

Máster en Investigación Química y Química Industrial

Memoria de Trabajo de Fin de Máster

**Nuevos Interruptores supramoleculares basados en CB[8]
y derivados de viológeno**

**Novos Interruptores supramoleculares baseados en CB[8]
e derivados de violóxeno**

**New CB[8]-based supramolecular switches using viologen
derivatives**

Mauro Díaz Abellás

Curso: 2021 - 2022.

Convocatoria: Julio

*Directores: Marcos D. García Romero
Carlos Peinador Veira*

**QUIMOLMAT-Supra, Centro de Investigaciones Científicas
Avanzadas (CICA), Universidad de A Coruña**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría comenzar por agradecer a mis directores, el Dr. Marcos D. García Romero y el Dr. Carlos Peinador Veira, por darme la posibilidad de trabajar en un proyecto tan interesante y por guiarme durante el desarrollo del mismo. Además, me gustaría agradecer también a los integrantes del grupo QUIMOLMAT-SUPRA, en especial a Lili y a Arturo, por su paciencia y su ayuda ,y por hacer más amena y divertida la realización de este trabajo. A Alex y a Natalia por todo su apoyo y por los buenos momentos pasados en el laboratorio.

Finalmente, quiero agradecer a mi familia por todo su apoyo a lo largo de mi vida académica. A mis padres y a mis abuelos, por su amor incondicional y por ser siempre un ejemplo para mí. A Antía, por todo su apoyo y amor, y por estar siempre en los buenos y en los malos momentos.

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

2,6-DHN	2,6-dihidroxi-naftaleno
Bu₄NCl	Cloruro de tetrabutilamonio
cat	Cantidad catalítica
COSY	<i>CORrelation SpectroscopY</i> (Espectroscopía de Correlación)
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
dd	Doble doblete
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> (Mejora sin Distorsión por Transferencia de Polarización)
DFT-D	<i>Dispersion-corrected Density Functional Theory</i> (Teoría del Funcional de Densidad corregido para Dispersión)
eq	Número de equivalentes
ΔG	Variación en Energía libre de Gibbs
ΔΔG	Diferencia de ΔGs
ΔH	Variación en entalpía
ΔS	Variación en entropía
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> (Correlación Heteronuclear de Enlace Múltiple)
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i> (Correlación Heteronuclear de un Único Cuanto)
HR-ESI-MS	<i>High Resolution ElectroSpray Ionization Mass Spectroscopy</i> (Espectroscopía de masas de alta resolución con ionización por electrospray)
J	Constante de acoplamiento
K_a	Constante de asociación
K_d	Constante de disociación
m	Multiplete
MIMs	<i>Mechanically Interlocked Molecules</i> (Moléculas Enlazadas Mecanicamente)
m/z	Relación masa/carga
q	Cuadruplete
RMN-¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono
RMN-¹H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
R.T.	<i>Room Temperature</i> (Reacción a temperatura ambiente)
s	Singulete
S_N2	Reacción de sustitución nucleófila bimolecular
t	Triplete
Δ	Calentamiento a reflujo

RESUMEN

Dentro del ámbito de la Química Supramolecular, el desarrollo de Moléculas Mecánicamente Entrelazadas (*MIMs*) ha cobrado un gran interés en la actualidad gracias a sus potenciales aplicaciones en diversas áreas. En especial, los rotaxanos (un subtipo de *MIM*), gracias a sus características de movilidad, han dejado de considerarse una mera curiosidad estética para pasar a ser empleados en el desarrollo de diferentes sistemas como sensores, nanoválvulas, etc.

En el presente trabajo se han dado los primeros pasos para el desarrollo de nuevos rotaxanos y pseudorotaxanos basados en cucurbit[8]urilo (CB[8]) y en derivados de alquiltrialfosfonio como *stoppers*, con potencial aplicación como interruptores supramoleculares en el diseño de sistemas de liberación de fármacos en el entorno mitocondrial. Para ello, se estudió la complejación del CB[8] con un primer sustrato modelo de la estación de reconocimiento del rotaxano (paraquat, MV^{2+}) junto con potenciales segundos sustratos como cargos liberables: naproxeno (**N**) y un derivado de 2,6-dihidroxinaftaleno (**A**). Los resultados experimentales mostraron indicios de una posible formación de complejos heteroternarios ($MV^{2+} \cdot A/N \subset CB[8]$), en concordancia con lo predicho mediante cálculos computacionales DFT-D. Estos cálculos además permitieron obtener información sobre potenciales diferencias estructurales entre los complejos en función del estado de protonación de los segundos sustratos (**AH/A⁻** y **NH/N⁻**). Por último, el estudio de la complejación con CB[8] de un modelo combinado de la estación de reconocimiento y un derivado de alquiltrialfosfonio (modelo **B**), permitió observar la formación de un inusual complejo pseudoheteroternario, con una constante de asociación de $3.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, considerablemente elevada para tratarse de un complejo binario. Asimismo, en una versión simplificada del modelo **B**, en la que se elimina un fragmento de la estación de reconocimiento (modelo **C**) también se observó la formación de un complejo pseudoheteroternario, con una constante de asociación de $3.2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$.

PALABRAS CLAVE: Química supramolecular, química receptor-sustrato, moléculas mecánicamente entrelazadas, cucurbit[*n*]urilos, rotaxanos, cálculos DFT-D, calorimetría isotérmica de titulación.

ABSTRACT

Within the field of Supramolecular Chemistry, the development of Mechanically Interlocked Molecules (MIMs) has recently gained great interest thanks to their potential applications in different areas. In particular, rotaxanes (a subtype of MIMs), thanks to their mobility characteristics, are no longer considered a mere aesthetic curiosity but are now being used in the development of different systems such as sensors, nanovalves, etc.

In the present work we have taken the first steps towards the development of new rotaxanes and pseudorotaxanes based on cucurbit[8]uril (CB[8]) and alkyltriarylphosphonium derivatives as stoppers, with potential application as supramolecular switches in the design of drug delivery systems in the mitochondrial environment. For this purpose, the complexation of CB[8] with a model of the rotaxane recognition station (paraquat, MV^{2+}) as first guest was studied together with potential second guests as releasable charges: naproxen (**N**) and a 2,6-dihydroxynaphthalene derivative (**A**). Experimental results indicated the possible formation of heteroternary complexes ($MV^{2+} \cdot A/N \subset CB[8]$), in agreement with what was predicted by DFT-D computational calculations. These calculations also provided information on potential structural differences between the complexes as a function of the protonation state of the second guests (AH/A^- and NH/N^-). Finally, the study of the complexation with CB[8] of a combined model of the recognition station and an alkyltriarylphosphonium derivative (model **B**), allowed us to observe the formation of an unusual pseudoheteroternary complex, with an association constant of $3.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, considerably high for a binary complex. Likewise, a simplified version of model **B**, in which a fragment of the recognition station is removed (model **C**) also showed the formation of a pseudoheteroternary complex, with an association constant of $3.2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$.

KEY WORDS: Supramolecular chemistry, host-guest chemistry, mechanically interlocked molecules, cucurbit[n]urils, rotaxanes, DFT-D calculations, isothermal titration calorimetry.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Química Supramolecular	1
1.2. Química receptor-sustrato	2
1.3. Enlace Mecánico y Moléculas Mecánicamente Entrelazadas (MIMs)	3
1.4. Pseudorotaxanos: cucurbiturilos como componentes tipo rueda y viológenos como unidades de reconocimiento	5
1.5. Sales de Alquiltriarilfosfonio como tapones	7
1.6. La mitocondria como diana farmacológica	8
2. OBJETIVOS	11
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
3.1. Diseño y elección de los modelos	12
3.2. Síntesis y caracterización estructural de modelos simplificados	13
3.2.1. Síntesis del derivado de 2,6-DHN A	13
3.2.2. Síntesis del Modelo Capado B	15
3.2.3. Síntesis del Modelo Capado C	18
3.3. Estudio de complejación con sustratos modelo paraquat, A y N	19
3.3.1. Complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$	19
3.3.2. Proceso de complejación de MV^{2+} , A y $CB[8]$	20
3.3.3. Procesos de complejación ente MV^{2+} , naproxeno (N) y $CB[8]$	21
3.3.4. Cálculos DFT-D para los potenciales complejos heteroternarios.....	23
3.4. Estudio de los complejos de $CB[8]$ con los modelos B y C	25
3.4.1. Estudio del proceso de complejación entre el modelo B^{3+} y $CB[8]$	25
3.4.2. Estudio del proceso de complejación entre el modelo C^{2+} y $CB[8]$	29
4. PARTE EXPERIMENTAL	32
4.1. Procedimientos generales	32
4.2. Síntesis de modelos simplificados	33
4.2.1. Síntesis del éster de A	33
4.2.2. Síntesis del segundo sustrato A	34
4.2.3. Síntesis del precursor 4 ·Br.....	34
4.2.4. Síntesis del precursor 6 ·PF ₆	35
4.2.5. Síntesis del modelo capado B 3Cl.....	36
4.2.6. Síntesis del modelo capado C 2Br.....	37
4.3. Estudio de complejación con sustratos modelo paraquat, A y N	38
4.3.1. Estudio de complejación entre MV^{2+} , A y $CB[8]$	38

