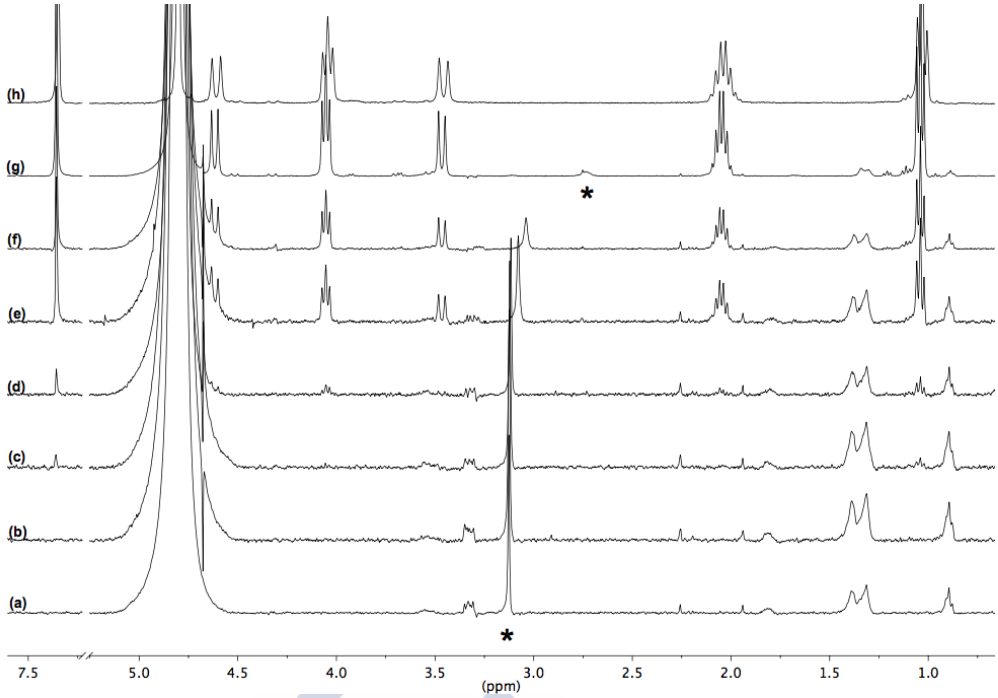


Figura 8.14. Espectros ^{1}H RMN del **C_8TAB** (5×10^{-5} M) en presencia de mayores cantidades de **SC4TP** en D_2O a 25 ºC: (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 5×10^{-6} M, (d) 1×10^{-5} M, (e) 5×10^{-5} M, (f) 1×10^{-4} M y (g) 5×10^{-4} M. El espectro (h) se corresponde con el **SC4TP** libre (5×10^{-5} M).

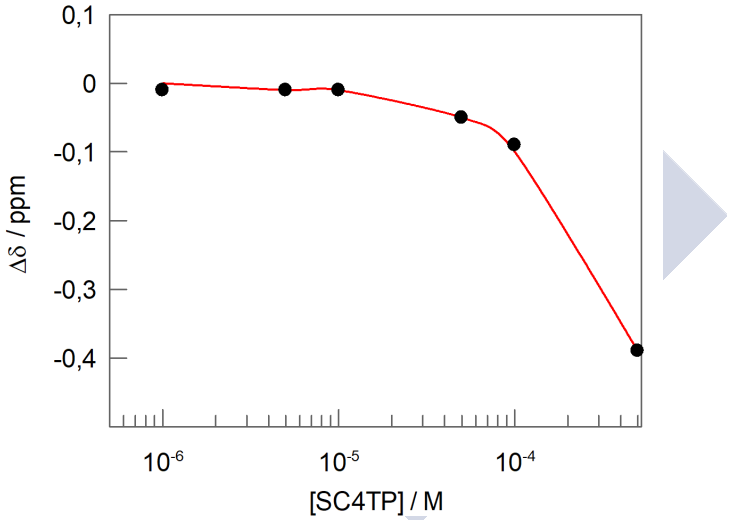


Figura 8.15. Variación del desplazamiento químico (Δδ) en los espectros de ^{1}H RMN para el grupo trimetilamonio del **C_8TAB** (5×10^{-5} M) frente a la concentración de **SC4TP**. La línea representa el mejor ajuste de los datos experimentales a un modelo de complejación 1:1.

La Figura 8.14 muestra el experimento de titulación de ^{1}H RMN en el cual, a una muestra de concentración fija de **C_8TAB**, se le fueron añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **SC4TP**. Como puede observarse, la única señal afectada notablemente (marcada con un asterisco) por la presencia de calixareno es la correspondiente a los protones de los grupos trimetilamonio de la cabeza del surfactante. Si bien es de esperar que, en presencia de moléculas huésped cargadas positivamente la formación de complejos sea dominada por el establecimiento de pares iónicos entre los grupos sulfonato del calixareno y el grupo cargado del huésped,[45] el resultado del experimento, teniendo en cuenta lo que sucede entre diferentes sales de alquiltrimetilamonio y otros calixarenos análogos,[33] sugiere que la complejación del surfactante por el calixareno tiene lugar por el portal inferior del macrociclo, en la cual los grupos O-propilo parecen

desempeñar un importante papel en la estabilización del huésped, presumiblemente a través de interacciones tipo ion-dipolo entre los electrones no enlazantes del oxígeno y la carga positiva del grupo amonio. El ajuste no lineal de la variación del desplazamiento químico de los protones del grupo de cabeza del surfactante frente a la concentración de calixareno a un modelo de complejación de estequiometría 1:1 (Figura 8.15, ver apéndice 8.5.4) determinó una constante de asociación entre especies de K= (700±0.2) M^{-1}, confirmando la formación de un complejo de inclusión más o menos estable.

8.3.3.7 SURFACTANTE SUPRAMOLECULAR: SC4TP + C_6TAB

En la Figura 8.16 se muestra como varía la relación I_1/I_3 del pireno en función de la concentración de un surfactante catiónico convencional, el bromuro de hexiltrimetilamonio (**C_6TAB**), en presencia de 1 mM de **SC4TP** en el medio. A través de las medidas de fluorescencia se determinó una CMC para el sistema mixto de aproximadamente 8.1×10^{-3} M, lo que supone un descenso de alrededor de 124 veces respecto al valor de la misma para el surfactante puro, 0.99 M.[44]

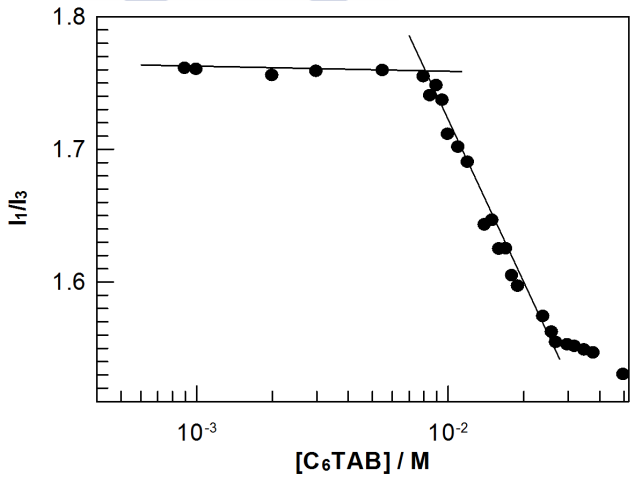


Figura 8.16. Influencia de la concentración del **C_6TAB** en el cociente I_1/I_3 en presencia de 1 mM de **SC4TP**. [pireno]= 1×10^{-6} M. T=25 ºC.

La Figura 8.17 recopila los valores de la concentración micelar crítica de los diferentes bromuros de alquiltrimetilamonio estudiados, así como la disminución de la misma por la adición al medio de **SC4TP** en una concentración fija de 1 mM. Como puede verse, el efecto aumenta con la longitud de cadena hasta 14 carbonos, a partir de la cual comienza a disminuir paulatinamente. Además, teniendo en cuenta que la pendiente de la representación de la CMC frente al número de carbonos puede utilizarse como una medida del efecto hidrofóbico y, dada la similaridad entre ambas pendientes, también puede decirse que la disminución de la CMC del sistema mixto respecto a la de los surfactantes catiónicos puros proviene principalmente de un efecto electrostático.

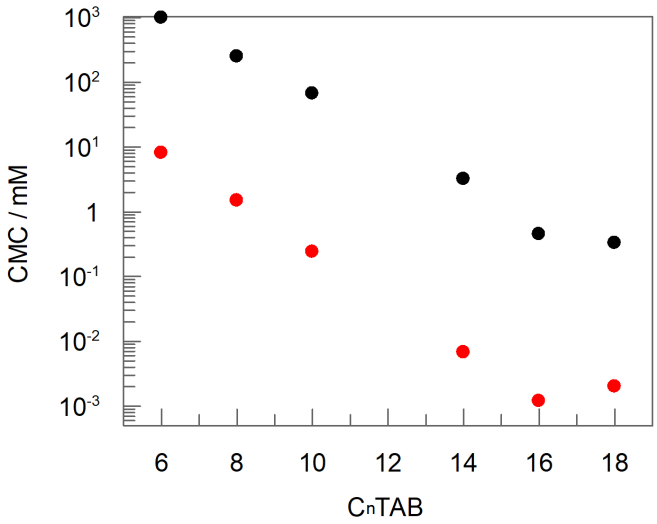


Figura 8.17. Concentración micelar crítica de bromuros de alquiltrimetilamonio de diferente longitud de cadena en ausencia (negro) y en presencia de 1 mM de **SC4TP** (rojo).

8.4 CONCLUSIONES

Se ha estudiado la agregación de surfactantes supramoleculares compuestos por diferentes surfactantes catiónicos convencionales y un sulfonatocalix[4]areno. El estudio de los sistemas mixtos, formados por la mezcla del calixareno y de bromuros de alquiltrimetilamonio con diferente longitud de cadena, indica que se forma un complejo de inclusión entre las especies con diferentes propiedades anfifílicas y una mayor tendencia para agregarse, llegando a obtener concentraciones micelares críticas de hasta más de 470 veces inferior a la del surfactante convencional. Un aspecto interesante es el hecho de que la CMC del surfactante supramolecular sea prácticamente independiente de la concentración de calixareno y que la disminución de la CMC provenga principalmente de un efecto electrostático.

8.5 APÉNDICE

8.5.1 Síntesis y caracterización del SC4TP

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolvente deuterado (D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente, D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova (MestReLab Research Inc.).

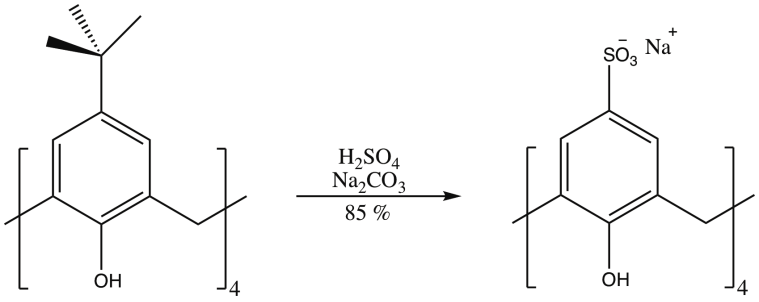
Los espectros de masas, ESI-TOF de alta resolución se realizaron en un espectrómetro Bruker Microtof con analizador lineal.

La termogravimetría se realizó, por duplicado, a muestras de 4.5 miligramos del **SC4TP** en un termogravímetro TGA Q5000.

La técnica de espectrometría de masas se llevó a cabo en el Centro de Apoyo Científico y Tecnológico de la Universidad de Santiago de Compostela (CACTUS).

Para la síntesis del **SC4TP** se siguió una versión modificada del método descrito por el grupo de Seiji Shinkai.[26]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



1 2

Sobre 150 mL de H_2SO_4 se añadió **1** (21.33 g, 33 mmol). La mezcla se agitó a 80 ºC durante 4 horas. Para cerciorarse de que la reacción había finalizado, se comprobó que una alícuota de la mezcla se disolvía en agua. Una vez enfriada a temperatura ambiente, la mezcla se filtró en placa. El sólido resultante se disolvió en metanol y se precipitó de nuevo con acetato de etilo. Una vez filtrado, el sólido seco (la forma ácida del SC4) se disolvió en agua (pH≈2-3) para la posterior neutralización mediante adiciones de pequeñas cantidades de Na_2CO_3 (hasta pH≈7-8). Posteriormente, a la disolución se le añadió carbón activo, se filtró a través de celita y se evaporó a sequedad para volver a precipitar el producto con metanol. Después del filtrado, la sal de sodio del calixareno se recristalizó 3 veces en una mezcla metanol-agua para obtener **2** (23.36 g, 28.05 mmol) como un sólido blanco en un rendimiento del 85 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 7.56 (s, 8H); 4.01 (s, 8H).

ESI-TOF-MS: *m/z* $[C_{28}H_{20}Na_3O_{16}S_4]^-$ 808.9330 (calculado 808.9332); $[C_{28}H_{21}Na_2O_{16}S_4]^-$ 786.9502 (calculado 786.9513).

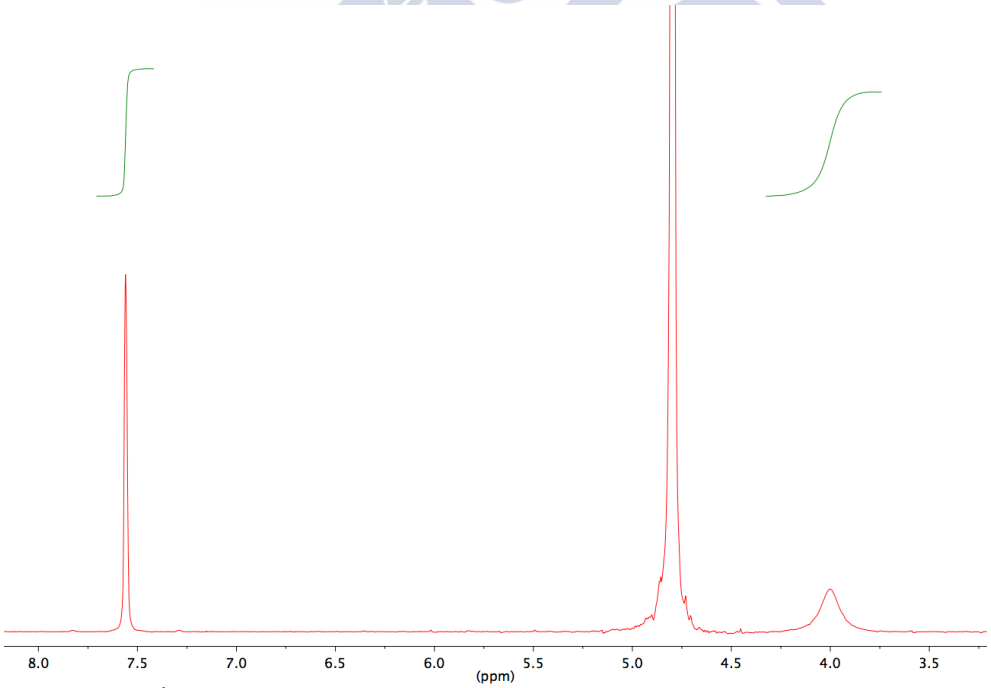


Figura A.8.1. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **2**.

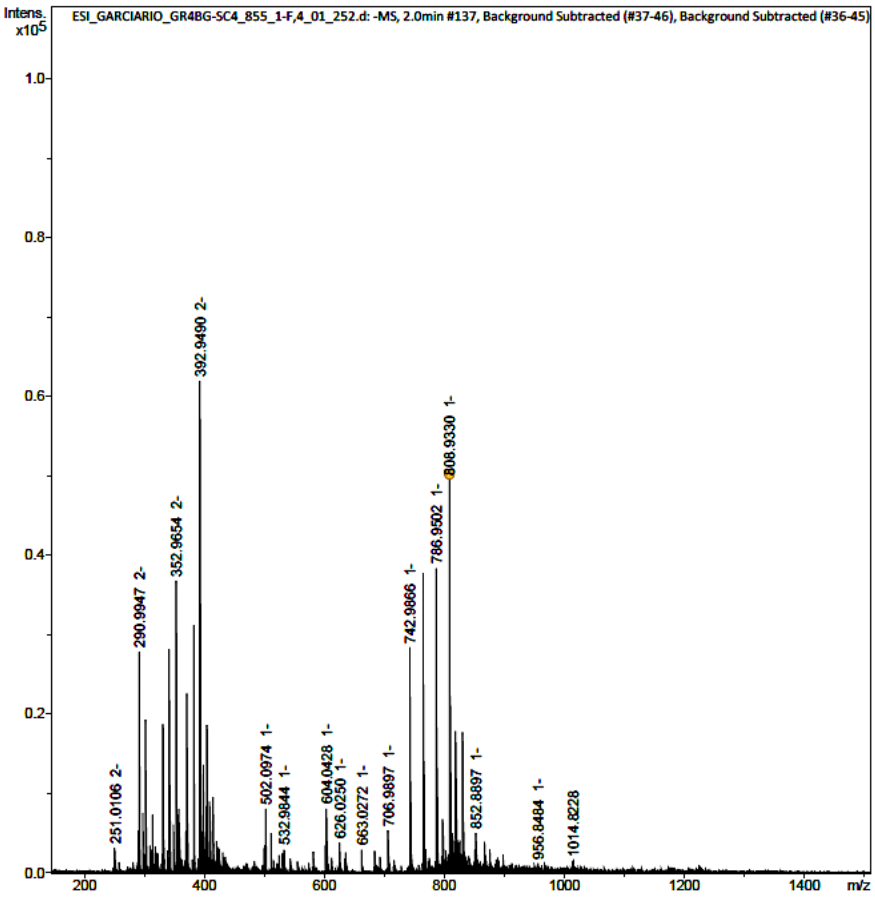
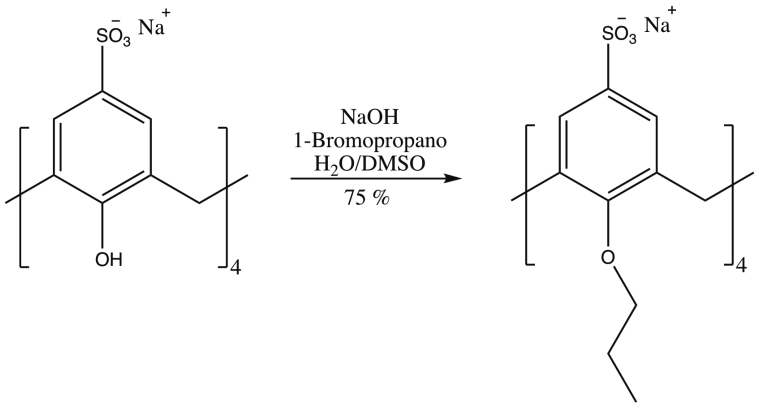


Figura A.8.2. Espectro ESI-MS obtenido para el compuesto **2**.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



2 SC4TP

En 45 mL de agua se preparó una mezcla de 2 (5.01 g, 5.8 mmol) y NaOH (7.03 g, 178.8 mmol). Posteriormente, bajo agitación, sobre la mezcla se añadió, gota a gota, una disolución de 1-Bromopropano (22.42 g, 182.3 mmol) en 185 mL de DMSO. La mezcla resultante se agitó a 50 ºC. La reacción se monitorizó por ^{1}H RMN, añadiendo NaOH (1.5 g, 37.5 mmol) y la cantidad equivalente de 1-Bromopropano (4.9 g, 3.8 mmol) cada 24 horas hasta la completa alquilación. Una vez enfriada a temperatura ambiente, el producto se precipitó con etanol. El filtrado se recogió por filtración, se disolvió en agua y se precipitó de nuevo con etanol. La operación se repitió tres veces para obtener el SC4TP (4.35 g, 4.35 mmol) como un sólido blanco en un 75 % de rendimiento.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 7.35 (s, 8H); 4.61 (d, *J*=13.1, 4H); 4.04 (t, *J*=7.6, 18H); 3.47 (d, *J*=13.2, 4H); 2.04 (c, *J*=7.5, 8H); 1.04 (t, *J*=7.3, 12H).