4.3.2.	Estudio de complejación entre MV^{2+} , N y $CB[8]$	38
4.4.	Estudio de los complejos de $CB[8]$ con los modelos B y C	39
4.4.1.	Estudio del proceso de complejación de B^{3+} y $CB[8]$	39
4.4.2.	Estudio del proceso de complejación de C^{2+} y $CB[8]$	40
5.	CONCLUSIONES	42
6.	BIBLIOGRAFÍA	44
7.	ANEXOS	47

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Química Supramolecular

La química supramolecular se definió por primera vez por J.-M. Lehn, en el año 1978, como la “*química más allá de las moléculas*”. De esta forma, las supramoléculas se entendían como unas “*entidades complejas y organizadas que resultan de la asociación de dos o más especies químicas mediante fuerzas intermoleculares*”.¹ Entre las fuerzas intermoleculares que van a intervenir en la formación de supramoléculas destacan, entre otras, las fuerzas de Van der Waals, las interacciones π - π y C-H \cdots π , el enlace de hidrógeno (HB), el efecto hidrofóbico o las interacciones electrostáticas.² Así, el proceso de síntesis supramolecular, o autoensamblaje, es un equilibrio entre productos y materiales de partida, establecido así por la naturaleza débil de estas fuerzas “no covalentes”. Como consecuencia, los procesos de autoensamblaje y de reconocimiento molecular constituyen la base de la química supramolecular, para cuyo desarrollo fue necesario el progreso en química macrocíclica sintética.³ Además, un importante antecedente al respecto son las ideas seminales de E. Fischer en 1894 sobre reconocimiento molecular, en particular el conocido principio *lock and key*, que establecía la necesidad de una complementariedad estructural en la unión supramolecular entre enzimas y sustratos.

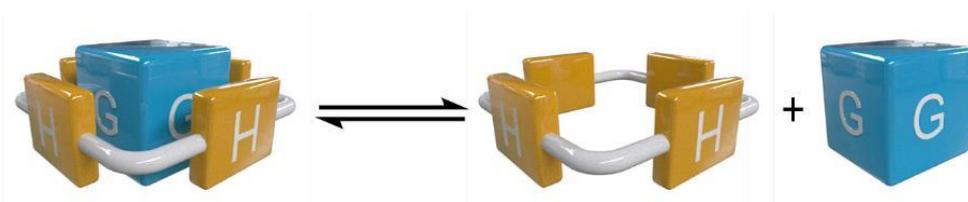
Sin embargo, no fue hasta principios de los años 50 que se descubrieron los primeros compuestos macrocíclicos naturales capaces de reconocer moléculas, cuando se estudiaron las ciclodextrinas o la valinomicina. Más tarde, en 1967, C. Pedersen obtuvo las primeras macromoléculas sintéticas con capacidad de reconocimiento molecular, unos poliéteres macrocíclicos conocidos como éteres corona. Estos estudios abrieron nuevas líneas de investigación con el objetivo de sintetizar macrociclos con propiedades similares. Un ejemplo es la obtención de los primeros criptandos (poliéteres macrobíclicos), por parte de Lehn y sus colaboradores en el año 1969, con capacidad de complejar distintos cationes metálicos. Por otro lado, gracias a los descubrimientos de Pedersen, surgió una nueva área de investigación de la mano de D. Cram, la química receptor-sustrato (*host-guest*), que llevó a la síntesis de nuevos contenedores orgánicos, llamados cavitandos o esferandos, que presentan cavidades capaces de contener

cationes o pequeñas moléculas orgánicas. La química supramolecular quedó completamente establecida en el momento en que Lehn acuñó este término, agrupando todas estas nuevas líneas de investigación en desarrollo.^{4,5} Por todos estos estudios Lehn, Pedersen y Cram recibieron en 1987 el Premio Nobel de Química.⁶ En las décadas siguientes y hasta la actualidad se prosiguió con la investigación en la síntesis de nuevos compuestos macrocíclicos, como por ejemplo cucurbiturilos, calixarenos o pilarenos, y sus aplicaciones en proceso de autoensamblaje y reconocimiento molecular.⁵ Además, la química supramolecular impulsó un cambio en la síntesis química clásica a dos niveles: la utilización práctica de la *síntesis mediante autoensamblaje*, permitiendo el acceso a numerosas supramoléculas, tanto discretas como poliméricas, y la *síntesis molecular con asistencia supramolecular* – también conocida como autoensamblaje seguida de modificación covalente – que se empleó para obtener receptores y contenedores moleculares complejos, así como *MIMs* (*Mechanically Interlocked Molecules*) como rotaxanos y catenanos.⁶ En un principio la química supramolecular se centró en la preorganización para el diseño de receptores moleculares, con funciones de reconocimiento, transporte o catálisis, pero más adelante avanzó hacia el diseño de estructuras altamente organizadas capaces de autoensamblarse y comportarse como sistemas programados, en algunos casos con integración funcional de sus componentes, con el objetivo de fabricar máquinas nanométricas.³ Como culminación a esta evolución, en el año 2016, B. Feringa, J. F. Stoddart y J.-P. Sauvage recibieron el Premio Nobel de Química por sus trabajos en la fabricación del primer “motor molecular” y la síntesis de rotaxanos y catenanos, respectivamente.⁷

1.2. Química receptor-sustrato

Como hemos comentado, esta área surge tras el descubrimiento por D. Cram de receptores sintéticos y naturales con capacidad de reconocimiento específico de diversos sustratos. Los términos “química receptor-sustrato” y “química del reconocimiento molecular”, se consideran a menudo como términos sinónimos.⁴ Así, el receptor suele ser una molécula de gran tamaño o un agregado de moléculas, como por ejemplo una enzima o un macrociclo sintético, que presenta una cavidad central de tamaño variable. Por otro lado, el sustrato puede tratarse de un catión monovalente, un anión inorgánico, o incluso una molécula más

compleja como un neurotransmisor o una hormona. De una manera más formal, se define el receptor como una entidad molecular que posee sitios de unión convergentes (p.e. dadores de HB), bases de Lewis, etc.) mientras que el sustrato presenta lugares de unión divergentes (p.e. aniones haluro, aceptores de HB, ácidos de Lewis, etc.). Teniendo esto en cuenta, la interacción entre receptor y sustrato va a implicar una organización estereoelectrónica complementaria de los sitios de unión de ambos componentes, siempre bajo un estricto control termodinámico (**Esquema 1**).⁸



Esquema 1: Representación del equilibrio de disociación receptor-sustrato (*host-guest*) de un complejo de inclusión.

1.3. Enlace Mecánico y Moléculas Mecánicamente Entrelazadas (*MIMs*)

A principios de los años 60, con el creciente desarrollo de la química supramolecular, se produjo una revolución en la química gracias a la síntesis de las primeras moléculas mecánicamente entrelazadas (*MIMs*), culminando en los estudios de Stoddart y Sauvage que fueron merecedores del Premio Nobel de Química en el año 2016. Las *MIMs* se definen como moléculas que poseen lo que se conoce como “*enlace mecánico*”, que consiste en un entrelazamiento en el espacio entre los subcomponentes de un compuesto, de tal forma que la separación entre ellos solo se puede producir mediante la ruptura de enlaces químicos.⁹ Este enlace físico, a diferencia de los enlaces químicos clásicos, se establece entre grupos de átomos o componentes, de manera que son necesarias al menos dos moléculas para la formación de *MIMs*. Los dos ejemplos arquetípicos de esta familia de moléculas son los catenanos y los rotaxanos (**Figura 1**).¹⁰

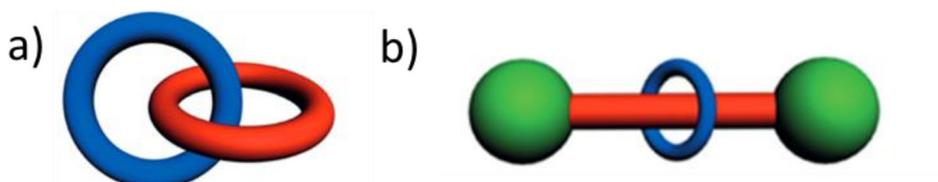


Figura 1: Representación esquemática de: a) un catenano, y b) un rotaxano.¹¹

Un catenano – de la palabra griega “*catena*” que significa cadena – consiste en dos o más moléculas macrocíclicas entrelazadas. Por otra parte, los rotaxanos – de las palabras latinas *rota*, que significa rueda, y *axle*, que significa eje – son moléculas con forma de mancuerna, que consisten en una molécula lineal (eje) que presenta grupos voluminosos en sus extremos (tapones o stoppers), y que se encuentra ensartada en una molécula macrocíclica (rueda) (**Figura 2**). Así, estos componentes se encuentran atrapados cinéticamente, debido al mayor tamaño de los tapones con respecto al diámetro de la molécula macrocíclica.^{9, 10} Además, es bastante habitual que la molécula eje presente en su estructura “estaciones de reconocimiento”, que interactúan mediante fuerzas no covalentes con la molécula macrocíclica.