ESI-TOF-MS: *m/z* $[C_{40}H_{46}NaO_{16}S_4]^-$ 933.1578 (calculado 933.1572).

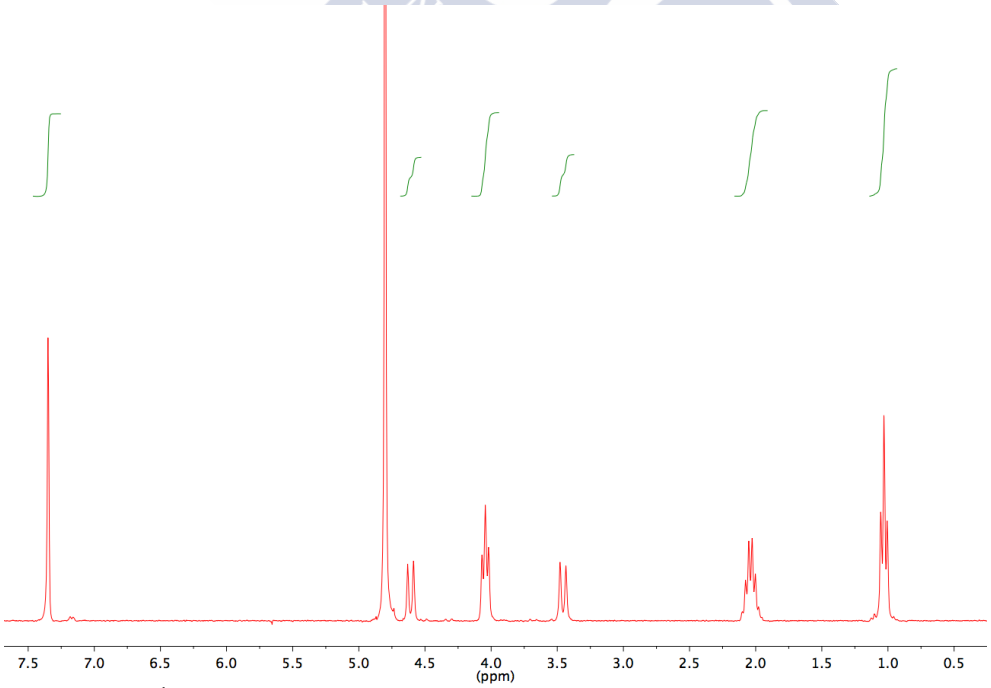


Figura A.8.3. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el **SC4TP**.

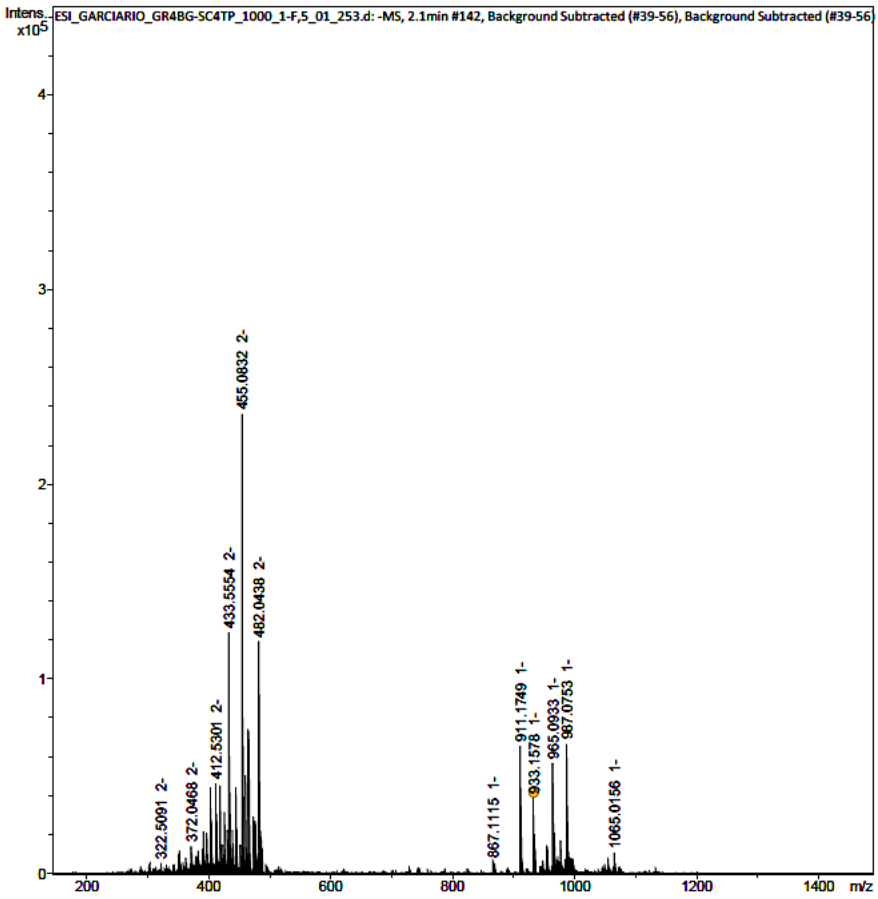


Figura A.8.4. Espectro ESI-MS obtenido para el **SC4TP**.

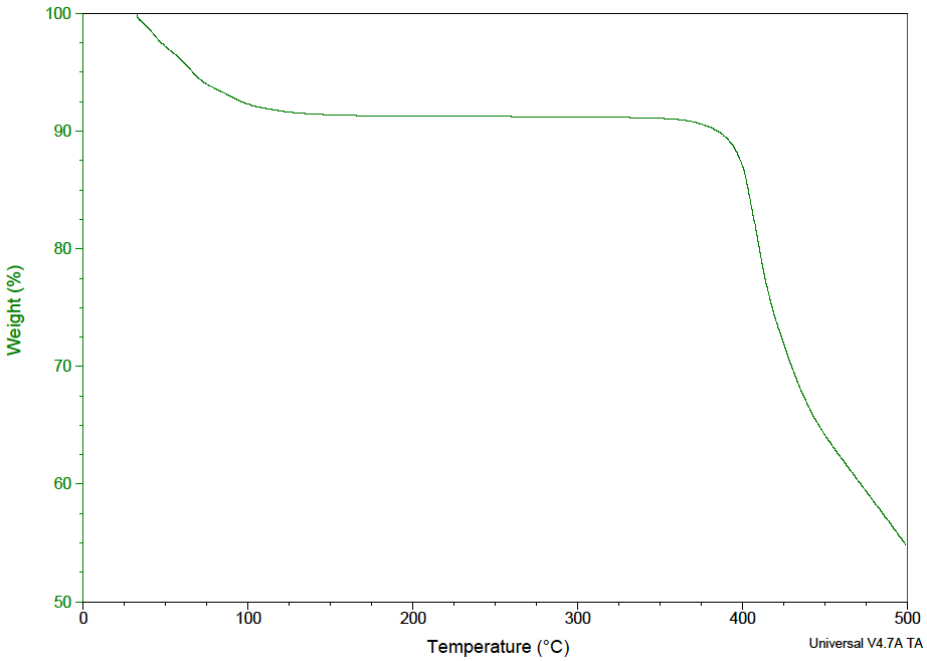


Figura A.8.5. Variación del peso en función de la temperatura para una muestra de **SC4TP**.

8.5.2 Espectro UV-Visible del SC4TP

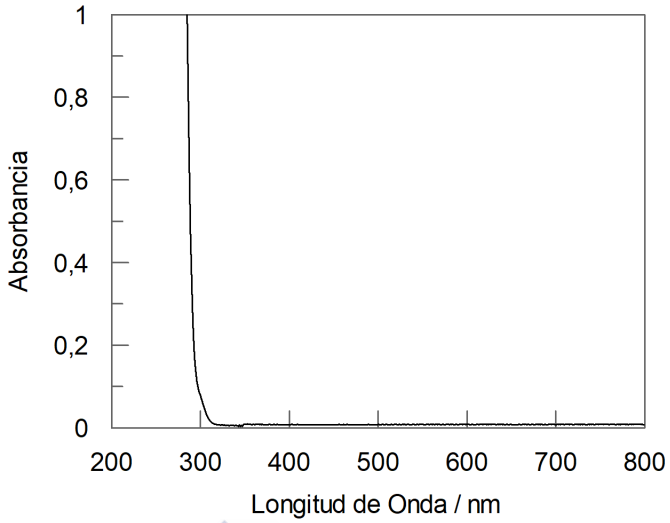


Figura A.8.6. Espectro de absorción UV-Visible del **SC4TP** (1 mM) en H_2= a 25 ºC.

8.5.3 Determinación de la CMC del C_{12}TAB por medidas de conductividad

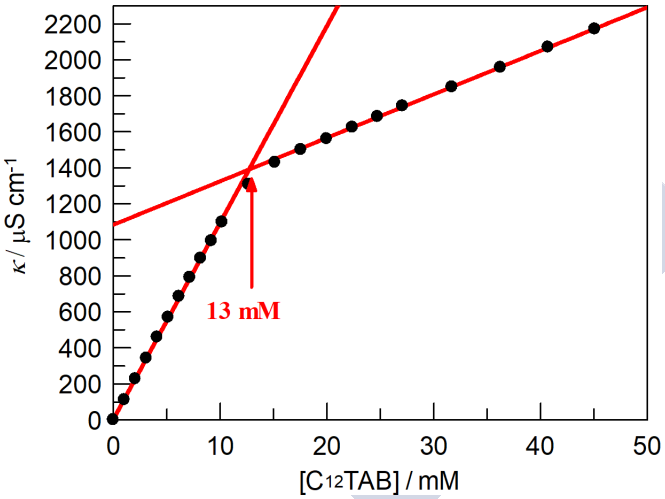


Figura A.8.7. Conductividad (*k*) del C12TAB en función de su concentración. T=25 ºC. El error de los datos es inferior al 1%.

8.5.4 Modelo de complejación 1:1

El modelo utilizado se basa en el supuesto de que se forma un complejo de estequiometría 1:1 entre el **SC4TP** (H) y el **C_8TAB** (G):

$$H + G \underset{}{\overset{K}{\rightleftharpoons}} HG$$

Esquema A.8.1

La constante de equilibrio del proceso vendrá dada por:

$$K = \frac{[HG]}{[H][G]} \tag{A.8.1}$$

Y los balances de materia por:

$$[H]_T = [H] + [HG] \tag{A.8.2}$$

$$[G]_T = [G] + [HG] \tag{A.8.3}$$

Combinando las ecuaciones (A.8.1), (A.8.2) y (A.8.3) se llega a la ecuación de segundo orden (A.8.4) que permite obtener la concentración de surfactante libre:

$$K[G]^2 + [1 + K([H]_T - [G]_T)][G] - [G]_T = 0 \tag{A.8.4}$$

La variación del desplazamiento químico del grupo de cabeza del surfactante se ajustó a la ecuación (A.8.5) (modelo matemático[46] basado en la formación de complejos *host-guest* 1:1):

$$\Delta\delta = \Delta\delta_G^C \left(\frac{K[H]}{1 + K[H]}\right) \tag{A.8.5}$$

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Nau, W. M. *Nature Chem.* **2010**, *2*, 248-250.

(2) Ostro, M. J.; Cullis, P. R. *Am. J. Hosp. Pharm.* **1989**, *46*, 1576-587.

(3) Westmoreland, Jr., P. G.; Day, R. A.; Underwood, A. L. *Anal. Chem.* **1972**, *44*, 737-740.

(4) Izatt, R. M.; Lamb, J. D.; Hawkins, R. T.; Brown, P. R.; Izatt, S. R.; Christsen, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 1782-1785.

(5) Shinkai, S.; Nakamura, S.; Tachiki, S.; Kajiyama, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3363-3365.

(6) Hoshino, K.; Saji, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5881-5883.

(7) Rosslee, C. A.; Abbott, N. L.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4808-4814.

(8) Ringsdorf, H.; Schlarb, B.; Venzmer, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 113-158.

(9) Orihara, Y.; Matsumura, A.; Saito, Y.; Ogawa, N.; Saji, T.; Yamaguchi, A.; Sakai, H.; Abe, M.; *Langmuir* **2001**, *17*, 6072-6076.

(10) Perret, F.; Lazar, A. N.; Coleman, A. W. *Chem. Commun.* **2006**, 2425-2438.

(11) Coleman, A. W.; Jebors, S.; Cecillon, S.; Perret, P.; Garin, D.; Marti-Battle, D.; Moulin, M. *New J. Chem.* **2008**, *32*, 780-782.

(12) Wang, K.; Guo, D.-S.; Zhang, H.-Q.; Li, D.; Zheng, X.-L.; Liu, Y. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6402-6412.

(13) Uzunova, V. D.; Cullinane, C.; Brix, K.; Nau, W. M.; Day, A. I. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2037-2042.

(14) Stella, V. J.; Rajewski, R. A. *Pharm. Res.* **1997**, *14*, 556-567.

(15) Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045-2076.

(16) Jeon, Y. J.; Bharadwaj, P. K.; Choi, S. W.; Lee, J. W.; Kim, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4474-4476.

(17) Jing, B.; Chen, X.; Wang, X.; Yang, C.; Xie, Y.; Qiu, H. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9137-9142.

(18) Zeng, J.; Shi, K.; Zhang, Y.; Sun, X.; Zhang, B. *Chem. Commun.* **2008**, 3753-3755.

(19) Basílio, N.; García-Río, L. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9315-9319.

(20) Bize, C.; Garrigues, J.-C.; Blanzat, M.; Rico-Lattes, I.; Bistri, O.; Colasson, B.; Reinaud, O. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 586-588.

(21) Wang, K.; Guo, D.-G.; Liu, Y. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 8006-8011.

(22) Francisco, V.; Basílio, N.; García- Río, L.; Leis, J. R.; Marques, E. F.; Vázquez-Vázquez, C. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6551-6553.

(23) Zhang, H.; Zhao, Y. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16862-16879.

(24) Böhmer, V. *Angew. Chemie Int. Ed.* **1995**, *34*, 713-745.

(25) Shinkai, S.; Mori, S.; Tsubaki, T.; Sone, T.; Manabe, O. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5315-5318.

(26) Shinkai, S.; Mori, S.; Koreishi, H.; Tsubaki, T.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2409-2416.

(27) Arimori, S.; Nagasaki, T.; Shinkai, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1995**, 679-683.

(28) Strobel, M.; Kita-Tokarczyk, K.; Taubert, A.; Vebert, C.; Heiney, P. A.; Chami, M.; Meier, W. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 252-259.

(29) Lee, M.; Lee, S.-J.; Jiang, L.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12724-12725.

(30) Houmadi, S.; Coquière, D.; Legrand, L.; Fauré, M. C.; Goldmam, M.; Reinaud, O.; Rémita, S. *Langmuir* **2007**, *23*, 4849-4855.

(31) Consoli, G. M. L.; Granata, G.; Lo Nigro, R.; Malandrino, G.; Geraci, C. *Langmuir* **2008**, *24*, 6194-6200.

(32) Sansone, F.; Dudič, M.; Donofrio, G.; Rivetti, C.; Baldini, L.; Casnati, A.; Cellai, S.; Ungaro, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14528-14536.

(33) Basílio, N.; Martín-Pastor, M.; García-Río, L. *Langmuir* **2012**, *28*, 6561-6568.

(34) Basílio, N.; García-Río, L. *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 2368-2376.

(35) Basílio, N.; Gómez, B.; García-Río, L.; Francisco, V. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 4570-4576.

(36) Basílio, N.; Gómez, B.; García-Río, L. *Langmuir* **2017**, *33*, 13008-13013.

(37) Domínguez, A.; Fernández, A.; González, N.; Iglesias, E.; Montenegro, L. *J. Chem. Educ.* **1997**, *74*, 1227-1231.

(38) Evans, H. C. *J. Chem. Soc.* **1956**, 579-586.

(39) Zana, R. *J. Colloid Interface Sci.* **1980**, *78*, 330-337.

(40) Sugihara, G.; Nakamura, A. A.; Nakashima, T. H.; Araki, Y. I.; Okano, T.; Fujiwara, M. *Colloid Polym. Sci.* **1997**, *275*, 790-796.

(41) K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. L. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution* Ed: John Wiley & Sons, Chichester, **2002**.

(42) Kalyanasundaram, K.; Thomas, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2039-2044.

(43) Jiang, L.; Deng, M.; Wang, Y.; Liang, D.; Yan, Y.; Huang, J. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 7498-7504.

(44) Rosen, M. J. *Surfactants and Interfacial Phenomena* Ed: John Wiley & Sons, Hoboken, **2004**.

(45) Castro, R.; Godínez, L. A.; Criss, C. M.; Kaifer, A. E. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4928-4935.

(46) Connors, K. A. *Binding Constants. The Measurements of Molecular Complex*

Stability Ed: John Wiley & Sons, New York, **1987**.

CAPÍTULO 9

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO 9

9. FORMACIÓN DE COMPLEJOS *HOST-GUEST* DERIVADOS DE UN PILAR[6]ARENO SOLUBLE EN AGUA

9.1 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la química supramolecular está siendo ampliamente estudiada con el objetivo de desarrollar sistemas sofisticados como máquinas moleculares, polímeros supramoleculares, geles supramoleculares y otros sistemas supramoleculares funcionales a partir de diferentes "piezas fundamentales" basadas en interacciones no covalentes como el reconocimiento molecular, la auto-replicación y la auto-organización, entre otros.[1–11] Por esta razón, la preparación de nuevos receptores macrocíclicos es de vital importancia al ser una de las mayores fuerzas conductoras para acelerar y desarrollar la química supramolecular,[12–18] así como para abrir nuevas oportunidades en ciencia de materiales.[19–29]

A la familia formada por las cuatro clases más importantes de receptores macrocíclicos, esto es, éteres corona,[29–36] ciclodextrinas,[37–43] calixarenos[44–46] y cucurbiturilos,[19,47–50] se unió en el año 2008 una nueva, denominada pilar[n]arenos (con *n*=5-15), formada por macrociclos obtenidos mediante la condensación de unidades de 1,4-dialcoxibenceno unidas entre sí en posición *para* a través de puentes metileno.[51] Debido a su estructura rígida y simétrica en forma de pilar, los pilararenos exhiben habilidades de asociación únicas hacia diferentes *guests* orgánicos y muestran fascinantes propiedades en la preparación de quimiosensores, polímeros supramoleculares y otros interesantes sistemas supramoleculares.[52–58] Sin embargo, aunque puede decirse que la química *host-guest* de los pilar[5]arenos ya ha sido ampliamente estudiada, en comparación, el número de trabajos dedicados al estudio de las propiedades receptoras de los pilar[6]arenos es muy inferior, seguramente debido a la mayor dificultad que supone su obtención.