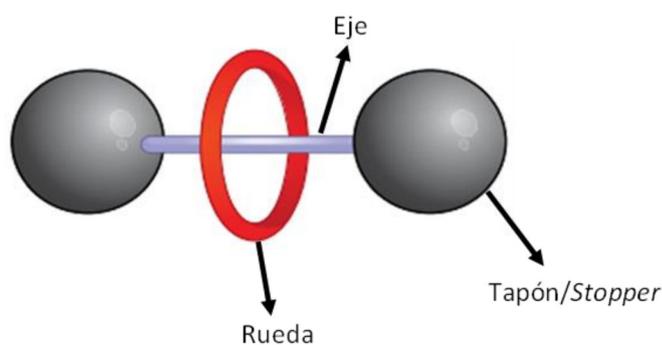


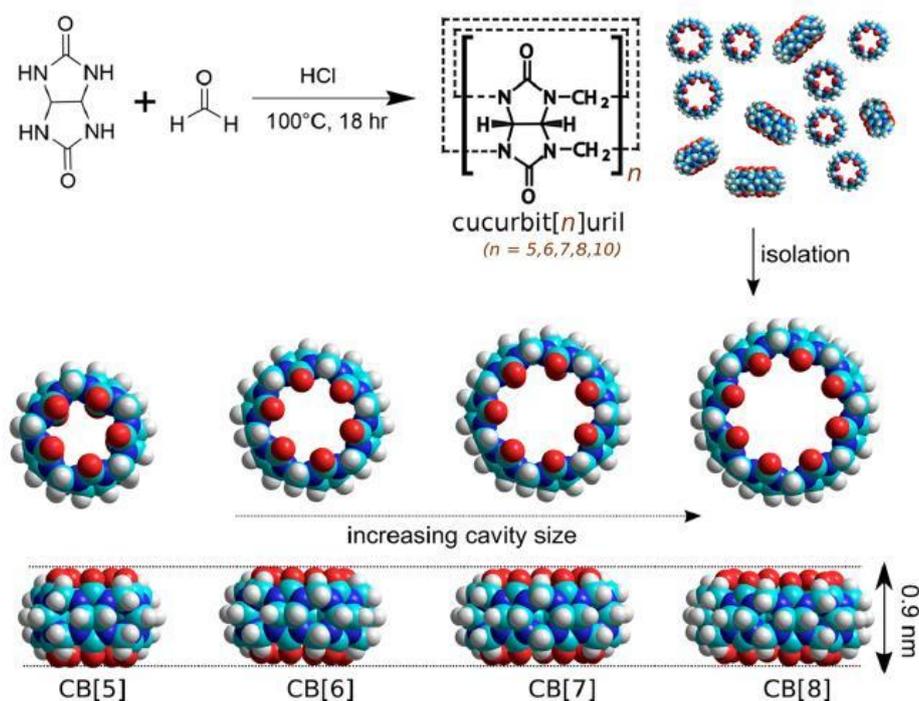
Figura 2: Representación esquemática de un [2]rotaxano y sus componentes.

El interés en los rotaxanos, se inició en un principio debido a la estética de estas estructuras entrelazadas, pero en la actualidad ha avanzado hacia un desarrollo para su uso como plataforma funcional con diversas aplicaciones, fundamentalmente en el área de la química de materiales, gracias a sus inusuales características de movilidad. En el caso de pseudorotaxanos – similares a rotaxanos pero sin la presencia de los *stoppers* – esta movilidad se debe, fundamentalmente, a la asociación o disociación del componente macrocíclico del eje lineal, lo que permite su potencial aplicación en dispositivos moleculares tales como nanovalvulas, sensores, interruptores o puertas lógicas.¹² En cuanto a los rotaxanos, los tipos de movilidad que poseen son la rotación y el desplazamiento del macrociclo a lo largo del eje, lo que en algunos casos se traduce en trabajo neto y por lo tanto en la obtención de máquinas moleculares artificiales.^{12, 17} A pesar de todos los trabajos realizados en el desarrollo de rotaxanos y pseudorotaxanos, su síntesis eficiente todavía

constituye un reto importante, especialmente en medio acuoso donde las interacciones y reactividad molecular están más restringidas.¹³

1.4. Pseudorotaxanos: cucurbiturilos como componentes tipo rueda y viológenos como unidades de reconocimiento

La familia de compuestos conocida como cucurbit[*n*]urilos (CB[*n*], *n* = 5-8, 10, 13-15), está formada por varios macrociclos de forma cilíndrica, que se obtienen de la reacción de condensación entre glicolurilo y formaldehído (**Esquema 2**). Tras una posterior separación y aislamiento, o mediante modificación de las condiciones de reacción, se pueden obtener macrociclos de diferente tamaño, que están constituidos por *n* unidades de glicolurilo conectadas por *2n* puentes de metileno.¹⁴

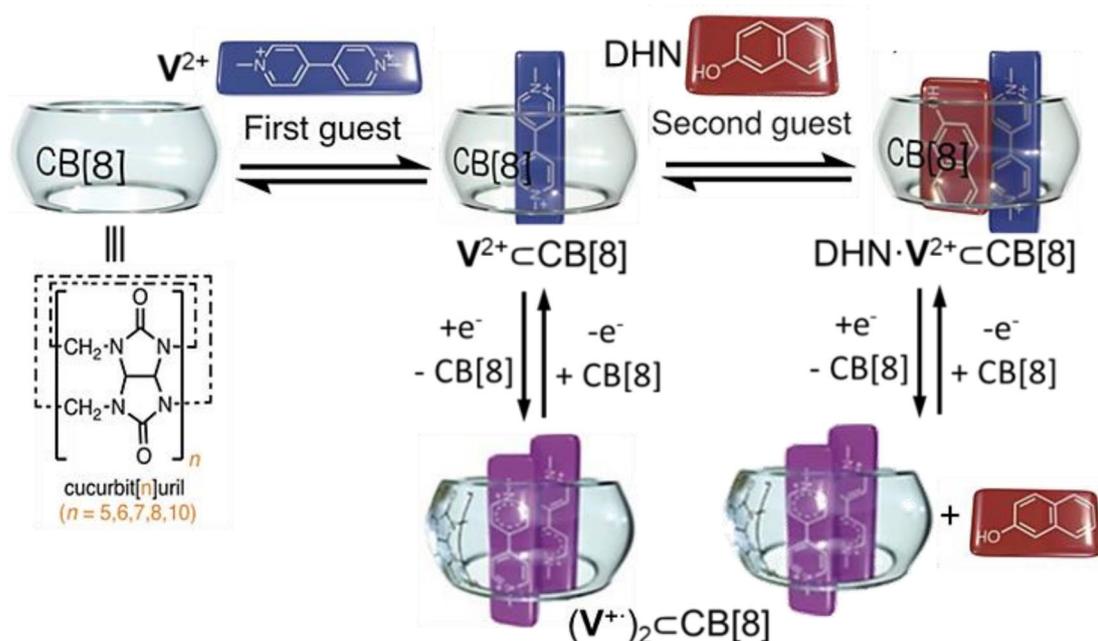


Esquema 2: (Arriba) Reacción de condensación entre glicolurilo y formaldehído. (Abajo) Representación comparativa de menor a mayor tamaño de CB[5]-CB[8].¹⁴

Los CB[*n*]s presentan una cavidad interna hidrofóbica de tamaño variable, delimitada por dos portales formados por grupos carbonilo fuertemente electronegativos. Estas características les permiten formar complejos de inclusión con diferentes sustratos, esencialmente regidos por interacciones catión-dipolo, efecto hidrofóbico y optimización del empaquetamiento.^{15,16} El diámetro de los portales y volumen de la cavidad, por tanto, van a determinar el tamaño de los sustratos con los que pueden formar complejos de inclusión. Así,

el CB[5] forma complejos de inclusión únicamente con moléculas de pequeño tamaño (N_2 , O_2 , CO_2 , CH_3CN , etc.). El CB[6] permite la inclusión de aminas alifáticas y aromáticas, mientras que el CB[7] es capaz de formar complejos de inclusión con moléculas aromáticas de mayor tamaño (p.e. derivados de naftaleno).¹⁵ El tamaño de la cavidad del CB[8] (1,7 veces mayor que el CB[7]), permite la formación con sustratos adecuados de inusuales complejos 1:2, homo- o heteroternarios.

En el caso de los complejos heteroternarios, éstos se producen por el efecto estabilizante de la transferencia de carga aumentada entre dos sustratos complementarios en términos de carácter aceptor o dador π (p.e. un derivado de 4,4'-bipiridinio como "*primer sustrato*" aceptor π , y un derivado de naftaleno como "*segundo sustrato*" dador π).^{14,16} En concreto, son bien conocidos los complejos de inclusión binarios que forman, tanto el CB[7] como el CB[8] con el paraquat (*N,N'*-4,4'-dimetilviológeno), así como numerosos complejos heteroternarios con este compuesto como primer *guest*.²⁵ Además, también es destacable la capacidad del CB[8] y del CB[7] de formar complejos con interruptores moleculares – moléculas que cambian su estructura y propiedades ante un estímulo externo reversible, como por ejemplo luz, pH, etc. – lo cual permite llevar esa capacidad de conmutación de molecular a supramolecular. Un ejemplo de esta capacidad se encuentra en el propio paraquat que, ante determinados estímulos redox, es capaz de reducirse para formar la especie catión-radical y estabilizar un complejo homodimérico con el CB[8]. Estas propiedades pueden explotarse para el diseño de sistemas en los que, ante determinados estímulos externos, se consigue un cambio de un complejo heteroternario a un homoternario, produciéndose la liberación del segundo sustrato (**Esquema 3**).¹⁷



Esquema 3: Implementación de conmutadores supramoleculares redox basados en complejos de inclusión entre CB[8] y viológenos (V²⁺).¹⁷

A todas estas características ya mencionadas, se suma la disponibilidad comercial de estos macrociclos, su baja toxicidad y su aceptable solubilidad en agua. Esto ha permitido que el uso de los cucurbiturilos (especialmente CB[7] y CB[8]) como compuestos cíclicos en el diseño de rotaxanos haya permitido aliviar parte de los problemas de su síntesis en medio acuoso.¹⁵

1.5. Sales de alquiltrialilfosfonio como tapones

En cuanto a la elección del componente *stopper* en el diseño de rotaxanos, la limitación más importante va a ser el efecto que tengan estos grupos voluminosos en la solubilidad en medio acuosos de las *MIMs*. En términos de su fácil accesibilidad comercial, así como de su derivatización, los derivados de sales de alquiltrialilfosfonio (**Figura 3**) resultan adecuados para su incorporación en el diseño de rotaxanos.¹⁸ A pesar de la naturaleza lipofílica de estos cationes, ésta no disminuye considerablemente la solubilidad en medio acuoso de los compuestos en los que se encuentran. Además, esta misma naturaleza lipofílica les permite atravesar con facilidad las membranas biológicas, por lo que resultan especialmente interesantes para aplicaciones en medios biológicos. En concreto, este tipo de cationes se incorporan arquetípicamente en el diseño de fármacos dirigidos específicamente a la mitocondria.¹⁸

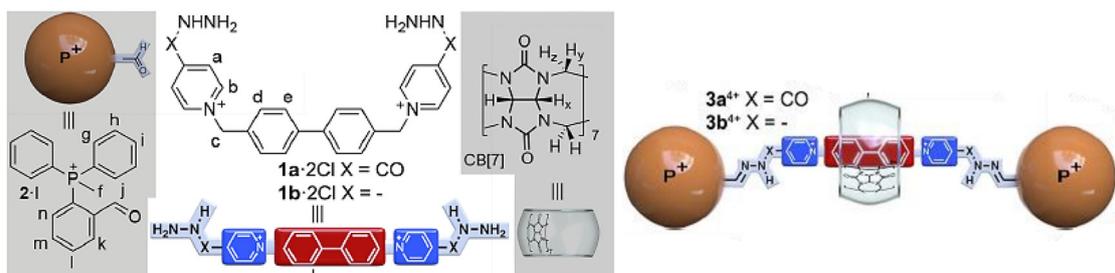


Figura 3: Estructura de [2] Rotaxano basado en CB[7], un derivado de viológeno y un derivado de alquiltrifenilfosfonio.¹⁸

Recientemente, el grupo de investigación ha reportado la obtención de [2]rotaxanos basados en CB[7] y CB[8] empleando sales de alquiltrifenilfosfonio como *stoppers*. Los resultados obtenidos mostraron que el uso de CB[7] permite obtener con relativa facilidad el rotaxano deseado, mientras que el empleo de CB[8] conduce a la formación inesperada de un complejo pseudoheteroternario entre el receptor y el *stopper* de trifenilfosfonio, con una elevada constante de asociación y con resultados concordantes con los cálculos DFT realizados.¹⁹

1.6. La mitocondria como diana farmacológica

La mitocondria es un orgánulo que juega diversos papeles fundamentales en el funcionamiento de la célula, principalmente en el metabolismo central del carbono, en la fosforilación oxidativa y en la biosíntesis de metabolitos intermediarios en el crecimiento celular. Además, también participa en numerosos procesos no relacionados tradicionalmente con este orgánulo, tales como la apoptosis, señalización celular, cáncer, inflamación, etc. (Figura 4).²⁰ En la actualidad es bien conocida la importancia de la mitocondria en numerosas enfermedades, causadas tanto por una disfunción directa del orgánulo (enfermedades mitocondriales directas), como otras enfermedades con una implicación menos directa del orgánulo (enfermedades mitocondriales secundarias), tales como procesos neurodegenerativos, enfermedades cardíacas, cáncer, disfunciones metabólicas, etc. Esto ha provocado que en los últimos años este orgánulo se haya presentado como un importante objetivo terapéutico para el desarrollo de nuevos tratamientos.²¹

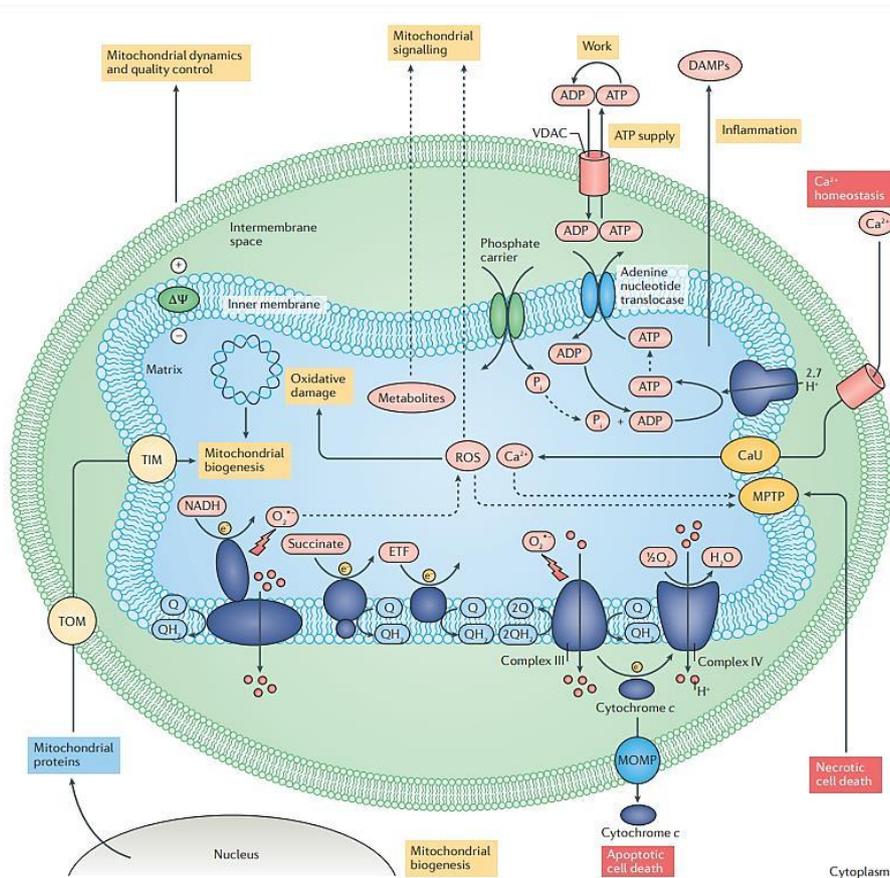


Figura 4: Representación esquemática del funcionamiento mitocondrial y su implicación en diversos procesos celulares.²⁰

A este respecto, resulta fundamental el desarrollo de nuevos fármacos que puedan actuar específicamente sobre dianas farmacológicas situadas en la mitocondria, así como de sistemas de liberación de fármacos que permitan la acumulación selectiva de estas sustancias de interés en el orgánulo. Para conseguir este objetivo, estos sistemas deben aprovecharse de las diferencias existentes entre el interior de la mitocondria y el resto del entorno celular, o bien de las diferencias entre los orgánulos de células sanas y enfermas.²² La primera diferencia resaltable se encuentra en el potencial negativo de la membrana mitocondrial interna (generado por el gradiente electroquímico empleado en la cadena respiratoria para la producción de ATP), que permite la acumulación selectiva, en contra de gradiente, de compuestos cargados positivamente en el interior del orgánulo, especialmente aquellos cationes lipófilos como por ejemplo las sales de alquiltriarilfosfonio. Por otro lado, también como resultado del gradiente de protones empleado para la producción de ATP, en el interior mitocondrial se produce un aumento del pH con respecto al pH citosólico (de 7.2-7.7 a 7.5-8.1).²² Esto permite la acumulación de compuestos ácidos con pK_a s en

torno al pH en el interior de la mitocondria. Además de estas consideraciones referentes al pH y a la membrana mitocondrial, recientemente se ha reportado como, a una temperatura constante de 38 °C, el interior de la mitocondria se encuentra 10 °C por encima de la temperatura celular cuando la cadena respiratoria está completamente operativa.²² Este hecho es especialmente relevante a la hora de diseñar vehículos farmacológicos basados en sistemas no-covalentes (sistemas supramoleculares), donde la constante de asociación decrece conforme aumenta la temperatura.

2. OBJETIVOS

Continuando con una de las líneas de investigación del grupo QUIMOLMAT-SUPRA, en el presente trabajo se pretende establecer los primeros pasos hacia el desarrollo de nuevos rotaxanos basados en CB[8] (**Figura 4**), con el potencial para actuar como interruptores supramoleculares para la liberación mitocondrial de fármacos según lo mostrado:

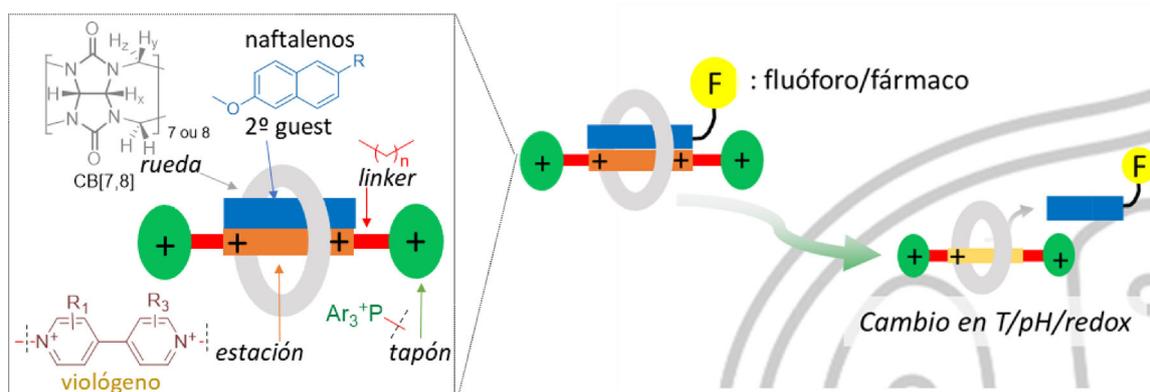


Figura 4. Esquematación de los [2]-rotaxanos basados en CB[8] como vehículos de internalización mitocondrial.