El primer pilar[6]areno fue obtenido por Meier, Cao *et al*.[59] en el año 2009 utilizando cloroformo como disolvente (el disolvente utilizado es un factor clave en la síntesis selectiva de pilararenos), pero en un bajo rendimiento (≈ 11 %) incluso bajo condiciones de reacción optimizadas. Tras varios estudios sobre la síntesis de los hexámeros cíclicos, recientemente se llegaron a obtener pilar[6]arenos de manera selectiva en un rendimiento de hasta el 87 %.[60]

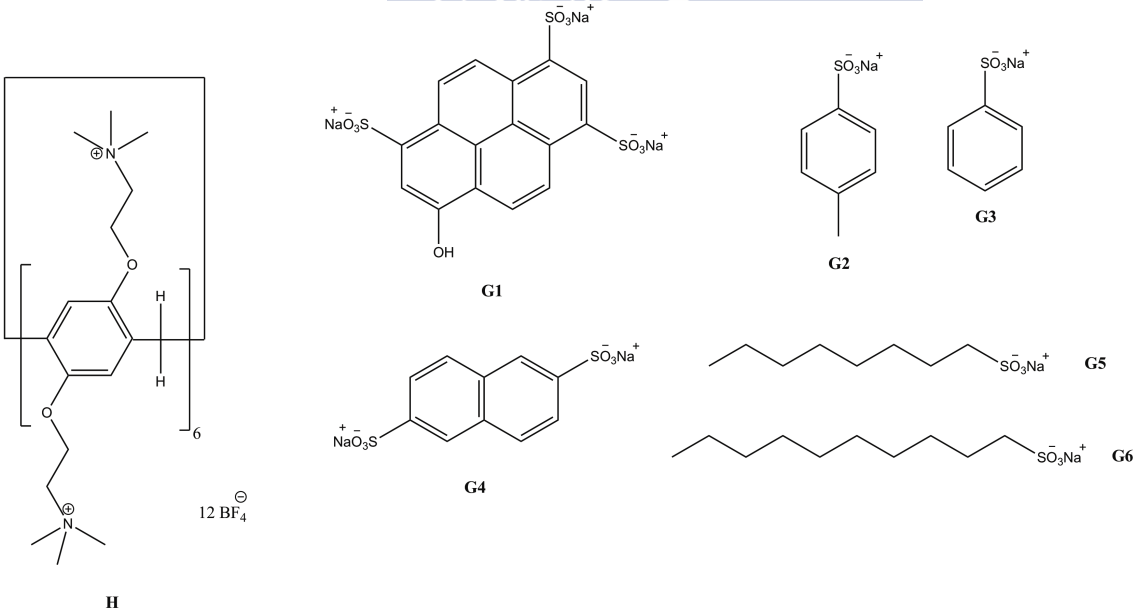
Evidentemente, el mayor tamaño de la cavidad de un pilar[6]areno (≈ 7.5 Å)[59] comparado con la de un pilar[5]areno (≈ 5.0 Å) debería dar lugar a nuevos materiales supramoleculares funcionales que no pueden obtenerse utilizando el pentámero cíclico.

Debido a que la mayoría de los procesos biológicos ocurren en medio acuoso, serán más interesante aquellos receptores macrocíclicos que puedan utilizarse en agua. Los pilar[6]arenos solubles en agua pueden obtenerse utilizando la misma metodología que

para la síntesis de pilar[5]arenos solubles en agua, de tal forma que la introducción en el macrociclo de sustituyentes solubles en agua (catiónicos, aniónicos o no iónicos) permite solubilizar los pilar[6]arenos en medio acuoso. Así, el primer pilar[6]areno soluble en agua fue sintetizado en el año 2012 por Huang *et al.* mediante la introducción de doce grupos carboxilato en el macrociclo.[61] Se encontró que el receptor macrocíclico puede capturar eficientemente al *paraquat* en agua con una constante de asociación (K= $(1.02\pm0.10)\times10^8$ M^{-1})[62] mucho mayor que la obtenida utilizando su análogo de cinco unidades aromáticas (K= $(8.20\pm1.70)\times10^4$ M^{-1})[63] debido a la mejor complementariedad de tamaños existente entre la cavidad del pilar[6]areno y el grupo 4,4´- bipiridinio (≈ 6.3 Å). Asimismo, se mostró que dicho pilar[6]areno aniónico forma complejos *host-guest* estables con otras moléculas catiónicas derivadas del piridinio con constantes de asociación del orden de 10^5 M^{-1}.[61,64,65]

A diferencia de lo que ocurre con los pilar[6]arenos cargados negativamente, en la bibliografía existe un abanico más amplio sobre la síntesis y estudio de pilar[6]arenos catiónicos solubles en agua. En el año 2013 Li *et al.* mostraron la síntesis de un pilar[6]areno catiónico soluble en agua a través de la funcionalización del macrociclo con grupos piridinio, además de la eficiente complejación entre el receptor y derivados aniónicos del naftalensulfonato.[66] Más tarde se obtuvieron diferentes análogos de pilar[6]arenos catiónicos solubles en agua mediante la funcionalización con, por ejemplo, grupos amonio e imidazolio, los cuales pueden utilizarse para formar diferentes complejos *host-guest*, agregados micelares o en la síntesis de nanopartículas de plata.[67–69]

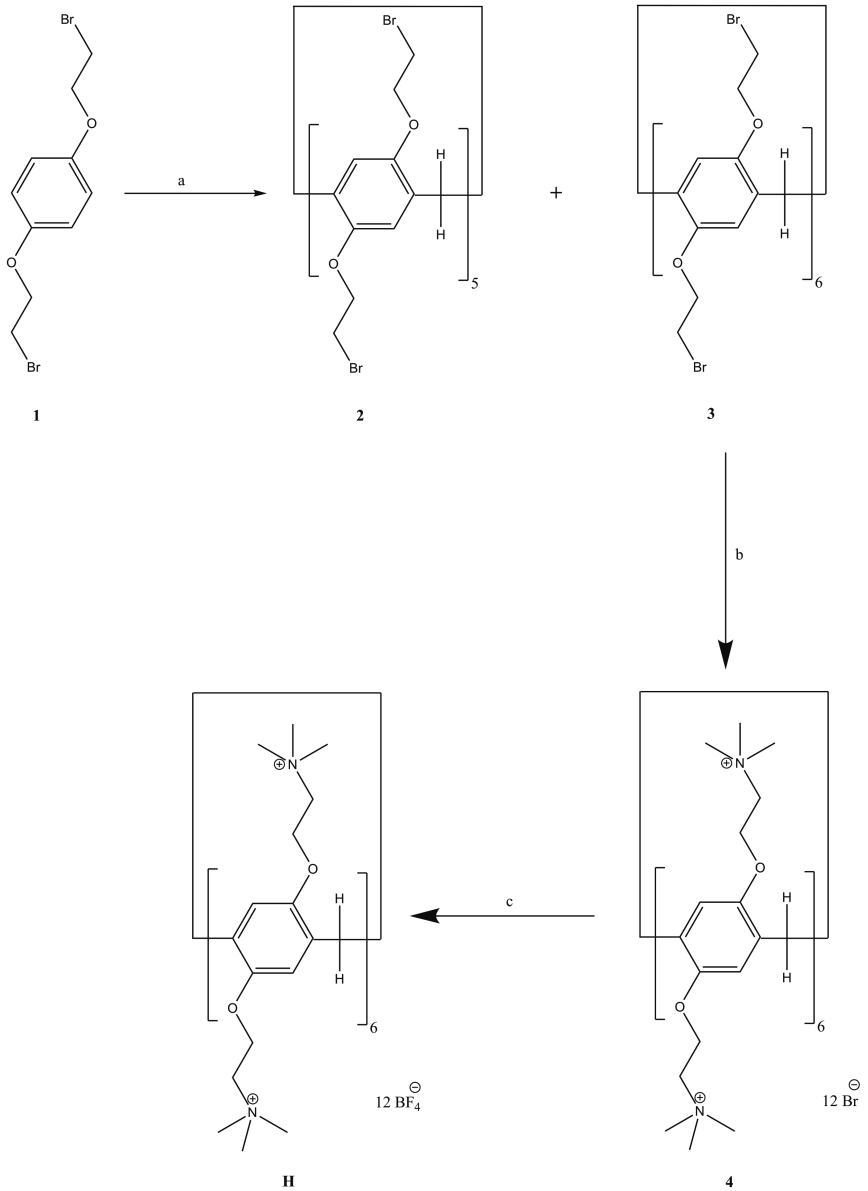
De esta forma, en este capítulo se muestra la formación en medio acuoso de diferentes complejos *host-guest* entre un pilar[6]areno catiónico funcionalizado con grupos trimetilamonio (**H**) y diferentes huéspedes orgánicos: piranina (**G1**), *p*-toluensulfonato sódico (**G2**), bencenosulfonato sódico (**G3**), 2,6-naftalendisulfonato sódico (**G4**), octanosulfonato sódico (**G5**) y decanosulfonato sódico (**G6**) (Esquema 9.1).



Esquema 9.1

9.2 MÉTODO EXPERIMENTAL

Preparación de reactivos y compuestos. La ruta sintética para la obtención de **H** se muestra en el Esquema 9.2. La metodología y la caracterización detallada se muestra en el apéndice 9.5.1.



Esquema 9.2

Espectroscopía de RMN. Los espectros de RMN fueron adquiridos a 25 ºC en espectrómetros Varian Inova 500 (para el protón) y Varian Inova 300 (para el flúor) equipados con sondas de detección inversa $^{1}H/X$ de 5 mm con gradiente Z. Dichos experimentos fueron procesados con el *software MestReNova* (*MestReLab Research Inc.*).

Los espectros de difusión de ^{1}H y de ^{19}F se obtuvieron de forma independiente. Para el ^{1}H, mediante experimentos de doble eco de spin estimulado con pulsos de gradiente bipolares (DBPPSTE),[70] aplicando pulsos de gradientes (G) rectangulares cuya potencia fue incrementada linealmente desde 4 hasta 130 G cm^{-1} en 20 pasos. Mientras que para el ^{19}F se usaron experimentos de eco de spin simple estimulado (Doneshot),[71] también con pulsos de gradientes rectangulares e incrementos lineales de potencia desde 2 hasta

18 G cm^{-1} en 20 pasos. La duración del gradiente de campo pulsado (δ) para codificar y descodificar la difusión fue de 1.6 ms para los experimentos de ^{1}H y de 2 ms para los de ^{19}F. El tiempo de difusión (Δ) fue optimizado a 50 ms en el caso del ^{1}H y a 300 ms para el ^{19}F, teniendo en cuenta que el Δ óptimo para determinar coeficientes de difusión (D) con la mayor precisión es aquel con el que la intensidad de señal de RMN decae hasta aproximadamente el 5% de su valor en ausencia de gradiente de campo. La fuerza absoluta del gradiente fue calibrada utilizando una muestra de difusión conocida como referencia. Para el calibrado de los experimentos de ^{1}H, se utilizó una muestra de D_2O 99 % a 25 ºC ($D = 1.87\times10^{-5}$ cm^2 s^{-1})[72] y para el calibrado de los experimentos de ^{19}F una disolución de NaF 0.3 mM preparada en H_2O con 10 % de D_2O a 25 ºC ($D = 1.37\times10^{-5}$ cm^2 s^{-1}).[73] Tal y como se esperaba, los valores obtenidos para la calibración de los gradientes fueron los mismos en un intervalo de error menor al 1 %.

Microcalorimetría. Las titulaciones calorimétricas han sido realizadas en un microcalorímetro isotérmico de titulación VP-ITC (MicroCal, Inc.) a presión atmosférica y a 25 ºC. Previamente a la toma de medidas, todas las disoluciones a utilizar fueron desgasificadas en un sistema ThermoVac (MicroCal, Inc.). En cada experimento, la jeringa de inyección (0.270 mL de capacidad) se llenó con una disolución de *guest* que luego fue añadida secuencialmente y bajo agitación constante (459 rpm) a la celda de muestra que contenía la disolución de *host* (1.459 mL). En todos los experimentos, la celda de referencia fue enrasada con agua Milli Q desgasificada. El número de inyecciones, su volumen y el tiempo de espaciado entre cada una se varió según el experimento. Para calcular la constante de complejación de los sistemas (*K*), se utilizó el *software* AFFINIMETER partiendo de la curva de valoración. Además, el primer punto de cada experimento fue eliminado de la curva de titulación antes de realizar el ajuste, debido al probable goteo resultante de tener la jeringa agitando en la celda un largo periodo de tiempo antes de la primera inyección, proporcionando un efecto calorífico menor al que debería haber tenido.

Espectroscopía de fluorescencia. Todas las medidas de fluorescencia se realizaron en disoluciones acuosas en cubetas de cuarzo de 1 cm^2 utilizando un fluorímetro Varian Cary Eclipse equipado con un portacubetas múltiple termostatizado a una temperatura constante de 25 ºC. Los experimentos de fluorescencia con piranina se realizaron en presencia de tampón que asegurase la forma desprotonada de la sonda.[74] Los ajustes de los datos experimentales se realizaron con el *software* DynaFit.

Dispersión dinámica de luz. Las medidas de DLS se realizaron en el laboratorio del grupo de Química Física Ambiental. El tamaño y la carga de los agregados se determinaron con un analizador Malvern Zetasizer Nano ZS90 a 25 ºC en un ángulo de dispersión de 90º utilizando dispersión dinámica de luz. Los datos experimentales se procesaron con el propio *software* de Malvern. Las disoluciones utilizadas para la preparación de las muestras se filtraron previamente a través de un filtro de 0.45 μm.

9.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.3.1 COMPLEJACIÓN DEL CONTRAIÓN

Antes de abordar el estudio con *guests* externos, se decidió analizar las interacciones que tienen lugar entre **H** y sus contraiones tetrafluoroborato.

La complejación de iones inorgánicos es un aspecto interesante a estudiar debido a la posibilidad de aplicar los pilararenos a la construcción de quimiosensores que complejen y extraigan iones metálicos en disolución acuosa.

En medios acuosos, el estudio de la complejación de iones por macrociclos tiene especial importante ya que, normalmente, éstos van a estar presentes como contraiones de los propios macrociclos y, además, en los estudios de este tipo de compuestos se suelen utilizar disoluciones tampón que constituyen una fuente adicional de iones.

Como se muestra a lo largo de esta tesis, los pilar[5]arenos poseen una alta capacidad para asociarse a sus propios contraiones. Por esta razón, la complejación del anión tetrafluoroborato (BF_4^-) por parte de **H** debe tenerse en cuenta a la hora de estudiar la formación de un complejo de inclusión, pues el contraión competirá con las otras especies huésped en los procesos de complejación. De esta forma, en primer lugar se estudió la complejación del BF_4^- con **H** a partir de medidas de coeficientes de difusión del pilar[6]areno y sus contraiones determinadas por resonancia magnética nuclear de protón y flúor.

La difusiometría de RMN o DOSY (del inglés *Diffusion Ordered NMR SpectroscopY*) es una técnica que permite determinar los coeficientes de difusión de una o varias especies en disolución a partir de sus señales en el espectro de RMN. Como a partir del coeficiente de difusión (D) se puede obtener información valiosa acerca del tamaño y forma de moléculas y/o agregados, la técnica de DOSY tiene cada vez mayor aplicación en química supramolecular.[75]

Para investigar la complejación de los aniones BF_4^- con **H** se adquirieron espectros DOSY de ^{1}H y de ^{19}F a diferentes concentraciones de macrociclo. Para obtener el coeficiente de difusión, D, se adquiere un espectro pseudo-2D en el que se incrementa linealmente la potencia del gradiente en 20 sub-espectros 1D. Una vez procesados, el valor de D se obtiene mediante el ajuste no lineal del decaimiento de la integral o la intensidad (I) de una determinada señal del espectro a la conocida como ecuación de Stejkal-Tanner (9.1), en donde γ es la constante giromagnética del núcleo observado.

$$\frac{I}{I_0} = exp\left[-D\gamma^2 G^2 \partial^2 \left(\Delta - \frac{\partial}{3}\right)\right] \qquad (9.1)$$

En todos los experimentos se obtuvieron buenos ajustes del decaimiento de la integral de la señal a la ecuación (9.1). A modo de ejemplo, en la Figura 9.1 se muestran los valores experimentales obtenidos para el decaimiento de las integrales de la señal de ^{1}H (izquierda) y de ^{19}F (derecha) en función de la potencia del gradiente y sus respectivos ajustes para una muestra de **H** de concentración 1 mM en D_2O a 25 ºC.

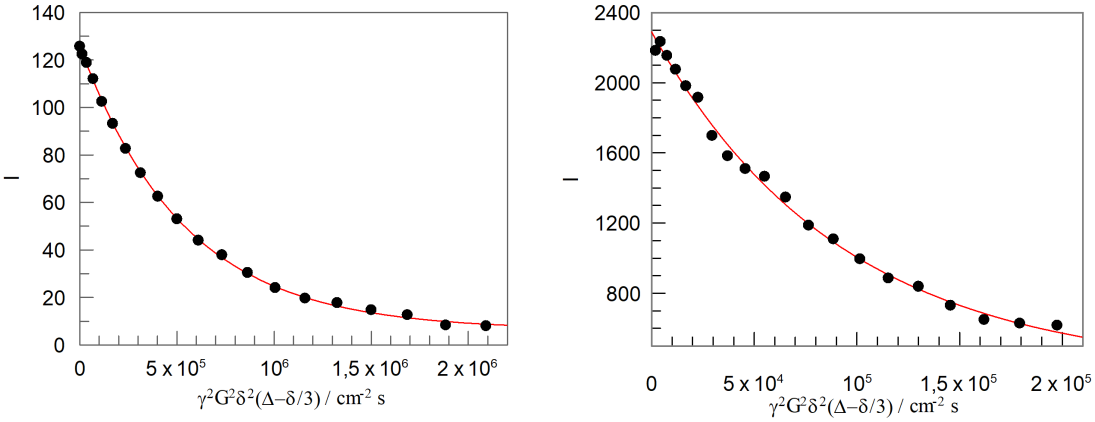


Figura 9.1. Decaimiento de la integral para la señal de ^{1}H (izquierda) y de ^{19}F (derecha) en una muestra de **H** 1 mM en D_2O a 25 ºC. La línea roja representa el mejor ajuste a la ecuación (9.1).

De esta forma, se determinaron los coeficientes de difusión para **H** y sus contraiones BF_4^- a distintas concentraciones. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 9.2. En primer lugar, puede observarse que el coeficiente de difusión del anión BF_4^- en el KBF_4 (línea discontinua) es independiente de la concentración de sal en el rango estudiado ($D_{BF_4}^{KBF_4} = 1.68 \times 10^{-5}\ cm^2 s^{-1}$), lo que sugiere que no habrá un cambio significativo en la viscosidad de las disoluciones estudiadas en este rango de concentraciones.