Así, en el presente trabajo se pretenden como objetivos específicos:

A. Síntesis y caracterización de modelos simplificados (**Figura 5**):

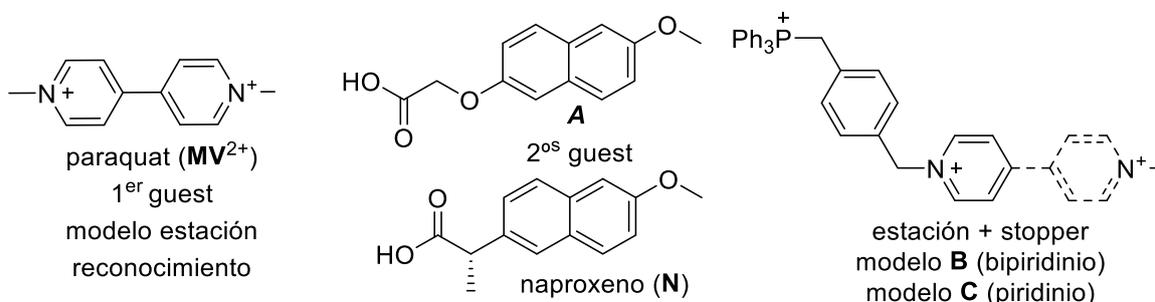


Figura 5. Componentes modelo planteados.

B. Complejos heteroternarios: estudio de la interacción de CB[8] con dimetilviólogoeno (paraquat, MV^{2+}), como aceptor π arquetípico y los derivados de naftaleno 2,6- disustituidos (**A** y naproxeno) como dadores π .

C. Modelos capados: estudio de interacción con CB[8] de dos modelos (**B** y **C**) compuesto de una estación de reconocimiento (viólogoeno o piridinio) capados con un único tapón (grupo trifenilfosfonio).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Diseño y elección de los modelos

Teniendo en cuenta el objetivo general del proyecto centrado en el desarrollo de rotaxanos multifuncionales basados en CB[8], en el presente trabajo se buscó emplear modelos simplificados de los componentes del eje, buscando estudiar su interacción con CB[8]. Esto, permitiría obtener la información necesaria para el desarrollo posterior de las correspondiente *MIMs* basadas en este macrociclo. En particular, teniendo en consideración específicamente uno de los rotaxanos objetivo **R₁** (**Figura 6**), se plantearon como modelos simplificados: 1) el compuesto comercial aceptor π *paraquat* (*N,N'*-4,4'-dimetilviológeno), como modelo de la estación de reconocimiento o 1^{er} sustrato; 2) los dadores π basados en naftaleno 2,6-disustituido naproxeno (fármaco antiinflamatorio comercial²⁴) y **A**, como cargos del potencial rotaxano y segundos sustratos del CB[8], 3) los modelos avanzados **B** y **C**, formados por una estación de reconocimiento (mono-/bi-piridinio) conectada por un linker de xileno a un tapón trifenilfosfonio.

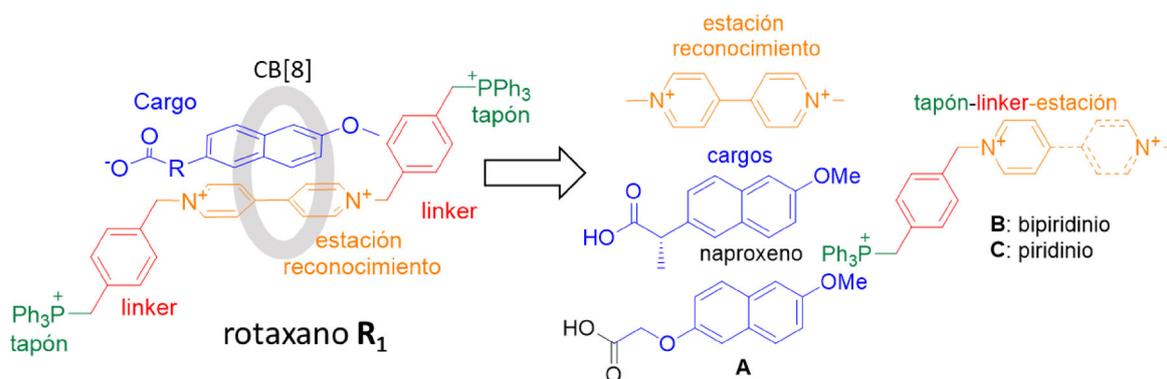


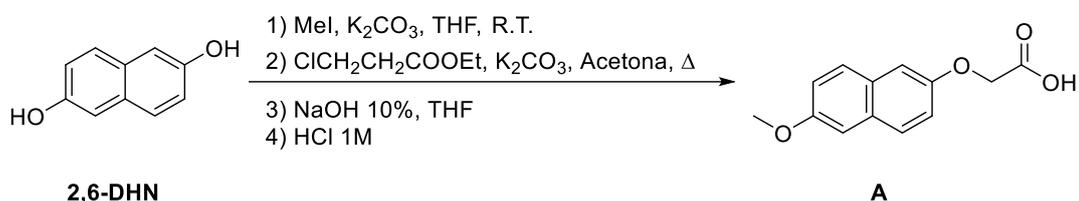
Figura 6. Componentes modelo planteados para el rotaxano **R₁**.

Así, el estudio de la formación de complejos binarios y heteroternarios entre CB[8] y los sustratos elegidos como primer y segundo sustrato, permitirían no solo establecer las características de los procesos de complejación, sino estimar además la viabilidad del grupo ácido carboxílico en el segundo guest como potencial punto de derivatización posterior del cargo. Por otra parte, el estudio de los modelos **B** y **C** nos permitirían evaluar la utilidad del trifenilfosfonio como potencial tapón, así como su potencial interferencia con la estación de reconocimiento de tipo (bi)piridinio en su unión al macrociclo.

3.2. Síntesis y caracterización estructural de modelos simplificados

Como se ha indicado, y del mismo modo que el receptor CB[8], los compuestos paraquat y naproxeno están disponibles comercialmente, siendo bien conocidos además sus características espectroscópicas. También, en el caso del *paraquat*, es bien conocido el complejo de inclusión 1:1 que forma con el CB[8], así como varios complejos heteroternarios con CB[8].^{12, 25} Por otra parte, y a continuación, se procede a discutir brevemente los procedimientos sintéticos y de asignación estructural del resto de compuestos modelo.

3.2.1. Síntesis del derivado de 2,6-DHN **A**



Esquema 4: Esquema de reacción para la obtención de **A**.

La síntesis del derivado **A** (**Esquema 4**) consiste en dos de etapas consecutivas de sustitución nucleófila bimolecular (S_N2), y finalmente una hidrólisis y tratamiento ácido para obtener el producto **6**. En primer lugar, se produce la monosustitución del 2,6-DHN empleando una base débil y defecto del electrófilo MeI. Posteriormente, tiene lugar una nueva sustitución a través del grupo OH libre (no sustituido en la etapa anterior) que ataca al carbono electrófilo del cloroacetato de etilo, obteniéndose el correspondiente éster del compuesto **A**. Finalmente, se hidroliza el éster en medio básico y posteriormente se protona mediante un tratamiento con HCl para obtener el producto **A** en un rendimiento global de 48%.

De cara al estudio de los procesos de complejación con el CB[8], resulta clave la determinación de los desplazamientos químicos del sustrato inducidos por la complejación. Así, resulta imprescindible el realizar una asignación estructural completa de todos los núcleos del compuesto **A**, empleando técnicas de ¹H/¹³C-RMN tanto monodimensionales como bidimensionales. En el espectro de ¹H-RMN (**Figura 7**) se pueden observar un total de 8 señales, 2 de ellas en la región alifática y 6 en la aromática. Los dos singuletes en la región alifática se pueden asignar de forma sencilla en base a su integración y desplazamiento. El singulete

más apantallado, que integra por 3H, se corresponde al grupo metoxilo (H_a), mientras que el singulete más desapantallado, que integra por 2H, se corresponde con los protones metilénicos del grupo CH_2 unido al grupo ácido (H_h). Por otro lado, las señales de la región aromática se pueden asignar empleando los espectros bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC) disponibles en el apartado Anexos. Los dos dobletes que aparecen a 7.79 y 7.76 ppm, se corresponden, por su elevada constante de acoplamiento ($J = 9.0$ Hz) con los protones H_f y H_b , respectivamente. A continuación, se puede observar a 7.34 ppm un doblete con un acoplamiento pequeño ($J=2.6$ Hz) correspondiente a H_d , y un doblete ($J_1=9.0$, $J_2=2.6$ Hz), a 7.23 ppm, que se corresponde con H_e . Finalmente, a 7.19 ppm, aparece un multiplete resultado de la superposición del doblete H_c y la señal de H_g .

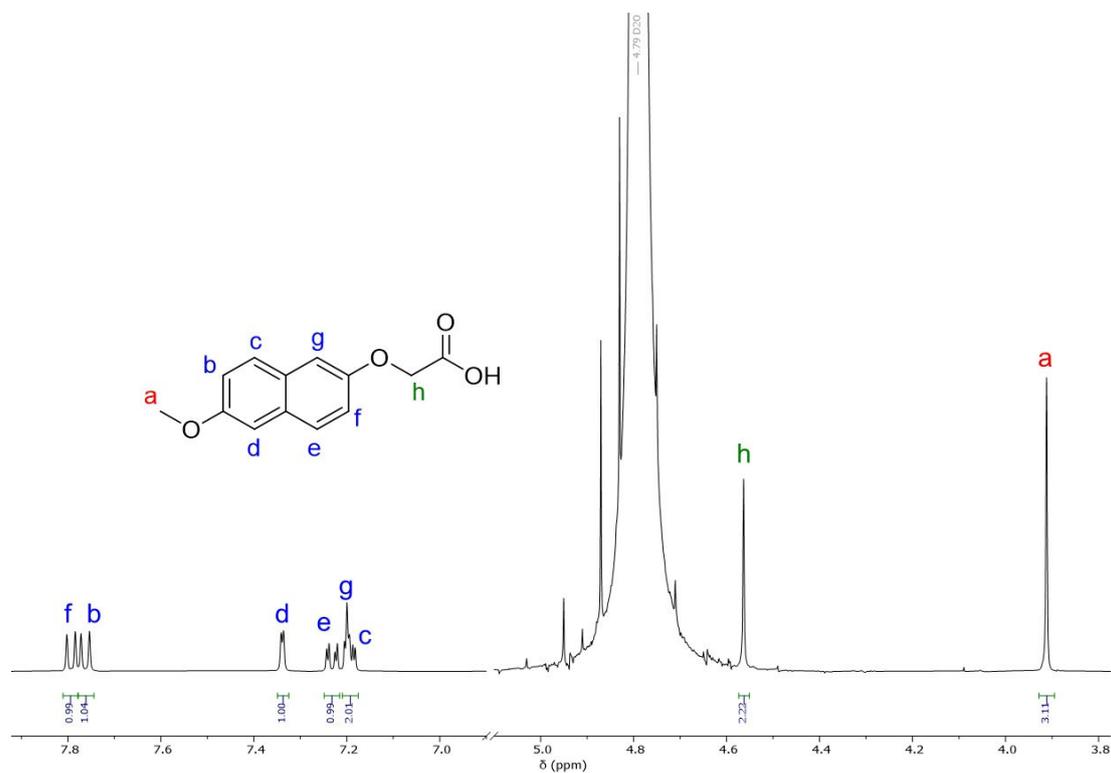
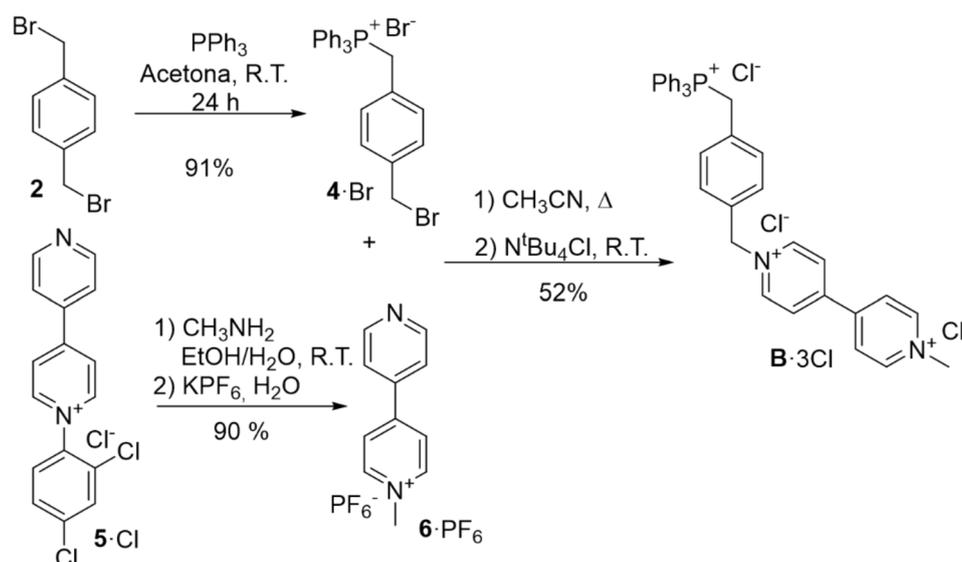


Figura 5: Espectro de 1H -RMN (D_2O , 500 MHz) de A.

3.2.2. Síntesis del Modelo Capado **B**



Esquema 5: Esquema de reacción para la obtención de **B**·3Cl.

La síntesis del compuesto **B**·3Cl se lleva a cabo mediante la ruta convergente mostrada en el **Esquema 5**. Así, los intermedios **4**·Br y **6**· PF_6 fácilmente accesibles (ver parte experimental) se hacen reaccionar entre sí en acetonitrilo a reflujo. De esta forma, se produce la sustitución nucleófila entre la sal hexafluorofosfato de *N*-metil-4,4'-bipirinio **6** y el bromuro bencílico **4**·Br (**Esquema 5**). La sustitución se ve favorecida en un medio polar aprótico como es el acetonitrilo, precipitando el producto en el medio de reacción, lo que facilita su aislamiento y purificación mediante lavados. Posteriormente, se realiza una reacción de metátesis para obtener el compuesto deseado como triclorigen, sal soluble en medio acuoso que se obtiene con un satisfactorio rendimiento global del 43 %.

Así, el producto **B**·3Cl se caracterizó empleando técnicas de $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN tanto mono como bidimensionales. En el espectro de ^1H -RMN (**Figura 8**) se pueden observar 11 señales, 3 de las cuales en la región alifática y 8 en la región aromática. Comenzando por la región aromática, las dos señales más desapantalladas se tratan de dos dobletes (a 9.09 y 9.02 ppm) que se corresponden con los Hs en posición α a los nitrógenos de la biperidina (H_e y H_b respectivamente). El siguiente juego de dos dobletes, que aparecen a 8.52 y 8.48 ppm, se corresponden con los protones en posición β respecto a los nitrógenos cargados positivamente, H_d y H_c , respectivamente. A continuación, se observan

dos multipletes (a 7.83 y 7.62 ppm) que se corresponden con los protones de los grupos fenilo de la trifenilfosfina. Los otros dos dobletes que aparecen en la región aromática se corresponden con los protones del grupo fenilo que une la trifenilfosfina con la biperidina, y se asignan fácilmente empleando los espectros bidimensionales. El doblete situado a 7.30 ppm se corresponde con H_g, mientras que el doblete a 7.07 ppm se corresponde con H_h. En cuanto a la región alifática, se pueden observar 3 singletes que se asignan de forma sencilla en base a su desplazamiento e integración. El singlete más apantallado (a 4.47 ppm), que integra por 3 Hs, se corresponde con el grupo metilo unido al nitrógeno de la biperidina (H_a). El singlete más desapantallado (a 5.85 ppm), que integra por 2 Hs, se corresponde a los protones del grupo CH₂ unido al nitrógeno de la biperidina (H_r). Finalmente, el otro singlete que se encuentra en la región alifática se corresponde con los protones metilénicos del CH₂ unido al fósforo del grupo trifenilfosfina, cuya señal se encuentra solapada con la del disolvente (a 4.77 ppm). La asignación de estas señales se realiza empleando los espectros bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC) así como el espectro de ¹³C-RMN y el DEPT-135, disponibles todos en el apartado Anexos.