Para saber si el BF_4^- se asocia a **H**, se determinó el coeficiente de difusión del macrociclo por ^{1}H DOSY y el coeficiente de difusión de los contraiones BF_4^- por ^{19}F DOSY en disoluciones de diferentes concentraciones de pilarareno. Por lo tanto, en estas condiciones, todos los aniones BF_4^- presentes en la disolución serán los provenientes de la disociación del macrociclo. De acuerdo con la estequiometría de **H**, la concentración de aniones total debe de ser 12 veces mayor que la de pilarareno.

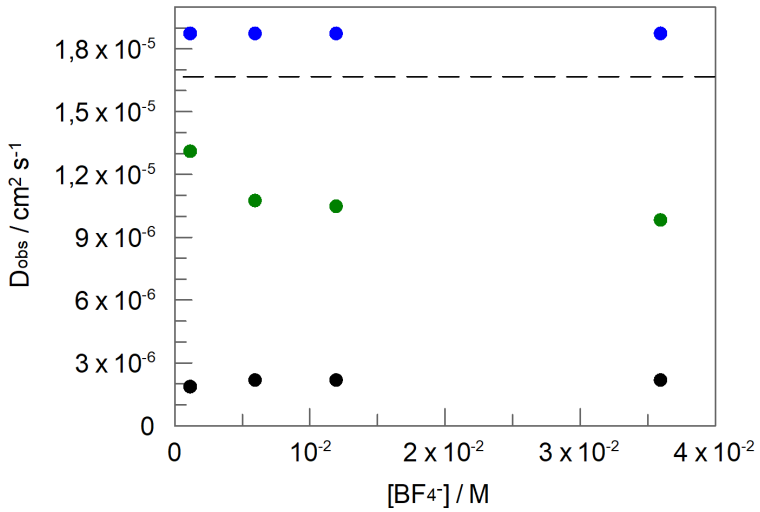


Figura 9.2. Coeficientes de difusión observados en diferentes disoluciones de **H** para los iones BF_4^- (verde) y para los respectivos pilararenos (negro). A efectos visuales se muestra también el coeficiente de difusión del agua (azul) y del anión libre (línea discontinua). Todas las medidas fueron efectuadas en D_2O a 25 ºC.

Como puede observarse, cuando se analizan los valores obtenidos para el coeficiente de difusión de los contraiones BF_4^- en las disoluciones de **H**, $D_{BF_4}^{H}$ (puntos verdes), y se comparan con los valores obtenidos para la sal KBF_4, se observa que los primeros son

siempre inferiores al valor del anión libre, evidenciando así que los aniones BF_4^- se asocian al pilarareno.

Por último, se puede ver que el coeficiente de difusión obtenido para el macrociclo (puntos negros) permanece prácticamente constante ($D_H^H \approx 2.15 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$) en el rango de concentraciones estudiado, indicando que éste no sufre alteraciones significativas de tamaño, forma o peso molecular "efectivo".

Una de las principales ventajas de los experimentos de DOSY para estudios de sistemas *host-guest* es que permiten determinar la fracción de especies complejadas sin necesidad de recurrir a estudios sistemáticos en los que se varíe la concentración. Si se asume que la formación de complejos entre **H** y el BF_4^- es rápida en la escala de tiempo de RMN, el coeficiente de difusión observado para el BF_4^- en presencia de **H** y en ausencia de sales externas, $(D_{BF_4}^H)_{\text{obs}}$ viene dado por la fracción de aniones BF_4^- que se encuentran libres, $\chi_{BF_4}^{libre}$, multiplicada por su coeficientes de difusión, $D_{BF_4}^{KBF_4}$, más la fracción de los aniones asociados al pilarareno, $\chi_{BF_4}^{asoc}$, multiplicada por el coeficiente de difusión del anión BF_4^- cuando se encuentra asociado al macrociclo, $D_H^{H-BF_4}$.Teniendo en cuenta que la suma de las fracciones molares es igual a 1. La ecuación quedaría como:

$$(D_{BF_4}^H)_{obs} = (1 - \chi_{BF_4}^{asoc}) D_{BF_4}^{KBF_4} + \chi_{BF_4}^{asoc} D_H^{H-BF_4} \tag{9.2}$$

Si se considera que el radio hidrodinámico del pilarareno no cambia al complejar el anión BF_4^-, puede asumirse que $D_H^{H-BF_4} = D_H^H$, por lo que la fracción de BF_4^- complejada ($\chi_{BF_4}^{asoc}$) puede ser fácilmente calculada como:

$$\chi_{BF_4}^{asoc} = \frac{(D_{BF_4}^H)_{obs} - D_{BF_4}^{KBF_4}}{D_H^H - D_{BF_4}^{KBF_4}} \tag{9.3}$$

Teniendo en cuenta el valor para el coeficiente de difusión del anión libre ($D_{BF_4}^{KBF_4} = 1.68 \times 10^{-5}\ cm^2 s^{-1}$) y el del macrociclo ($D_H^H = 2.15 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$), se calculó conforme a la ecuación (9.3) la fracción molar de BF_4^- complejada.

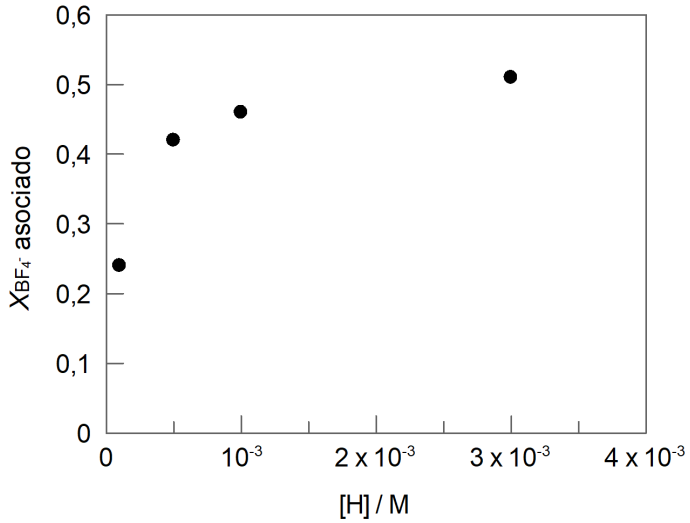


Figura 9.3. Evolución de la fracción de contraiones complejados en función de la concentración de pilarareno.

Los resultados obtenidos indican que el pilarareno forma complejos con el anión tetrafluoroborato. Además, como puede observarse, los valores calculados de $\chi_{BF_4}^{asoc}$ demuestran una marcada tendencia (Figura 9.3) a aumentar con la concentración de **H**,

concluyendo que el macrociclo puede acomodar aproximadamente hasta 6 de los contraiones en su cavidad. Cabe mencionar que este importante cambio en la fracción de contraiones asociados está determinado por el hecho de la estequiometria 1:12 del pilarareno, lo que significa que cuando se dobla la concentración de macrociclo, se está multiplicando por 24 la concentración de contraiones. Estos resultados están de acuerdo con lo esperado para un proceso de formación de complejos *host-guest*.

9.3.2 COMPLEJACIÓN CON G1 Y G2

Teniendo en cuenta que en el rango de concentraciones en el cual se realizan los estudios *host-guest* el macrociclo **H** tiene asociados aproximadamente la mitad de sus contraiones, en primer lugar se decidió estudiar si la complejación de un *guest* externo por el pilarareno es un proceso simple de intercambio o si pudiese existir la posibilidad de otras estequiometrías para el sistema (complejos ternarios). Para comprobarlo, se realizaron experimentos DOSY de ^{1}H y de ^{19}F a disoluciones de concentración constante de **H** a las cuales se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **G2**.

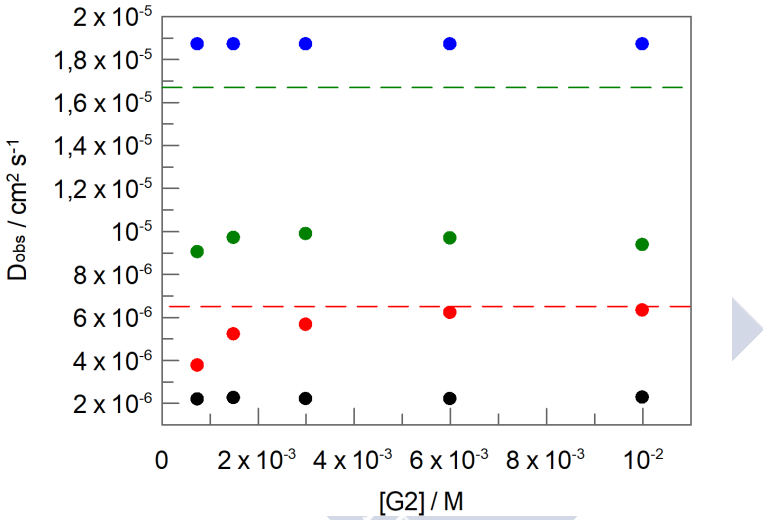


Figura 9.4. Coeficientes de difusión observados en disoluciones de **H** (1.5 mM) con diferentes concentraciones de **G2**, para los iones BF_4^- (verde), los respectivos pilararenos (negro) y el *guest* añadido (rojo). A efectos visuales se muestra también el coeficiente de difusión del agua (azul) y de los contraiones y **G2** libres (línea verde y roja, respectivamente). Todas las medidas se realizaron en D_2O a 25 ºC.

La Figura 9.4 muestra el resultado gráfico del experimento. En primer lugar, puede observarse que el coeficiente de difusión obtenido para **H** con la adición de **G2** permanece prácticamente inalterado ($D_H^H = 2.15 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$). Por otro lado, el coeficiente de difusión de **G2** está cercano al del pilarareno a bajas concentraciones de *guest*, lo que indica que cierta fracción del mismo se asocia al pilarareno, y posteriormente éste va aumentando conforme se aumenta la concentración de **G2** hasta llegar a alcanzar el valor de la especie libre ($6.40 \times 10^{-6}\ cm^2 s^{-1}$). Finalmente, en cuanto al coeficiente de difusión del anión BF_4^-, y en contra de lo que sucede cuando un experimento similar se realiza con el pilar[5]areno (ver capítulo 2), sólo se percibe un ligero ascenso entre 0.75 y 1.5 mM de **G2** que impide determinar con certeza si realmente hay un proceso de intercambio iónico entre el contraión y el *guest* (Figura 9.5). La fracción molar de **G2** asociado a **H** calculada conforme a la ecuación (9.3) indica que, cuando la concentración de *guest* es inferior a la de macrociclo, aproximadamente el 60 % de **G2** se compleja con

el pilarareno, sin embargo, dicho porcentaje desciende bruscamente cuando se aumenta la concentración de huésped.

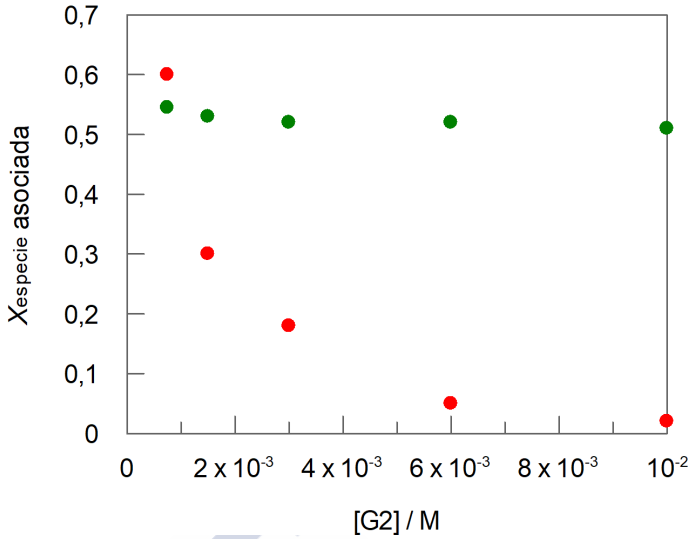


Figura 9.5. Evolución de la fracción de contraiones BF_4^- (verde) y **G2** (rojo) complejados en función de la concentración de **G2** para disoluciones de **H** (1.5 mM). Datos obtenidos utilizando la ecuación (9.3).

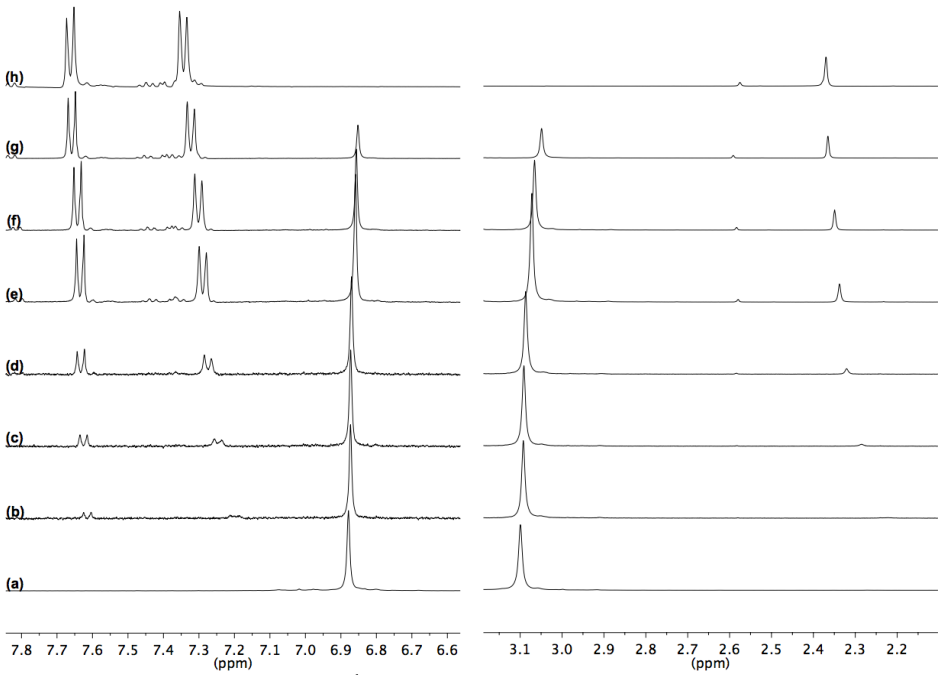


Figura 9.6. Parte de los espectros de RMN de ^{1}H de **H** (1.5 mM) con mayores cantidades de **G2** en D_2O a 25 ºC: (a) 0, (b) 0.75, (c) 1.5, (d) 3, (e) 6, (f) 10 y (g) 25 mM. El espectro (h) se corresponde con **G2** libre.

La Figura 9.6 muestra parte de los espectros de la valoración por RMN de protón cuando, a una muestra de concentración fija de **H** (1.5 mM), se le añadieron sucesivamente mayores cantidades de **G2** (los espectros completos se muestran en el apéndice 9.5.2). En primer lugar, cabe comentar que las señales del huésped libre y complejado aparecen promediadas, indicando que el intercambio entre las dos especies es rápido en la escala de tiempo de RMN. Como puede observarse, cuando a una disolución de **H** se le añade **G2**, las señales de los protones del *guest* se desplazan ligeramente hacia campo alto. Además, se encontró que la variación del desplazamiento químico ($\Delta\delta$) es la misma para los protones del grupo metilo que para los protones en *meta* al grupo sulfonato (-0.1 ppm) y superior a la de los protones en *orto* a la carga

negativa ($\Delta\delta$= -0.03 ppm). Debido a la rígida cavidad tridimensional rica en electrones π que posee **H**, puede deducirse que los primeros son los que se sitúan en dicha cavidad y sufren un mayor efecto de las corrientes electrónicas de los anillos aromáticos del macrociclo (probablemente interacciones $\pi\cdots\pi$ y C-H$\cdots\pi$). Consecuentemente, es razonable pensar que el grupo aniónico sulfonato del *guest* quedaría situado de tal forma que podría sufrir interacciones electrostáticas con los grupos catiónicos trimetilamonio del *host*, estabilizando así la formación del complejo de inclusión.[76,77]

También cabe comentar que, curiosamente, los valores de $\Delta\delta$ obtenidos para **G2** tras la complejación con **H** son muy inferiores a los encontrados cuando el experimento se realiza utilizando el macrociclo análogo de 5 unidades aromáticas ($\Delta\delta$ (metilo)= -3 ppm, ver capítulo 2).[78] No obstante, desplazamientos químicos de 0.1 y 0.2 ppm también pueden encontrarse en la bibliografía sobre estudios de complejación *host*-guest de pilar[6]arenos similares.[67,79,80] Este suceso quizá pueda explicarse teniendo en cuenta el mayor tamaño de la cavidad del pilar[6]areno, de tal forma que, si el *guest* se incluye centrado en la cavidad aromática, éste quedaría situado más alejado de las unidades aromáticas en el caso del pilar[6]areno que en el del pilar[5]areno, dando lugar así a una menor perturbación electrónica al utilizar **H**. Con todo, valores de $\Delta\delta$= -0.1 ppm son típicos en complejos de inclusión formados con ciclodextrinas o cucurbiturilos.[81–85]

Finalmente, en cuanto a los protones del macrociclo, como consecuencia de la formación del complejo *host-guest* también puede observarse un ligero desplazamiento a campo alto de los protones aromáticos y de los correspondientes a los grupos trimetilamonio de las zonas de reconocimiento.

Para obtener información acerca de la estequiometría y la fortaleza de unión del complejo formado se recurrió a la técnica de ITC. La valoración microcalorimétrica (Figura 9.7) dio lugar a un calor de reacción aparente como causa de la formación de un complejo *host-guest* entre ambas especies. Sorprendentemente, sólo se obtuvo un buen ajuste de los datos calorimétricos al utilizar un modelo que considerase la asociación de cuatro moléculas de **G2** por cada molécula de macrociclo **H** (el fallo de los ajustes considerando estequiometrías inferiores se muestran en el apéndice 9.5.3). Además, los altos valores obtenidos para las constantes de asociación (Tabla 9.1) evidencian la alta afinidad entre las especies.

Tabla 9.1. Constantes de asociación obtenidas por ITC de la complejación de **G2** con **H** en agua y a 25 ºC.