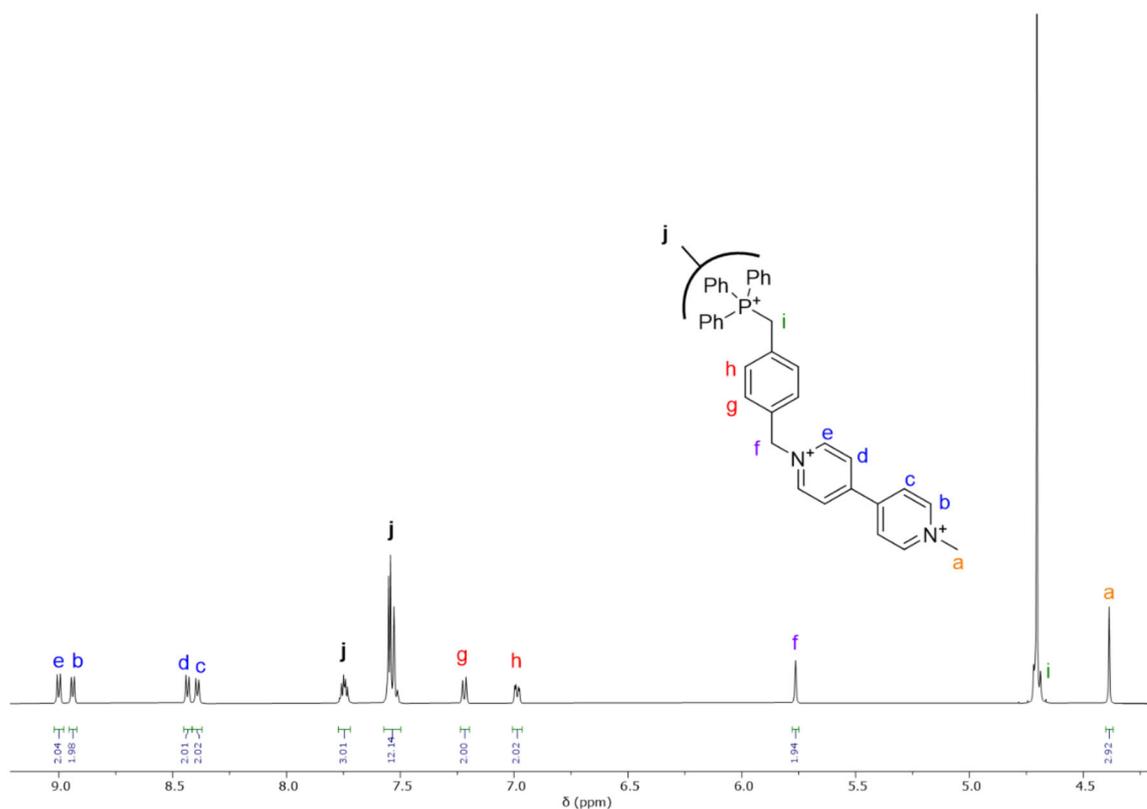
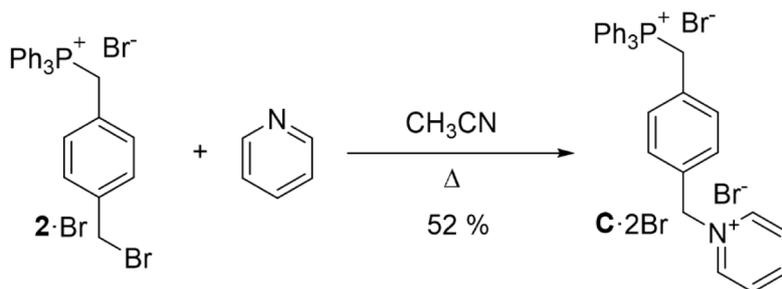


Figura 6: Espectro de ¹H-RMN (D₂O, 500 MHz) de **B**·3Cl.

3.2.3. Síntesis del Modelo Capado **C**



Esquema 6: Esquema de reacción para la obtención de **C·2Br**

Como complemento al estudio del modelo **B**, se planteó la preparación de un modelo más simplificado, en el cual se elimina en este uno de los grupos piridinio. Así, la síntesis de **C·2Br** consiste, una vez más, en una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ entre el intermedio **2·Br** y piridina (**Esquema 6**), que conduce a **C·2Br** con un rendimiento global del 47%.

El producto obtenido se caracterizó estructuralmente, una vez más, empleando las técnicas de $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -RMN tanto mono como bidimensionales. En el espectro de ^1H -RMN (**Figura 9**) se pueden observar 9 señales correspondientes al producto **C·2Br**, 7 de ellas en la región aromática y 2 en la región alifática. Estas señales se pueden asignar a los correspondientes Hs en base a su desplazamiento químico, integración y multiplicidad, así como empleando los espectros bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC), así como el espectro de ^{13}C -RMN y el DEPT-135, todos ellos disponibles en el apartado Anexos. En primer lugar, en cuanto a las señales de la región aromática, el doblete que aparece a mayor desplazamiento (8.85 ppm) se corresponde a los dos Hs en alfa al nitrógeno de la piridina (H_c). La siguiente señal, a 8.56 ppm, se trata de un triplete que se corresponde con H_a , mientras que el otro triplete, a 8.07 ppm, se corresponde con los H en beta al nitrógeno de la piridina (H_b). A continuación, aparecen dos multipletes (a 7.84 y 7.62 ppm) que se corresponden con los hidrógenos de los fenilos del grupo trifenilfosfina (H_h). Los dos dobletes (a 7.25 y 7.04 ppm) se asignan a los protones del anillo aromático que conecta el grupo trifenilfosfina con la piridina. El doblete que aparece a 7.25 ppm se corresponde con los protones H_e , mientras que el otro doblete se corresponde con H_f . Finalmente, en la región alifática se observan dos singletes correspondientes a los protones metilénicos de la estructura. El singlete más

desapantallado (a 5.74 ppm) se corresponde con los Hs del grupo CH₂ unido al nitrógeno del anillo de piridina (H_d); mientras que la otra señal, que aparece solapada con la señal del disolvente, se corresponde con los protones metilénicos del CH₂ unido al fósforo (H_g).

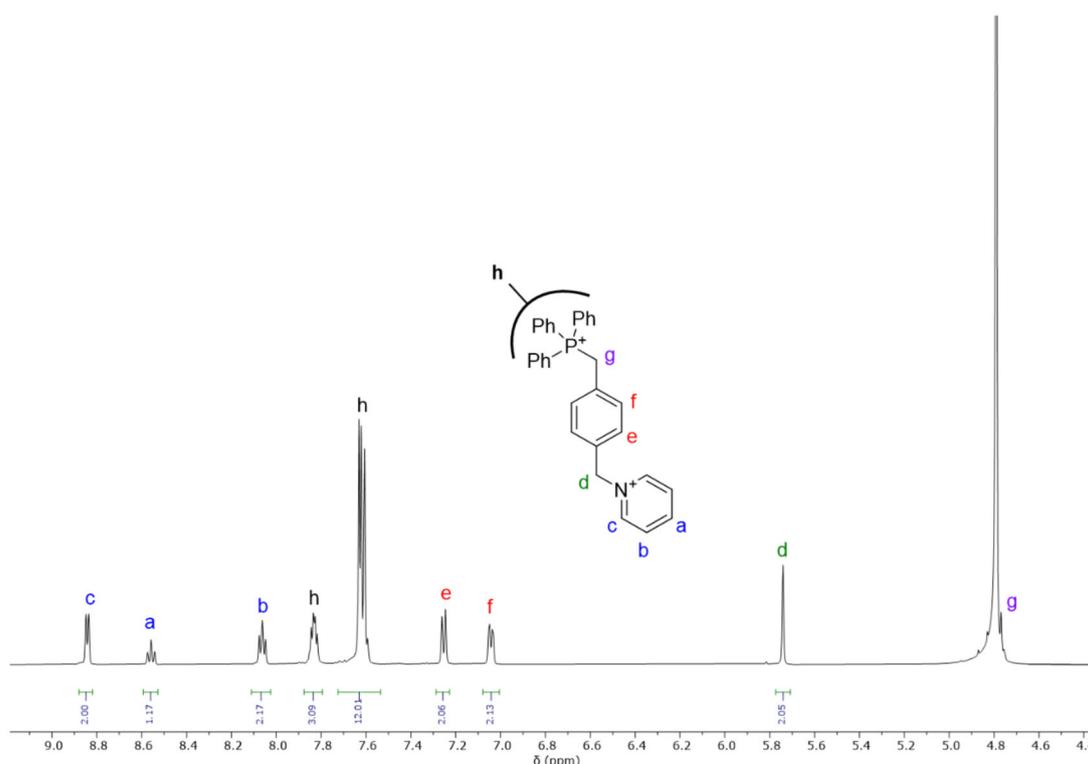


Figura 7: Espectro de RMN (D₂O, 500 MHz) de **C·2Br**.

3.3. Estudio de complejación con sustratos modelo paraquat, **A** y **N**

Para estudiar de manera cualitativa, mediante ¹H-RMN, la formación de los complejos heteroternarios basados en CB[8] y los distintos sustratos modelo paraquat, naproxeno y **A**, se registraron los espectros de las distintas mezclas equimolares de estequiometría adecuada a pD = 3, 7 y 12 con el objetivo de estudiar tanto los procesos de complejación como el efecto, si lo hubiese, de la protonación/desprotonación de los grupos ácido presentes tanto en el sustrato **A** como en el **naproxeno (N)**.

3.3.1. Complejo **MV²⁺⊂CB[8]**.

El complejo de inclusión binario **MV²⁺⊂CB[8]** es uno de los más estudiados²⁵, siendo sus características espectroscópicas bien conocidas. Así, el espectro registrado para una mezcla 1:1 a concentración 16.7 μM de receptor y sustrato a pD 7, muestra un apantallamiento de las señales de MV²⁺ con

respecto a las señales del sustrato libre (espectro del MV^{2+} a una concentración 16.7 μM a pD7). El cambio en el desplazamiento de señales y la integración relativa de las señales de MV^{2+} con respecto a las del CB[8], junto al espectro de masas correspondiente, corrobora la formación del complejo binario $MV^{2+} \subset CB[8]$.^{25a} La constante de asociación de este complejo presenta un valor de $(1.1 \pm 0.3) \cdot 10^5 M^{-1}$ a 25 °C en medio acuoso, determinada mediante valoración fotométrica.^{25b}

3.3.2. Proceso de complejación de MV^{2+} , **A** y CB[8].

Para el estudio cualitativo del proceso de complejación entre el CB[8] y los sustratos MV^{2+} y **A**, se compararon los espectros de 1H -RMN de una serie de mezclas de estequiometría 1:1:1 a concentración 1 mM de receptor y sustratos a diferentes pH, con respecto al espectro del complejo 1:1 $MV^{2+} \subset CB[8]$ y al espectro del sustrato **A** libre (**Figura 8**).