Complejo	***K*** **(M^{-1})**
1:1	$(3.97 \pm 0.20)\times10^{7}$
1:2	$(6.77 \pm 0.30)\times10^{8}$
1:3	$(9.58 \pm 0.10)\times10^{8}$
1:4	$(5.75 \pm 0.01)\times10^{7}$

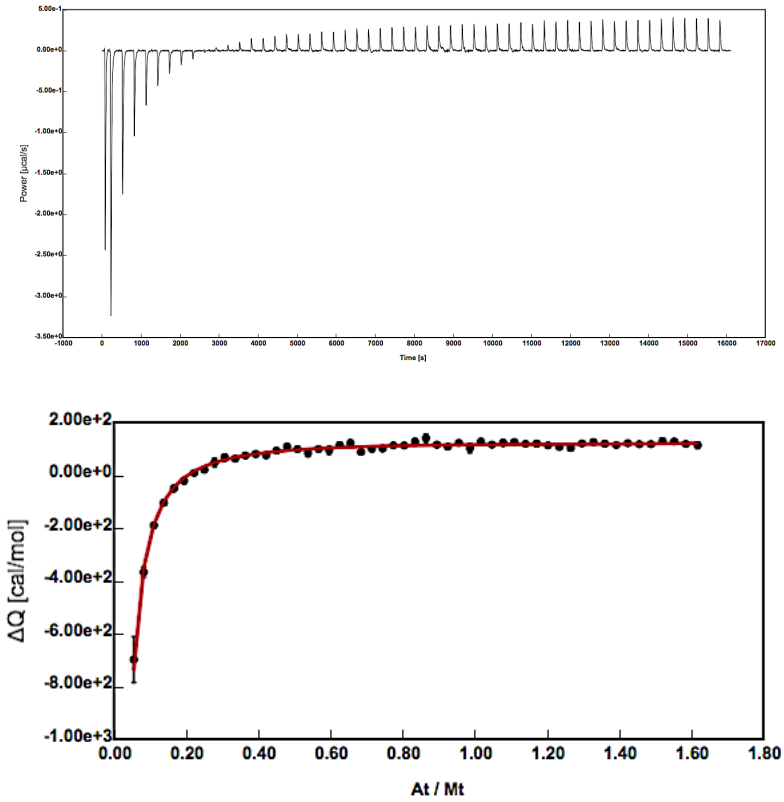


Figura 9.7. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G2** en agua a 25 ºC. Resultados para 54 inyecciones secuenciales (5 µL por inyección) de una disolución de **G2** (24 mM) sobre una disolución de **H** (3 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba). El ajuste de los datos se realizó considerando un modelo que contempla la formación de complejos con estequiometría 1:4.

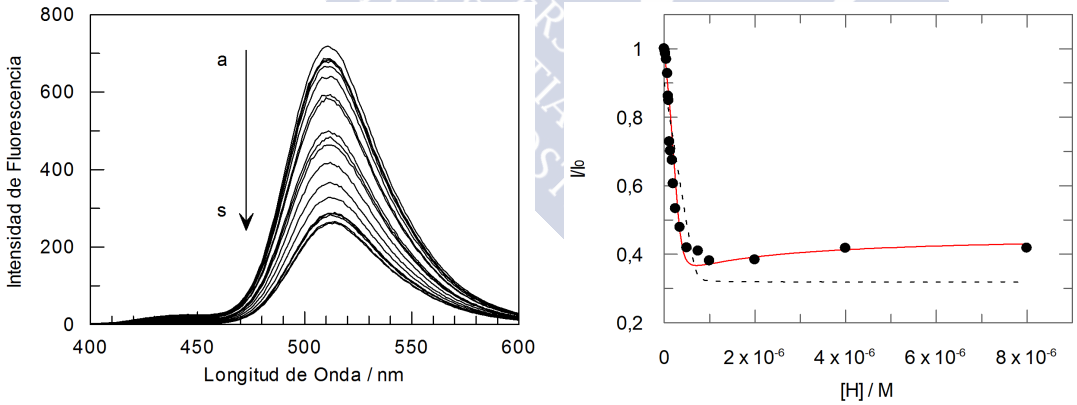


Figura 9.8. Izquierda: Porción del espectro de emisión de fluorescencia de **G1** (7×10^{-7} M) con diferentes concentraciones de **H** (desde a= 0M hasta s= 8×10^{-6} M) en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}= 385 nm. Derecha: Influencia de la concentración de **H** en la intensidad relativa de fluorescencia (a 510 nm) de **G1**. Las líneas representan los ajustes no lineales a los modelos de complejación 1:1 (negro) y 1:2 (rojo).

Debido al carácter fluorescente de la piranina (**G1**), se decidió estudiar la afinidad de **H** hacia dicha sonda a través de medidas de fluorescencia. Así, se encontró que la adición del receptor a una disolución de *guest* consigue *quenchear* eficientemente la banda de emisión de **G1**, localizada alrededor de los 510 nm (excitación a 385 nm), como consecuencia de su inclusión en la cavidad del pilarareno. Para determinar las constantes de asociación entre **H** y **G1** se realizaron medidas de fluorescencia a muestras de concentración fija de *guest* ([G1]= 7×10^{-7} M) a las cuales se le fue añadiendo

sucesivamente mayores cantidades de pilarareno (Figura 9.8-izquierda). El ajuste no lineal de los resultados obtenidos no a un modelo de complejación 1:2 (Figura 9.8-derecha) proporciona un valor de $K_{1:1}$= (1.9±0.2)×10^7 M^{-1} y de $K_{1:2}$= (4.0±0.4)×10^7 M^{-1} para la complejación de la primera y de la segunda molécula de **G1**, respectivamente, evidenciando cierto efecto cooperativo positivo en la formación de los complejos. De esta forma, los altos valores obtenidos para las constantes de complejación muestran la excelente capacidad de **H** para actuar como receptor de aniones en disolución acuosa.

Para chequear la complejación de **G1** y **G2** con **H** se realizó, a través de medidas de fluorescencia, un experimento de complejación competitivo en el cual a una muestra de complejo **H**:**G1** con estequiometría 1:2 se le fue añadiendo sucesivamente mayores cantidades de **G2** con el objetivo de monitorizar la regeneración de la fluorescencia causada por la expulsión de la piranina (**G1**) al medio cuando tiene lugar la formación del complejo *host-guest* entre **H** y el *p*-toluensulfonato sódico (**G2**) (Figura 9.9-izquierda). La Figura 9.9-derecha muestra el ajuste de los datos a un modelo que considera inicialmente la formación del complejo 1:2 entre **H** y **G1** y posteriormente la del complejo 1:4 entre **H** y **G2** utilizando las constantes de equilibrio obtenidas previamente por las medidas de fluorescencia y de ITC. Como puede observarse, los resultados obtenidos reproducen correctamente el modelo planteado, confirmando así los obtenidos en los experimentos previos.

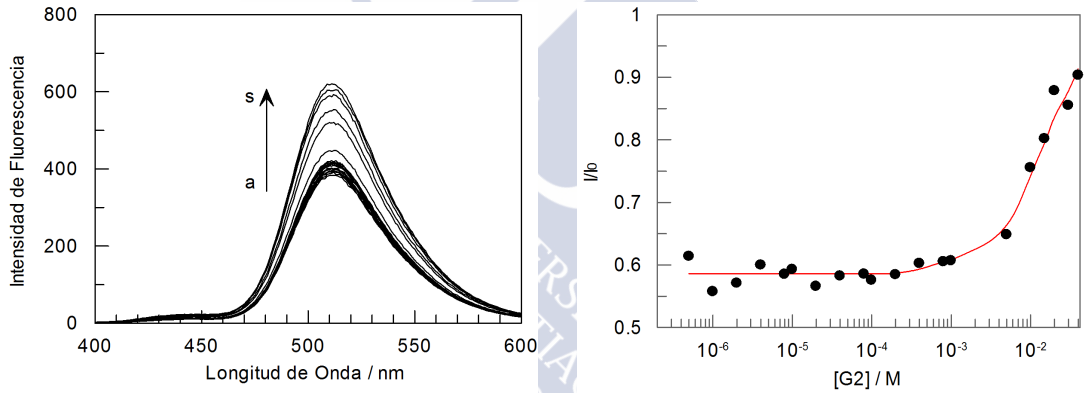


Figura 9.9. Izquierda: Porción del espectro de emisión de fluorescencia de muestras con **H** (2×10^{-7} M) y **G1** (7×10^{-7} M) con diferentes concentraciones de **G2** (desde a= 0M hasta s= 4×10^{-2} M) en disolución acuosa a 25 ºC. λ_{exc}= 385 nm. Derecha: Influencia de la concentración de **G2** en la intensidad relativa de fluorescencia (a 510 nm) de **G1**. La línea roja representa el ajuste no lineal al modelo de complejación competitivo.

9.3.3 COMPLEJACIÓN CON G3

Cuando se añade un equivalente de **H** a una disolución 1 mM de **G3**, se observa que las señales del espectro de RMN de protón de **G3** se desplazan hacia campo alto debido a las corrientes electrónicas de los anillos aromáticos del macrociclo (Figura 9.10), pues éste posee una cavidad rígida tridimensional rica en electrones π con la que el huésped puede sufrir interacciones π···π que estabilicen el complejo. De manera similar a lo que sucede cuando se utiliza **G2**, se encontró que la variación del desplazamiento químico (Δδ) es la misma para los protones en posición *para* que para los protones en *meta* al grupo sulfonato (-0.12 ppm) y superior a la de los protones en *orto* a la carga negativa (Δδ= -0.07 ppm), aunque en este caso con unos valores de Δδ algo superiores, indicando

seguramente una mayor inclusión en la cavidad del receptor macrocíclico. De esta forma, es lógico pensar que la carga negativa del sulfonato del huésped quedaría interaccionando electrostáticamente con las cargas positivas de los grupos trimetilamonio de **H**.

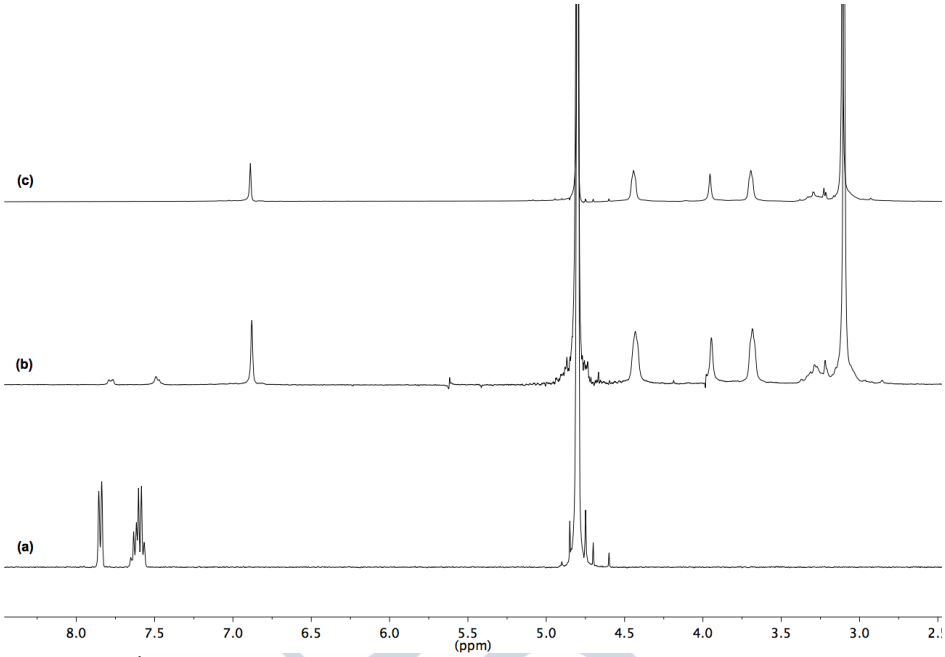


Figura 9.10. Espectros ^{1}H RMN (D_2O, 25 ºC, 300 MHz) de: (a) **G3** 1 mM, (b) **H** 1mM + **G3** 1 mM y (c) **H** 1 mM.

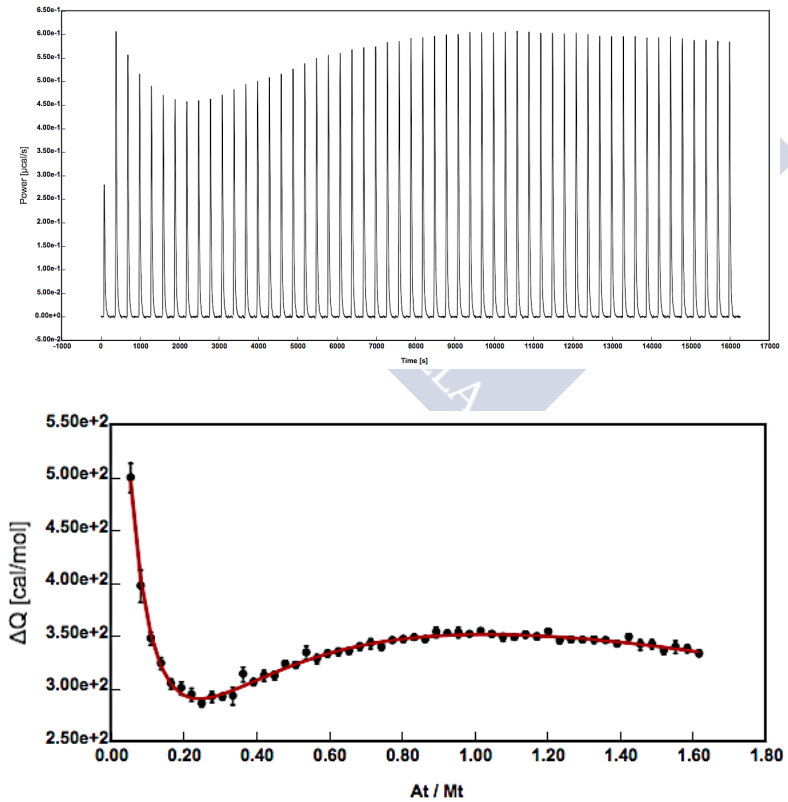


Figura 9.11. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G3** en agua a 25 ºC. Resultados para 54 inyecciones secuenciales (5 µL por inyección) de una disolución de **G3** (12 mM) sobre una disolución de **H** (1.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba). El ajuste de los datos se realizó considerando un modelo que contempla la formación de complejos con estequiometría 1:4.

Al igual que sucede cuando se utiliza el **G2**, la valoración microcalorimétrica entre **H** y **G3** sólo pudo ajustarse correctamente utilizando un modelo de complejación que considera la asociación de cuatro moléculas de *guest* por molécula de *host*. Según los resultados experimentales obtenidos, la principal diferencia en la complejación de **G2** y **G3** por **H** es que el primero es un proceso exotérmico y el segundo uno endotérmico. Con todo, los valores obtenidos para las diferentes constantes de asociación son similares y confirman la elevada afinidad del receptor hacia diferentes aniones orgánicos (Tabla 9.2).

Tabla 9.2. Constantes de asociación obtenidas por ITC de la complejación de **G3** con **H** en agua y a 25 ºC.

Complejo	K (M^{-1})
1:1	$(3.43 \pm 0.10)\times10^7$
1:2	$(9.00 \pm 1.00)\times10^7$
1:3	$(1.96 \pm 0.60)\times10^7$
1:4	$(9.97 \pm 1.00)\times10^7$

9.3.4 COMPLEJACIÓN CON G4

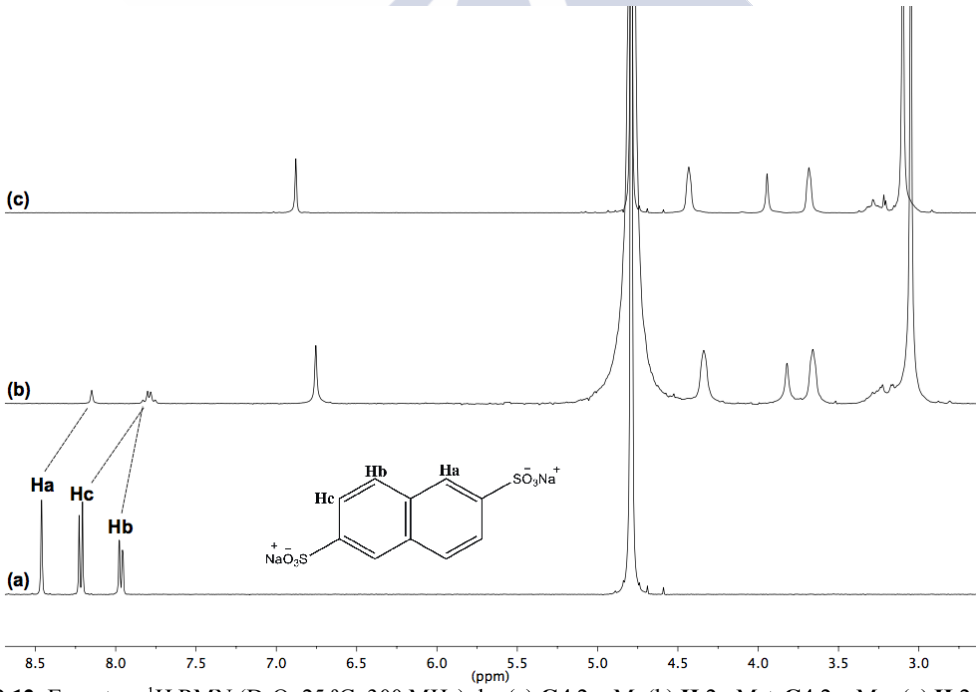


Figura 9.12. Espectros ^{1}H RMN (D_2O, 25 ºC, 300 MHz) de: (a) **G4** 2 mM, (b) **H** 2mM + **G4** 2 mM y (c) **H** 2 mM.

En la Figura 9.12 se muestra el espectro ^{1}H RMN cuando, a una disolución 2 mM de **G4**, se le añade un equivalente de **H**. A diferencia de lo que ocurre cuando se utilizan **G2** y **G3**, con los cuales el comportamiento difiere considerablemente según se utilice el pilar[5]areno o el pilar[6]areno, el proceso de complejación de **G4** con **H** parece ser muy similar al que tiene lugar entre el huésped dianiónico y el macrociclo análogo de 5 unidades aromáticas (ver capítulo 3).[86] En ambos casos, la adición de receptor

macrocíclico a una disolución de **G4** provoca un más o menos marcado desplazamiento de las señales del *guest* hacia campo alto, sin embargo, teniendo en cuenta que los grupos sulfonato de la molécula huésped seguramente son demasiado voluminosos como para adentrarse en la cavidad del receptor, es esperable que la complejación de **G4** por **H** tenga lugar de manera externa, con los *guests* situados como "tapas" en ambos portales del anfitrión macrocíclico.

Para conocer la fortaleza y la estequiometría exacta de la asociación, se realizó una valoración microcalorimétrica entre ambas especies. El resultado del experimento de ITC (Figura 9.13) confirma la predicción basada en el experimento de ^{1}H RMN, pues los datos obtenidos se ajustan perfectamente a un modelo de complejación con estequiometría 1:2 y sin embargo no sucede lo mismo cuando se intenta ajustar dichos datos a un modelo de complejación sencillo 1:1 (ver apéndice 9.5.4). Además, las constantes de asociación obtenidas para el sistema, $K_{1:1}$= (9.32±0.77)×10^3 M^{-1} y de $K_{1:2}$= (1.18±0.19)×10^4 M^{-1}, son muy inferiores que las obtenidas con los *guests* estudiados con anterioridad (**G1**, **G2** y **G3**) y por lo tanto compatibles con un modo de complejación diferente. Finalmente, también cabe comentar que, a diferencia de lo que sucede cuando se utiliza el receptor análogo de 5 unidades aromáticas, no existe un decaimiento notable de la $K_{1:2}$ con respecto a la $K_{1:1}$, seguramente debido a la mejor complementariedad de tamaños entre el *guest* dianiónico y la cavidad del receptor de 6 unidades aromáticas, que no implica grandes cambios conformacionales en el macrociclo.

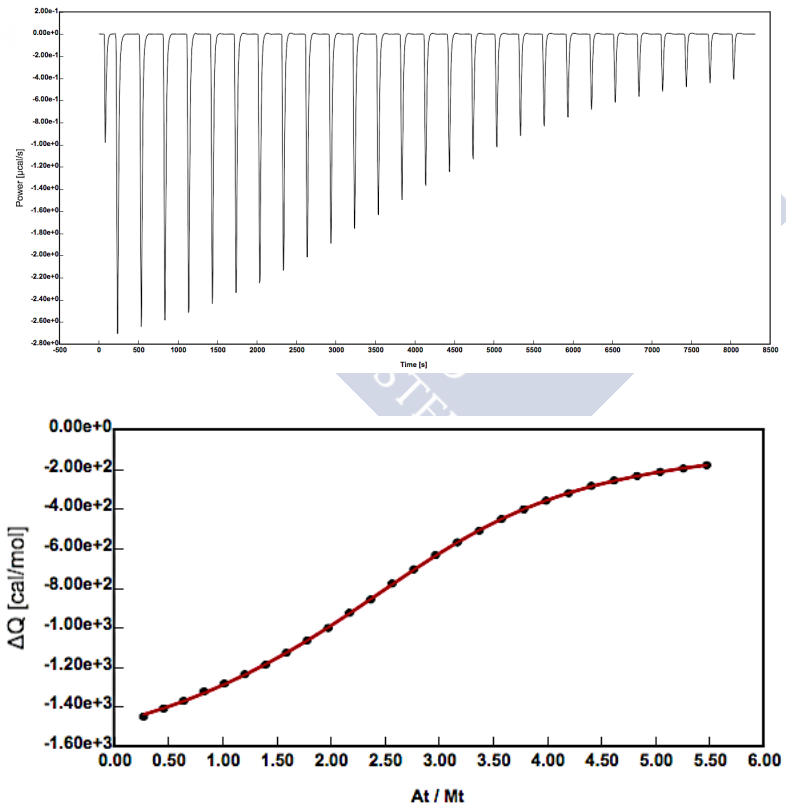


Figura 9.13. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G4** en agua a 25 ºC. Resultados para 28 inyecciones secuenciales (10 µL por inyección) de una disolución de **G4** (5.31 mM) sobre una disolución de **H** (0.2 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba). El ajuste de los datos se realizó considerando un modelo que contempla la formación de complejos con estequiometría 1:2.

9.3.5 COMPLEJACIÓN CON G5 Y G6

La Figura 9.14 muestra parte de los espectros de la valoración por RMN de protón cuando, a una muestra de concentración fija de **H** (0.1 mM), se le añadieron sucesivamente mayores cantidades de **G6**. Curiosamente, a diferencia de lo que ocurre cuando se utiliza este tipo de huésped con el pilarareno análogo de 5 unidades aromáticas (ver apéndice capítulo 3), la valoración por RMN entre **H** y **G6** no muestra el desplazamiento y desdoblamiento de las señales correspondientes a la cadena hidrocarbonada del *guest*, sugiriendo probablemente que no tiene lugar la formación de un complejo de inclusión entre ambas especies. Sin embargo, analizando las señales de los protones correspondientes al macrociclo **H**, sí puede observarse un ligero desplazamiento hacia campo alto hasta alcanzar la equimolaridad entre especies, para luego desplazarse nuevamente hacia campo bajo cuando se aumenta la concentración de **G6**, indicando que sí existe algún tipo de interacción entre el *host* y el *guest*. Teniendo en cuenta el carácter anfifílico de **G5** y **G6**,[87,88] si en la interacción con **H** la cadena hidrocarbonada de los *guests* queda situada fuera de la cavidad del macrociclo, es esperable que tenga lugar la formación de agregados mixtos formados por ambas especies.[89]

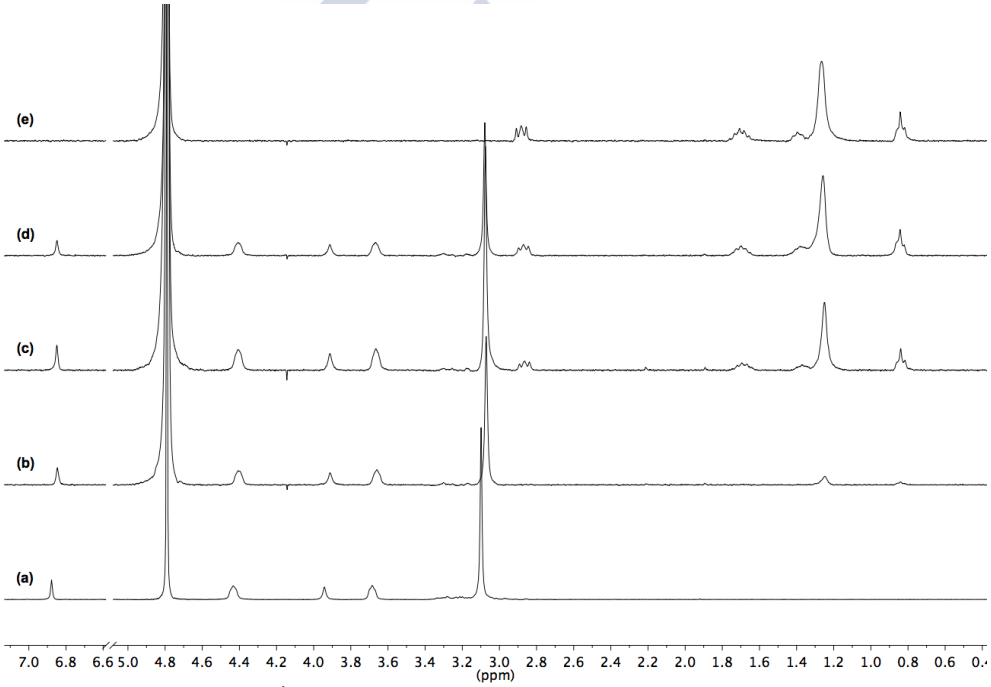


Figura 9.14. Espectros de RMN de ^{1}H de **H** (0.1 mM) con mayores cantidades de **G6** en D_2O a 25 ºC: (a) 0, (b) 0.1, (c) 0.5 y (d) 1 mM. El espectro (e) se corresponde con **G6** libre.

Cuando se realizan valoraciones microcalorimétricas entre alcanosulfonatos lineales y el receptor análogo a **H** de 5 unidades aromáticas se observa la formación de complejos de inclusión altamente estables (ver apéndice capítulo 3). Sin embargo, esto no sucede cuando se realizan experimentos ITC entre **G5** y **H**, cuyos resultados no pudieron ajustarse a modelos de complejación sencillos que consideren la asociación de una o más moléculas huésped al receptor macrocíclico (ver apéndice 9.5.5). Probablemente, el resultado que reflejan los experimentos de ITC en este caso tenga que ver simplemente con la dilución de los agregados formados y no con procesos de formación de complejos *host-guest*.

En último lugar, para obtener información acerca de los agregados, se realizaron medidas de DLS (del inglés, *Dynamic Light Scattering*) a mezclas de **H** y **G6**. En la Figura

9.15 se muestra el resultado de las medidas para determinar el diámetro hidrodinámico de los agregados. Como puede verse, se obtuvieron diámetros promedio que oscilan entre los 190 y los 290 nm según cual sea la cantidad de surfactante en el medio. Dichos tamaños son compatibles con la formación de vesículas supramoleculares.[90–92] Además, a la vista de los resultados, puede decirse que los agregados son estables y que su tamaño apenas varía con el tiempo.

Conjuntamente a las medidas de los tamaños de los agregados se realizaron también medidas de la carga superficial de los mismos (potencial Z). En todas las medidas se obtuvo un potencial positivo de aproximadamente 40 mV, sugiriendo así la formación de vesículas catanióncas con carga superficial positiva.

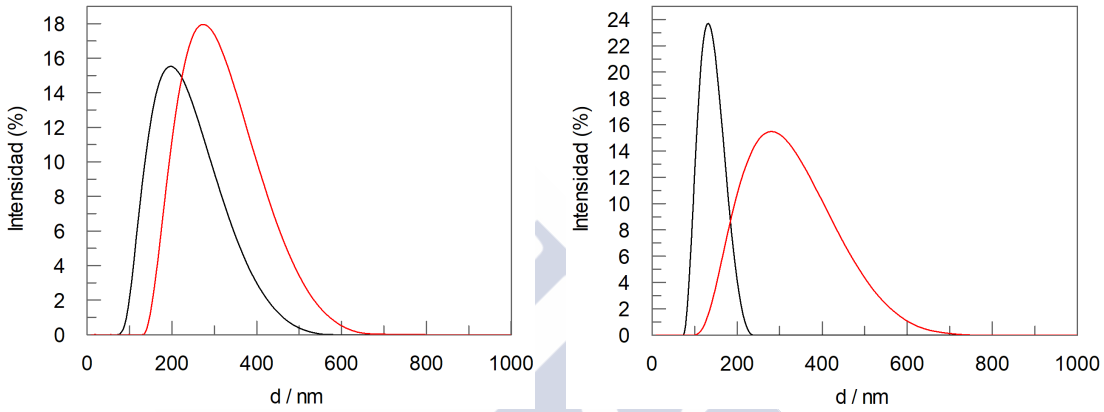


Figura 9.15. Gráficas de distribución del diámetro de los agregados de muestras de **H** (0.1 mM) con 0.5 mM (línea negra) y con 1 mM (línea roja) de **G6**. Izquierda: Medidas tomadas el mismo día de la preparación de las muestras. Derecha: Medidas tomadas pasadas 5 semanas de la preparación de las muestras.

9.4 CONCLUSIONES

En este capítulo se muestra la formación de complejos *host-guest* entre un pilar[6]areno catiónico soluble en agua y diferentes aniones orgánicos. Al igual que sucede con el pilar[5]areno análogo, el pilar[6]areno tiene la capacidad de asociarse hasta a la mitad de sus contraiones. Dicho efecto debería influir en los procesos de complejación con otros *guests* externos. El diferente tamaño de la cavidad de un pilar[6]areno y un pilar[5]areno es clave en el tipo de complejo a formarse con un determinado *guest*. Así, según cual sea el huésped aniónico, se pueden obtener complejos *host-guest* muy similares se utilice el macrociclo de 5 ó 6 unidades aromáticas, u otros bien diferentes, con estequiometrías de enlace superiores al utilizar el pilar[6]areno.

Por otro lado, se muestra brevemente la formación de agregados supramoleculares entre el pilar[6]areno y un surfactante convencional.

9.5 APÉNDICE

9.5.1 Síntesis y Caracterización de H

Todos los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron obtenidos comercialmente, siendo de la máxima pureza disponible y usados sin purificaciones posteriores.

Las reacciones con compuestos o mezclas sensibles al oxígeno o a la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de Argón desoxigenado y seco. Los matraces utilizados para dichas reacciones se secaron en estufa a 150 ºC al menos durante 12 horas y luego se flamearon y enfriaron bajo corriente de argón.

Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrofotómetro Mercury INOVA 300 (300 MHz para ^{1}H) haciendo uso de disolventes deuterados ($CDCl_3$ y D_2O). Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) en la escala del TMS (δ=0.0 ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) en Hz. Como referencia interna se utilizó la señal del disolvente. $CDCl_3$: 7.26 ppm (^{1}H). D_2O: 4.80 ppm (^{1}H). El procesado de los espectros se realizó con el software MestReNova (MestReLab Research Inc.).

El espectro de masas MALDI-TOF de alta resolución se realizó en un espectrómetro Bruker Autoflex.

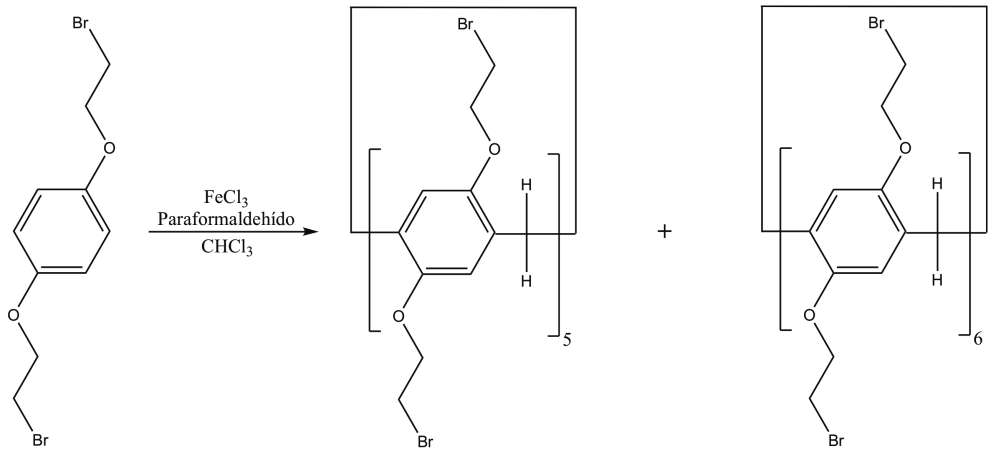
La difracción de Rayos X se llevó a cabo en un difractómetro de monocristal Bruker X8 Kappa APEXII CCD a baja temperatura (100 K).

La termogravimetría se realizó, por duplicado, a muestras de 4.5 miligramos del compuesto **H** en un termogravímetro TGA Q5000.

Las técnicas de espectrometría de masas y difracción de Rayos X se llevaron a cabo en el Centro de Apoyo Científico y Tecnológico de la Universidad de Santiago de Compostela (CACTUS).

Para la síntesis de **H** se siguió una versión modificada de los métodos descritos por los grupos de Feihe Huang y Jean-François Nierengarten.[93,94]

La obtención del monómero de partida (1) se muestra en el capítulo 2 (apéndice 2.5.1).



1 **2** (15 %) **3** (30 %)

A una disolución de (1) (2 g, 6.17 mmol) en cloroformo (90 mL) se le añadió paraformaldehído (0.93 g, 30.87 mmol) y a continuación se trató con tricloruro de hierro (0.20 g, 1.24 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 45 ºC durante 72 horas y, una vez enfriada a temperatura ambiente, se trasvasó a un embudo de decantación para realizar lavados con agua (100 mL), disolución saturada de bicarbonato sódico (100 mL) y salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. El residuo resultante se purificó en un cromatógrafo CombiFlash Rf 200 (SiO_2; hexano/CH_2Cl_2) para obtener el compuesto (3) (0.62 g, 0.31 mmol) como un sólido blanco en un rendimiento del 30 %.

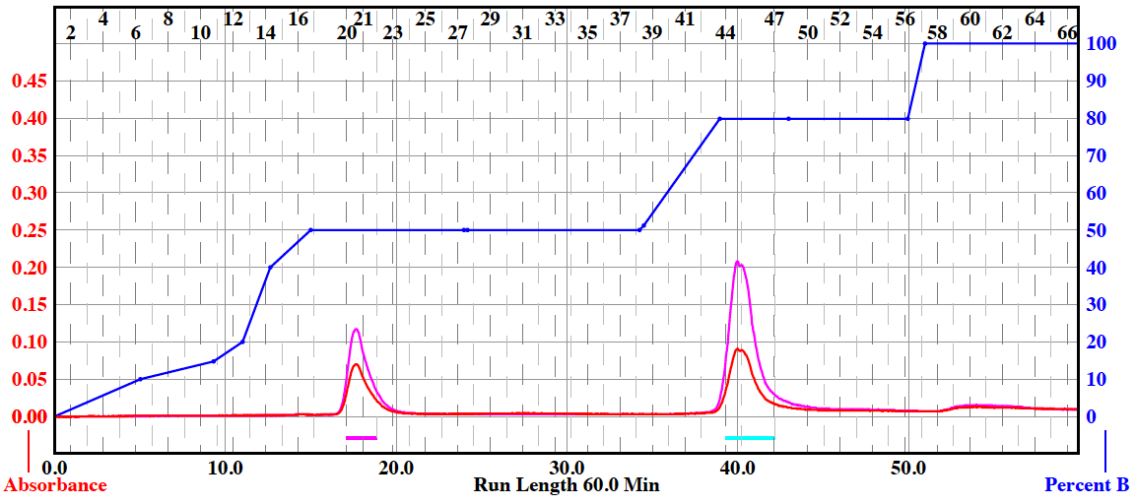


Figura A.9.1. Cromatograma obtenido para la separación de los compuestos **2** y **3**.

^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz): 6.78 (s, 12H); 4.16 (t, *J*=5.9, 24H); 3.87 (s, 12H); 3.54 (t, *J*=5.9, 24H).

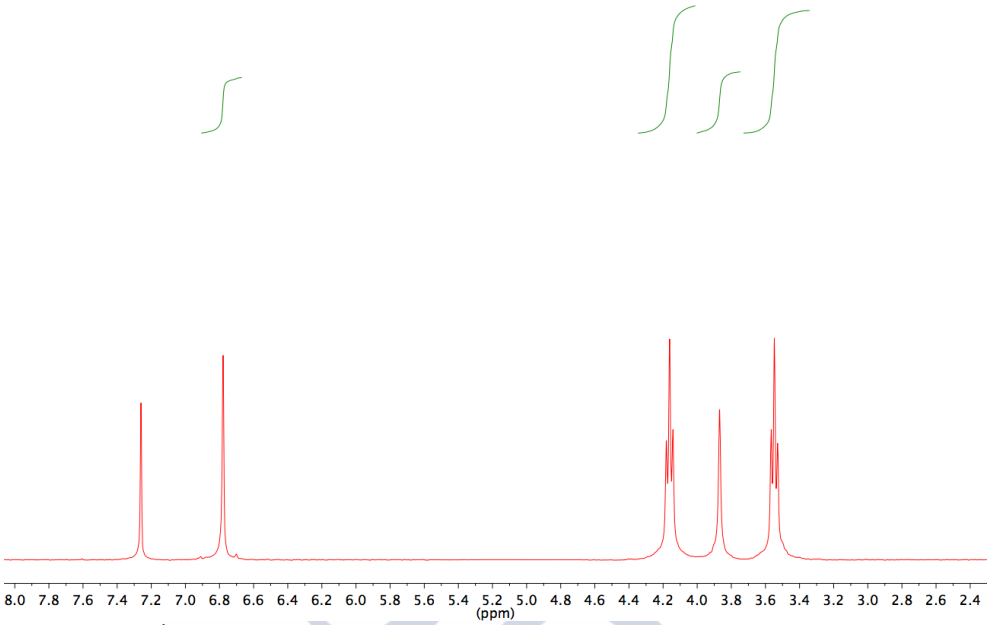


Figura A.9.2. Espectro ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **3**.

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M-H] 2015.5 (calculado 2015.5).