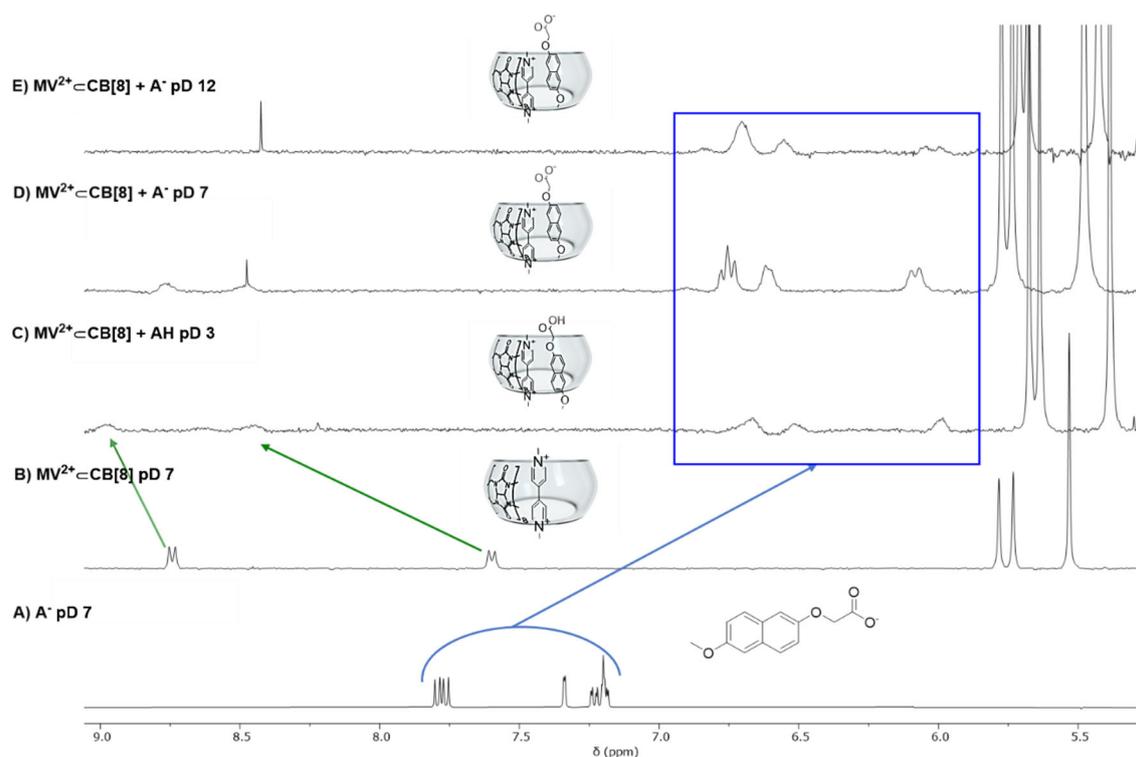


Figura 8: Espectros de 1H -RMN (D_2O , 500 MHz) de: A) compuesto **A** 2 mM a pD7, B) complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$ 1 mM, y mezcla 1:1 1mM de **A** y $MV^{2+} \subset CB[8]$ a C) pD 3 (AH), D) pD 7 (A^-) y E) pD 12 (A^-). En verde se representa el desplazamiento de las señales de MV^{2+} y en azul el de las señales de **A**.

En primer lugar, a la vista de la comparativa de espectros de la **Figura 8** es posible concluir que se produce la formación de un nuevo complejo que implica las tres especies a los tres pDs estudiados (3, 7 y 12). Este razonamiento se

fundamenta en el hecho de que para ninguno de los experimentos realizados sobre las disoluciones a distintos pD del *host* con los dos *guest*, se observan los desplazamientos químicos ya discutidos, correspondientes al complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$, o al sustrato **A** sin complejar. Así, a los tres pDs, se observa un apantallamiento de las señales de los protones del biciclo naftaleno del segundo sustrato, como resultado de potenciales interacciones π - π que establecería en el interior de la cavidad el derivado naftalénico con el paraquat en un complejo de tipo heteroternario. Aún en este caso, las señales observadas se encuentran en una situación de coalescencia cercana a equilibrio rápido en la escala de tiempos de RMN, lo que dificulta enormemente el estudio del complejo formado. Por otro lado, es resaltable que se produzca la formación del complejo heteroternario a pH = 12 en el que el grupo ácido del sustrato **A** se encuentra desprotonado ($pK_a \approx 4-5$), ya que en este se podrían establecer interacciones repulsivas anión-dipolo con los grupos carbonilo del portal del CB[8]. Una posible explicación es que el sustrato esté incluido solo parcialmente en el receptor, de tal forma que el grupo carboxilato se aleje de los carbonilos del portal evitando así las interacciones repulsivas.

Para completar el estudio de este proceso de complejación mediante RMN se podrían obtener los espectros a temperatura variable de las mezclas equimolares del sustrato **A** y el complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$ a diferentes pH, con el objetivo de determinar la temperatura de coalescencia las señales de los sustratos. Esto permitiría realizar una asignación más precisa (empleando los espectros bidimensionales a esa temperatura) lo que facilitaría la determinación de la estequiometría del complejo y el modo de inserción. También habría que tener en cuenta que, conforme aumenta la temperatura se favorece la disociación del complejo heteroternario. Además, otras técnicas experimentales como la espectrometría de masas permitirían confirmar la formación del complejo, o la calorimetría isotérmica de titulación que podría ser útil para determinar el valor de la constante de asociación del complejo heteroternario.

3.3.3. Procesos de complejación ente MV^{2+} , naproxeno (**N**) y CB[8]

Al igual que se realizó para el complejo con el sustrato **A**, se compararon los espectros de 1H -RMN de una serie de mezclas de estequiometría 1:1:1 a concentración 1 mM de receptor y sustratos a diferentes pH (pD = 7 y 12), con

respecto al espectro del complejo 1:1 $MV^{2+} \subset CB[8]$ y al espectro del naproxeno (**N**) libre (Figura 9).

En primer lugar, cabe destacar de nuevo la formación de un nuevo complejo tanto a pD 7 como 12, lo que sugiere que, posiblemente, el sustrato puede adaptarse en la cavidad para evitar que el grupo ácido desprotonado interactúe con los portales del CB[8], al igual que se observaba en el complejo que implica al sustrato **A**. En este caso, de manera similar al caso anterior, las señales del MV^{2+} se ensanchan y entran en coalescencia de manera que son difíciles de asignar en el espectro. Con respecto a las señales del naproxeno, el efecto es similar pero no sufren un cambio en el desplazamiento tan significativo, si bien resulta también difícil su asignación debido al ensanchamiento de las señales como resultado de la formación del nuevo complejo.

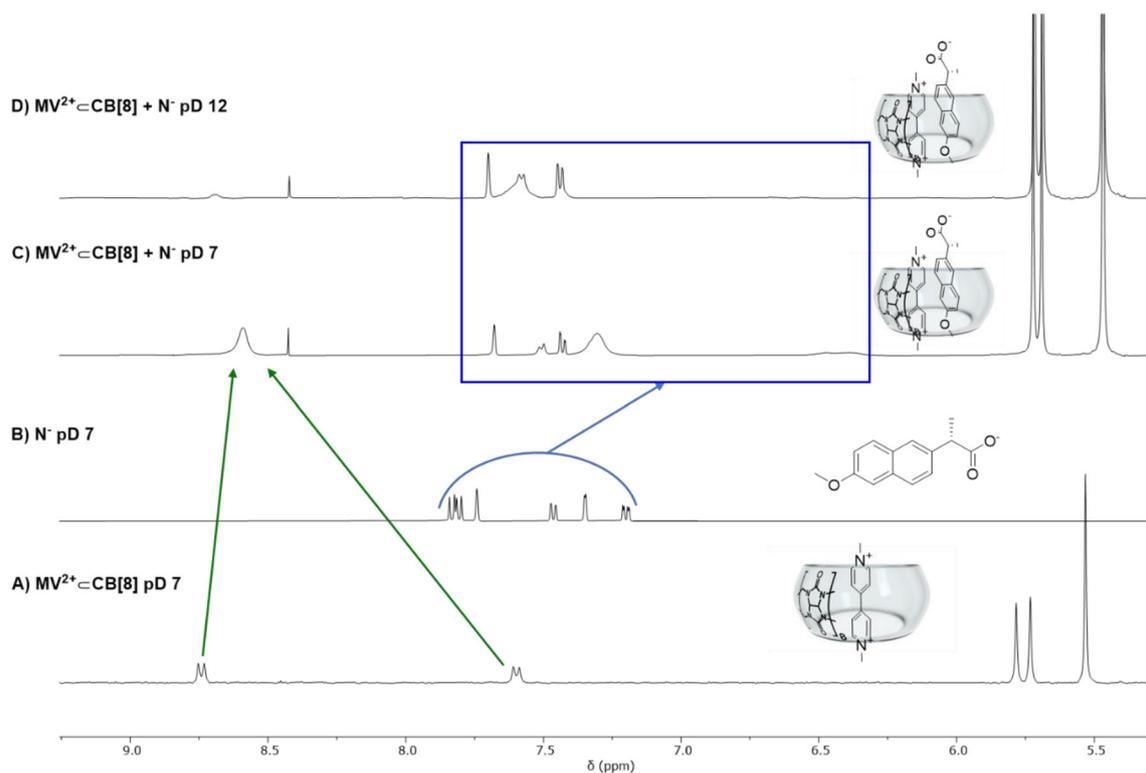


Figura 9: Espectros de ¹H-RMN (D₂