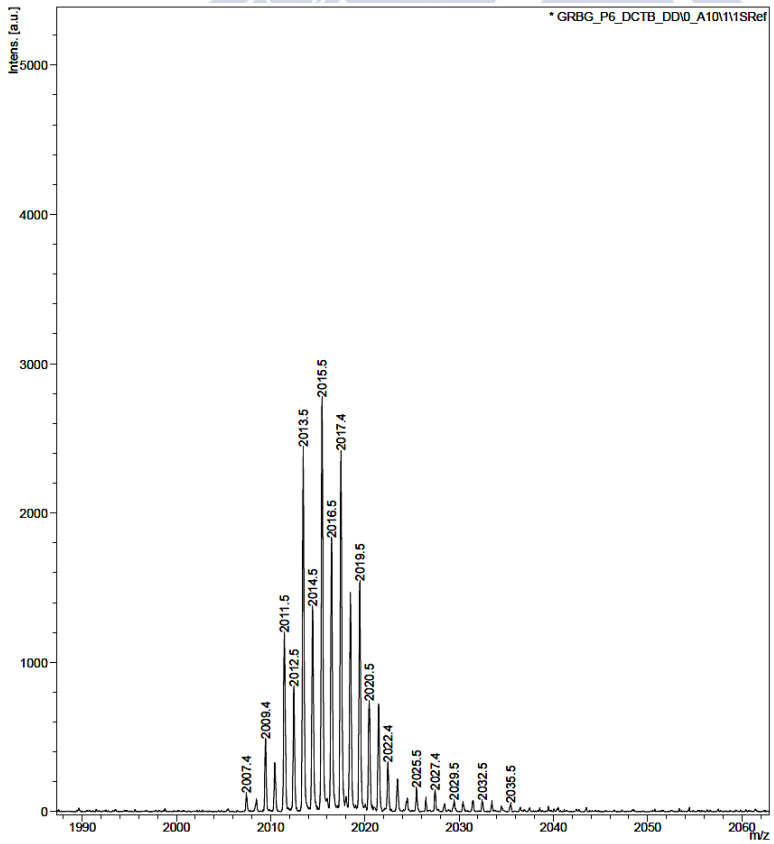


Figura A.9.3. Espectro MALDI-TOF obtenido para el compuesto **3**.

Difracción de Rayos X

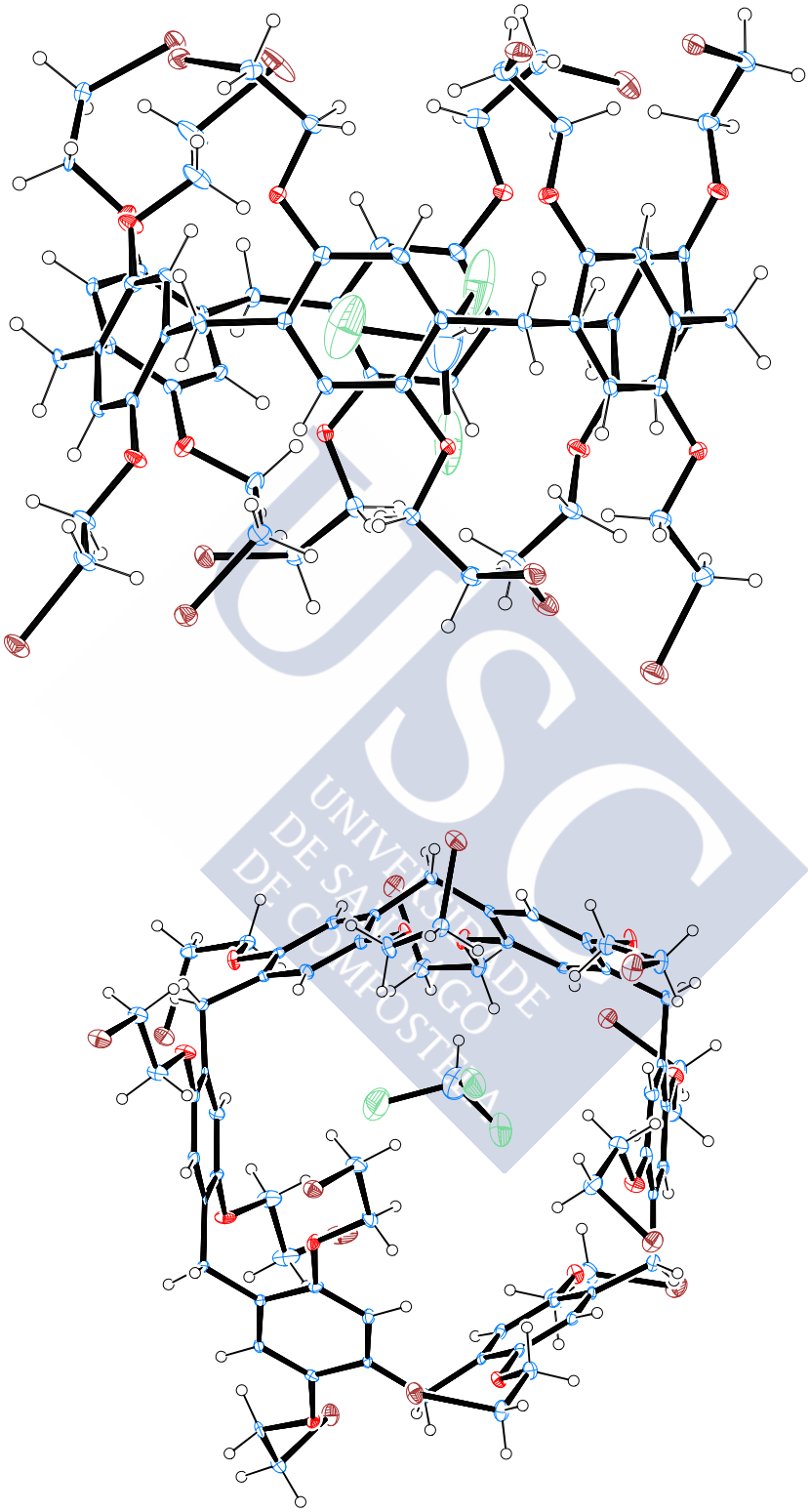
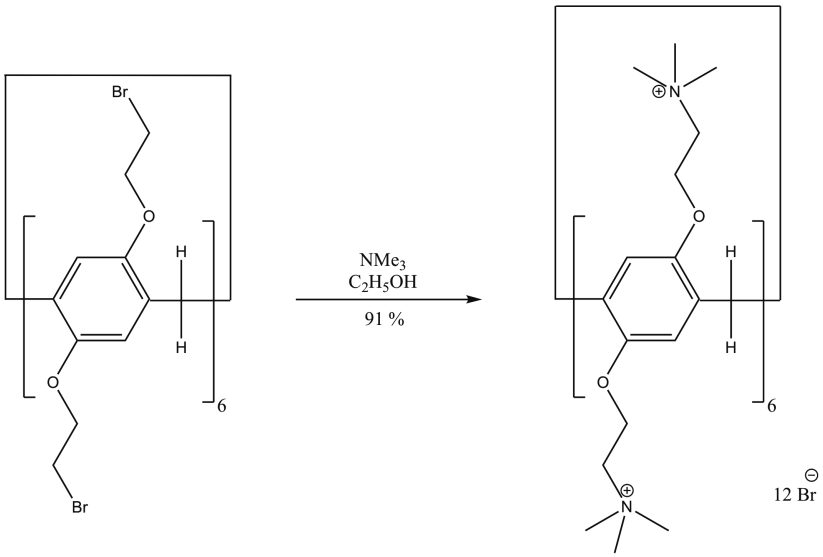


Figura A.9.4. Estructura del compuesto **3** obtenida por DRX.

A continuación, se muestra una lista de los datos cristalográficos más importantes e interesantes obtenidos:

Empirical formula	$C_{66}H_{72}Br_{12}O_{12}$, $CHCl_3$	
Formula weight	2135.52	
Temperature	100(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	*P*-1	
Unit cell dimensions	a = 11.9049(3) Å	α = 89.6990(10)°
	b = 13.6014(3) Å	β = 79.4790(10)°
	c = 23.9218(6) Å	γ = 85.1240(10)°
Volume	3794.39(16) $Å^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.869 Mg/m^3	
Absorption coefficient	6.496 mm^{-1}	
F(000)	2084	
Crystal size	0.270 x 0.190 x 0.100 mm^3	
Theta range for data collection	0.866 to 26.431°	
Index ranges	-14<=h<=14, -17<=k<=16, -29<=l<=29	
Reflections collected	119368	
Independent reflections	15521 [R(int) = 0.0541]	
Completeness to theta = 25.242°	99.7 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	15521 / 387 / 940	
Goodness-of-fit on F^2	1.044	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0457, wR2 = 0.1125	
R indices (all data)	R1 = 0.0756, wR2 = 0.1249	
Largest diff. peak and hole	1.833 and -1.146 e.$Å^{-3}$	



3 **4**

El compuesto (3) (1.5 g, 0.80 mmol) se disolvió en etanol (67 mL) y se trató con trimetilamina (31-35% en etanol, 10.2 mL, 37.9 mmol). La disolución se dejó a reflujo durante 16 horas y, una vez enfriada a temperatura ambiente, se filtró en placa. El sólido blanco obtenido se secó a vacío, obteniéndose así el compuesto (4) (1.95 g, 0.72 mmol) en un rendimiento del 91 %.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 6.94 (s, 12H); 4.54 (s, 24H); 3.99 (s, 12H); 3.79 (s, 24H); 3.15 (sa, 108H).

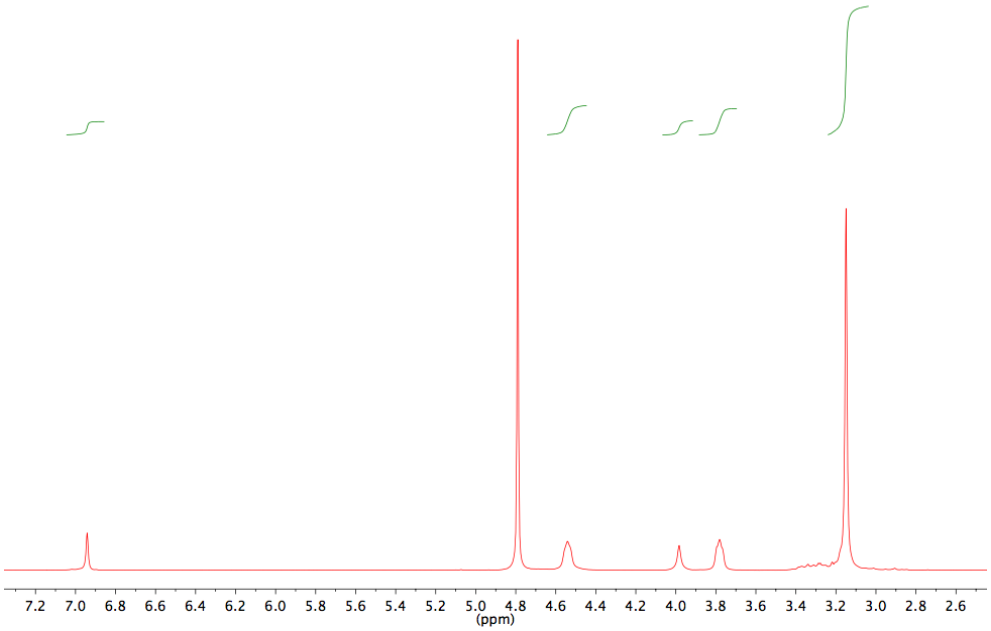
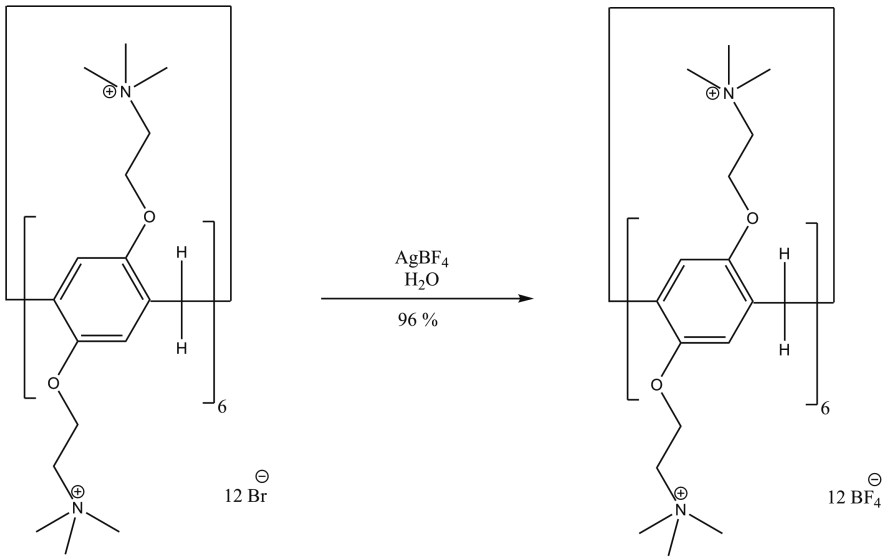


Figura A.9.5. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **4**.



4 **H**

Sobre una disolución de (4) (0.86 g, 0.32 mmol) en agua Milli Q (mínima cantidad posible), bajo agitación y a temperatura ambiente, se añadió gota a gota otra disolución de $AgBF_4$ (0.75 g, 3.84 mmol) en agua Milli Q (mínima cantidad posible). Instantáneamente apareció un precipitado grisáceo muy fino. La suspensión se separó mediante ultracentrifugación y el sobrenadante resultante se filtró a través de un filtro de 0.45 µm. La disolución se concentró a sequedad obteniendo finalmente **H** un sólido ligeramente amarillo (0.87 g, 0.31 mmol) en un 96 % de rendimiento.

^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz): 6.88 (s, 12H); 4.43 (s, 24H); 3.94 (s, 12H); 3.69 (s, 24H); 3.11 (sa, 108H).

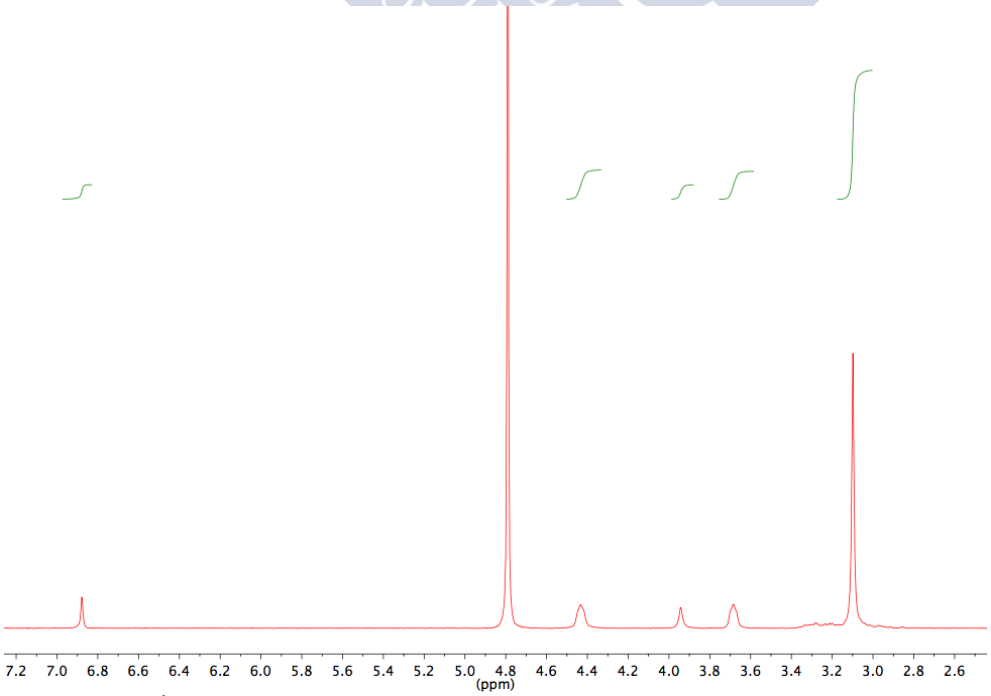


Figura A.9.6. Espectro ^{1}H RMN (D_2O, 300 MHz, 25 ºC) obtenido para el compuesto **H**.

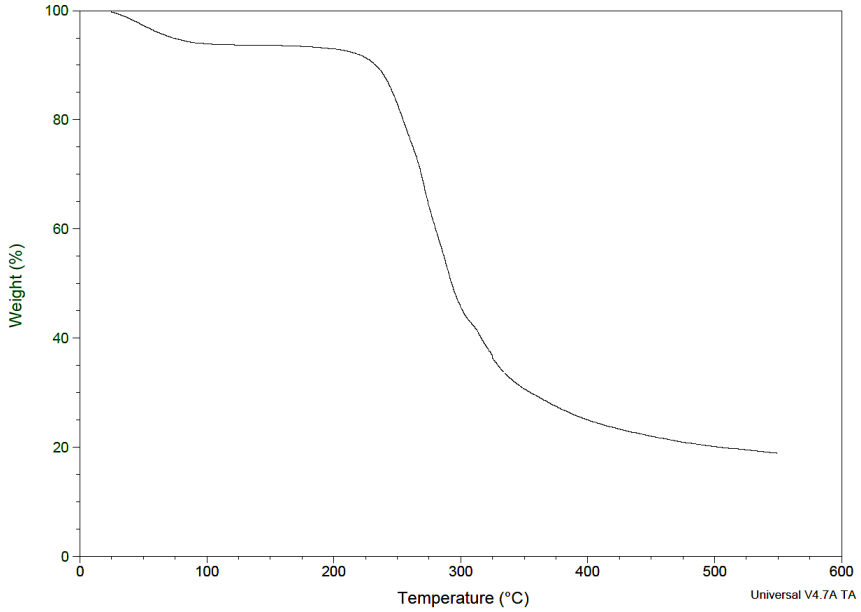


Figura A.9.7. Variación del peso en función de la temperatura para una muestra de **H**.

9.5.2 Valoración ^{1}H RMN entre H y G2

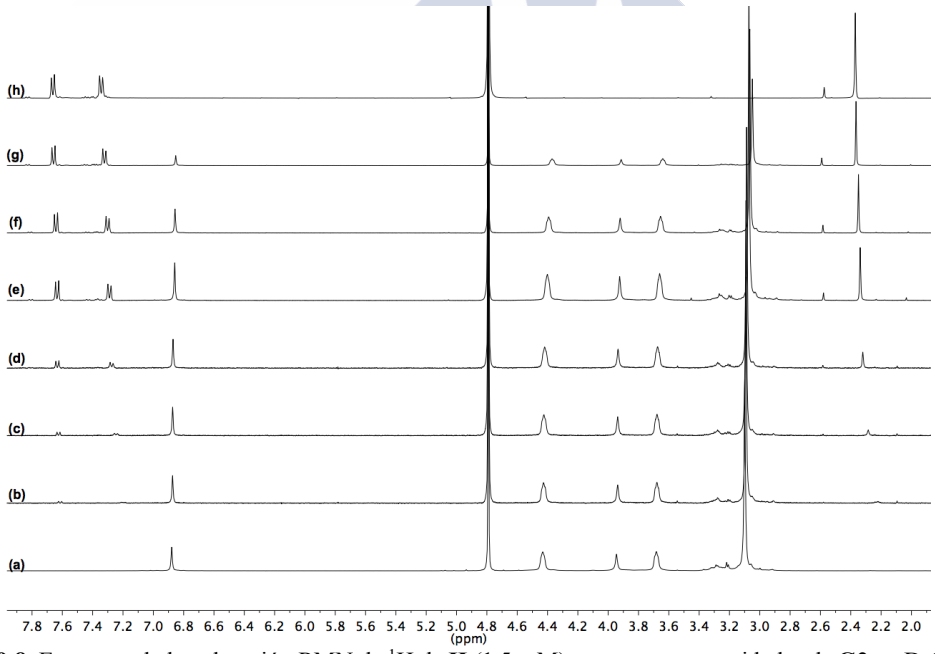


Figura A.9.8. Espectros de la valoración RMN de ^{1}H de **H** (1.5 mM) con mayores cantidades de **G2** en D_2O a 25 ºC: (a) 0, (b) 0.75, (c) 1.5, (d) 3, (e) 6, (f) 10 y (g) 25 mM. El espectro (h) se corresponde con **G2** libre.

9.5.3 Ajustes de la valoración ITC entre H y G2

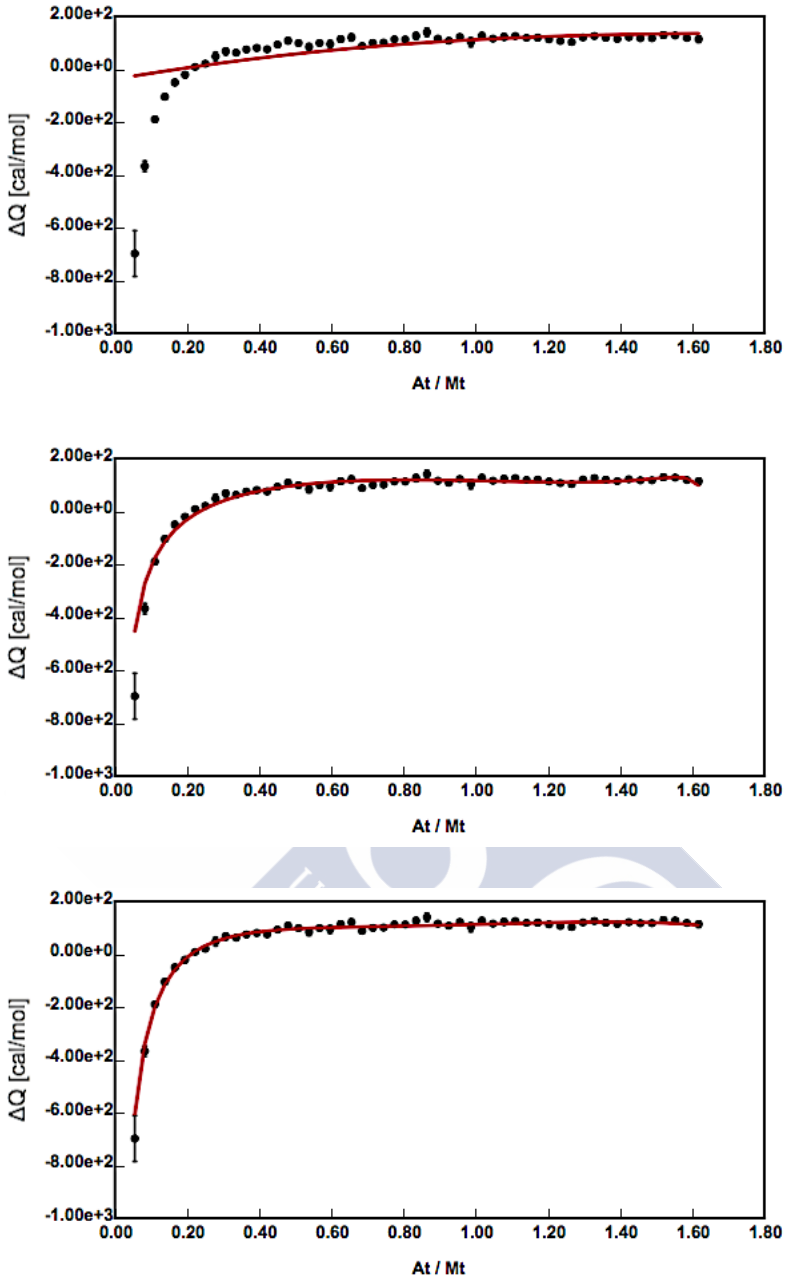


Figura A.9.9. Entalpograma obtenido para la valoración microcalorimétrica de **G2** (24 mM) con **H** (3 mM) ajustado a un modelo de complejación de estequiometría 1:1 (arriba), 1:2 (centro) y 1:3 (abajo).

9.5.4 Ajuste 1:1 de la valoración ITC entre H y G4

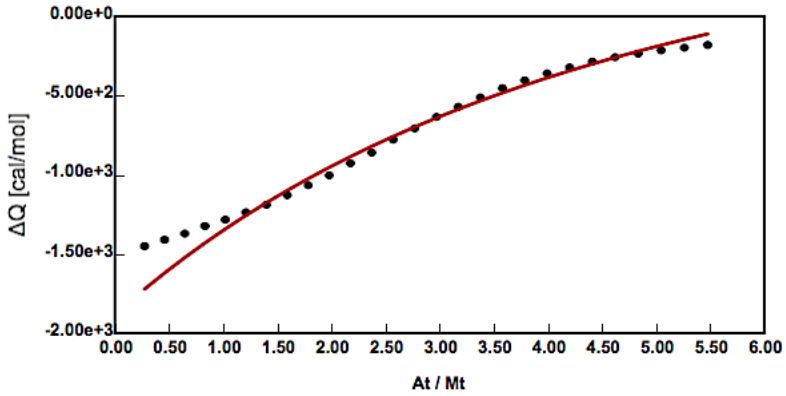


Figura A.9.10. Entalpograma obtenido para la valoración microcalorimétrica de **G4** (5.31 mM) con **H** (0.2 mM) ajustado a un modelo de complejación de estequiometría 1:1.

9.5.5 Valoración ITC entre H y G5

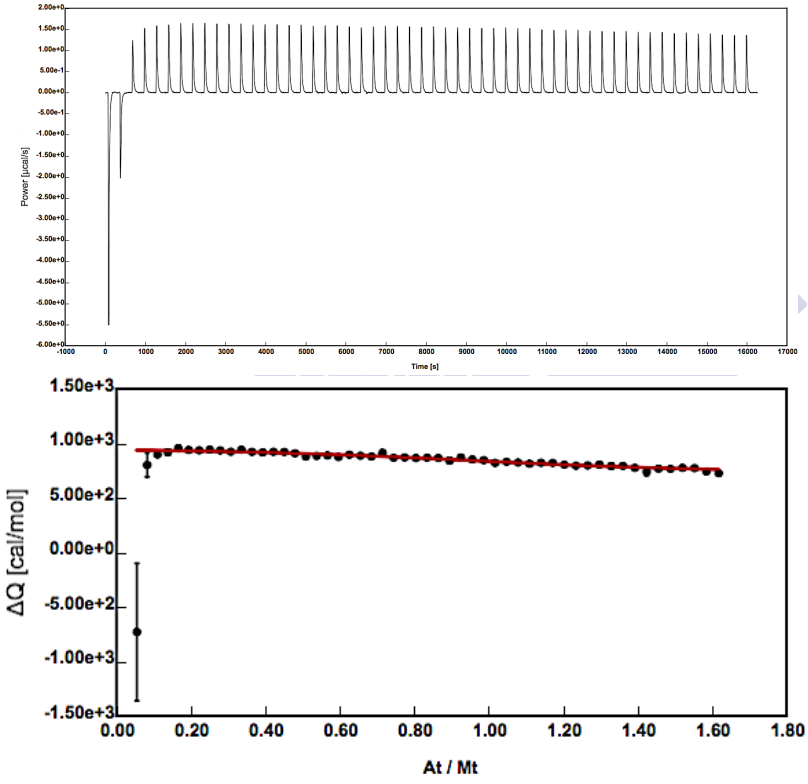


Figura A.9.11. Valoración microcalorimétrica de **H** con **G5** en agua a 25 ºC. Resultados para 54 inyecciones secuenciales (5 µL por inyección) de una disolución de **G5** (12 mM) sobre una disolución de **H** (1.5 mM). Entalpograma (abajo) obtenido a través de la integración del área de los picos calorimétricos (arriba).

9.6 BIBLIOGRAFÍA

(1) Lehn, J.-M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH.; Weinheim, **1995**.

(2) Sauvage, J.-P. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 611-619.

(3) Armaroli, N.; Balzani, V.; Collin, J.-P.; Gaviña, P.; Sauvage, J.-P.; Ventura, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4397-4480.

(4) Collin, J.-P.; Dietrich-Buchecker, C.; Gaviña, P.; Jimenez-Molero, M. C.; Sauvage, J.-P. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 477-487.

(5) Huang, F. H.; Fronczek, F. R.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9272-9273.

(6) Huang, F.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14738-14739.

(7) Jonkheijm, P.; van der Schoot, P.; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W. *Science* **2006**, *313*, 80-83.

(8) Kay, E. R.; Leigh, D. A.; Zerbetto, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007 46**, 72-191.

(9) Wang, C.; Yin, S.; Chen, S.; Xu, H.; Wang, Z.; Zhang, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9049-9052.

(10) Wang, F.; Zhang, J.; Ding, X.; Dong, S.; Liu, M.; Zheng, B.; Li, S.; Wu, L.; Yu, Y.; Gibson, H. W.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1090-1094.

(11) Yan, X.; Wang, F.; Zheng, B.; Huang, F. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6042-6065.

(12) Huang, F.; Switek, K. A.; Zakharov, L. N.; Fronczek, F. R.; Slebodnick, C.; Lam, M.; Golen, J. A.; Bryant, W. S.; Mason, P. E.; Rheingold, A. L.; Ashraf-Khorassani, M.; Gibson, H. W. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3231-3241.

(13) Huang, F.; Zhang, C.; Li, S.; Zhang, J.; Zhu, K.; Li, N. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5553-5556.

(14) Hoffart, D. J.; Tiburcio, J.; De La Torre, A.; Knight, L. K.; Loeb, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 97-101.

(15) Klivansky, L. M.; Koshkakaryan, G.; Cao, D.; Liu, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4185-4189.

(16) Hua, Y.; Flood, A. H. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1262-1271.

(17) Rieth, S.; Bao, X.; Wang, B. Y.; Hadad, C. M.; Badjić, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 773-776.

(18) Qin, B.; Ren, C.; Ye, R.; Sun, C.; Chiad, K.; Chen, X.; Li, Z.; Xue, F.; Su, H.; Chass, G. A.; Zeng, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9564-9566.

(19) Ong, W.; Gómez-Kaifer, M.; Kaifer, A. E. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1791-1794.

(20) Knight, L. K.; Vukotic, V. N.; Viljoen, E.; Caputo, C. B.; Loeb, S. J. *Chem. Commun.* **2009**, *47*, 5585-5587.

(21) Koshkakaryan, G.; Klivansky, L. M.; Cao, D.; Snauko, M.; Teat, S. J.; Struppe, J. O.; Liu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2078-2079.

(22) Yan, X.; Zhang, M.; Wei, P.; Zheng, B.; Chi, X.; Ji, X.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9840-9842.

(23) Yan, X.; Zhou, M.; Chen, J.; Chi, X.; Dong, S.; Zhang, M.; Ding, X.; Yu, Y.; Shao, S.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7086-7088.

(24) Niu, Z.; Slebodnick, C.; Schoonover, D.; Azurmendi, H.; Harich, K.; Gibson, H. W. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3992-3995.

(25) Beves, J. E.; Blight, B. A.; Campbell, C. J.; Leigh, D. A.; McBurney, R. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9260-9327.

(26) Xue, M.; Chen, C.-F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2318-2330.

(27) Qiu, Y.; Yi, S.; Kaifer, A. E. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1770-1773.

(28) Yi, S.; Kaifer, A. E. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10276-10278.

(29) Niu, Z.; Huang, F.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 2836-2839.

(30) Davidson, G. J. E.; Loeb, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 74-77.

(31) Huang, F.; Nagvekar, D. S.; Slebodnick, C.; Gibson, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 484-485.

(32) Niu, Z.; Gibson, H. W. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6024-6046.

(33) Davidson, G. J. E.; Sharma, S.; Loeb, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4938-4942.

(34) Jiang, W.; Schäfer, A.; Mohr, P. C.; Schalley, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2309-2320.

(35) Zhu, K.; Vukotic, V. N.; Loeb, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2168-2172.

(36) Qi, Z.; Malo de Molina, P.; Jiang, W.; Wang, Q.; Nowosinski, K.; Schulz, A.; Gradzielski, M.; Schalley, C. A. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2073-2082.

(37) Mirzoian, A.; Kaifer, A. E. *Chem. Commun.* **1999**, 1603-1604.

(38) Harada, A. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 456-464.

(39) Terao, J.; Tang, A.; Michels, J. J.; Krivokapic, A.; Anderson, H. L. *Chem. Commun.* **2004**, 56-57.

(40) Wang, Q. C.; Qu, D. H.; Ren, J.; Chen, K.; Tian, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2661-2665.

(41) Tomatsu, I.; Hashidzume, A.; Harada, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2226-2227.

(42) Liao, X.; Chen, G.; Liu, X.; Chen, W.; Chen, F.; Jiang, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4409-4413.

(43) Wang, K.; Guo, D. S.; Wang, X.; Liu, Y. *ACS Nano* **2011**, *5*, 2880-2894.

(44) Gutsche, C. D. *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 161-170.

(45) Böhmer, V. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 713-745.

(46) Guo, D.-S.; Wang, K.; Wang, Y.-X.; Liu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10244-

10250.

(47) Jeon, Y. J.; Kim, H.; Jon, S.; Selvapalam, N.; Oh, D. H.; Seo, I.; Park, C.-S.; Jung, S. R.; Koh, D.-S.; Kim, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15944-15945.

(48) Uzunova, V. D.; Cullinane, C.; Brix, K.; Nau, W. M.; Day, A. I. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2037-2042.

(49) Lan, Y.; Loh, X. J.; Geng, J.; Walsh, Z.; Scherman, O. A. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8757-8759.

(50) Loh, X. J.; Del Barrio, J.; Toh, P. P. C.; Lee, T. C.; Jiao, D.; Rauwald, U.; Appel, E. A.; Scherman, O. A. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 84-91.

(51) Ogoshi, T.; Kanai, S.; Fujinami, S.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022-5023.

(52) Zhang, Z.; Luo, Y.; Chen, J.; Dong, S.; Yu, Y.; Ma, Z.; Huang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1397-1401.

(53) Hu, X.-B.; Chen, L.; Si, W.; Yu, Y.; Hou, J.-L. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4694-4696.

(54) Si, W.; Hu, X.-B.; Liu, X.-H.; Fan, R.; Chen, Z.; Weng, L.; Hou, J.-L. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2484-2487.

(55) Li, C.; Xu, Q.; Li, J.; Yao, F.; Jia, X. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*,1568-1576.

(56) Kou, Y.; Cao, D.; Tao, H.; Wang, L.; Liang, J.; Chen, Z.; Meier, H. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2013**, *77*, 279-289.

(57) Strutt, N. L.; Forgan, R. S.; Spruell, J. M.; Botros, Y. Y.; Stoddart, J. F. **2011**, *133*, 5668-5671.

(58) Strutt, N. L.; Zhang, H.; Giesener, M. a; Lei, J.; Stoddart, J. F. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1647-1649.

(59) Cao, D.; Kou, Y.; Liang, J.; Chen, Z.; Wang, L.; Meier, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9721-9723.

(60) Ogoshi, T.; Ueshima, N.; Akutsu, T.; Yamafuji, D.; Furuta, T.; Sakakibara, F.; Yamagishi, T.-A. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 5774-5777.

(61) Yu, G.; Xue, M.; Zhang, Z.; Li, J.; Han, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13248-13251.

(62) Yu, G.; Zhou, X.; Zhang, Z.; Han, C.; Mao, Z.; Gao, C.; Huang, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19489-19497.

(63) Ogoshi, T.; Hashizume, M.; Yamagishi, T.; Nakamoto, Y. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3708-3710.

(64) Wang, P.; Yan, X.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 5017-5019.

(65) Cao, Y.; Hu, X. Y.; Li, Y.; Zou, X.; Xiong, S.; Lin, C.; Shen, Y. Z.; Wang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10762-10769.

(66) Chen, W.; Zhang, Y.; Li, J.; Lou, X.; Yu, Y.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7956-7058.

(67) Ma, Y.; Yang, J.; Li, J.; Chi, X.; Xue, M. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 23953-23956.

(68) Yao, Y.; Jie, K.; Zhou, Y.; Xue, M. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 3195-3199.

(69) Duan, Q.; Zhao, W.; Lu, K. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 4403-4406.

(70) JersChow, A.; Müller, N. *J. Magn. Reson.* **1997**, *375*, 372-375.

(71) Wu, D.; Chen, A.; Johnson, C. S. *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *115*, 260-264.

(72) Price, W. S. *Concepts Magn. Reson.* **1998**, *10*, 197-237.

(73) Ribeiro, A. C. F.; Lobo, V. M. M.; Sobral, A. J. F. N.; Soares, H. T. F. C.; Leal, A. R. J.; Esteso, M. A. *Acta Chim. Slov.* **2010**, *57*, 410-414.

(74) De Borba, E. B.; Amaral, C. L. C.; Politi, M. J.; Villalobos, R.; Baptista, M. S. *Langmuir* **2000**, *16*, 5900-5907.

(75) Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520-554.

(76) Arena, G.; Gentile, S.; Gulino, F. G.; Sciotto, D.; Sgarlata, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7091-7094.

(77) Liu, Y.; Guo, D.-S.; Zhang, H.-Y.; Ma, Y.-H.; Yang, E.-C. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3428-3434.

(78) Gómez, B.; Francisco, V.; Fernández-Nieto, F.; García-Río, L.; Paleo, M. R.; Sardina, F. J. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12123-12132.

(79) Yuan, M.-S.; Chen, H.; Du, X.; Li, J.; Wang, J.; Jia, X.; Li, C. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 16361-16364.

(80) Yao, Y.; Li, J.; Dai, J.; Chi, X.; Xue, M. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 9039-9043.

(81) Valente, A. J. M.; Söderman, O. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *205*, 156-176.

(82) Cabaleiro-Lago, C.; Nilsson, M.; Söderman, O. *Langmuir* **2005**, *21*, 11637-11644.

(83) Guerrero-Martínez, A.; González-Gaitano, G.; Viñas, M. H.; Tardajos, G. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 13819-13828.

(84) Márquez, C.; Hudgins, R. R.; Nau, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5806-5816.

(85) Mock, W. L.; Shih, N. Y. *J. Org. Chem* **1986**, *51*, 4440-446.

(86) Gómez-González, B.; Francisco, V.; Montecinos, R.; García-Río, L. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 911-919.

(87) Annunziata, O.; Costantino, L.; D'Errico, G.; Paduano, L.; Vitagliano, V. *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, *216*, 16-24.

(88) Nakamura, H.; Sano, A.; Matsuura, K. *Anal. Sci.* **1998**, *14*, 379-382.

(89) Francisco, V.; Basílio, N.; García-Río, L.; Leis, J. R.; Marques, E. F.; Vázquez-Vázquez, C. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6551-6553.

(90) Gao, L.; Wang, T.; Jia, K.; Wu, X.; Yao, C.; Shao, W.; Zhang, D.; Hu, X.-Y.; Wang, L. *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 6605-6614.

(91) Yu, G.; Jie, K.; Huang, F. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7240-7303.

(92) Jiang, L.; Huang, X.; Chen, D.; Yan, H.; Li, X.; Du, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 2655-2659.

(93) Ma, Y.; Ji, X.; Xiang, F.; Chi, X.; Han, C.; He, J.; Abliz, Z.; Chen, W.; Huang, F. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12340-12342.

(94) Barberá, J.; Deschenaux, R.; Nierengarten, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3675-3684.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA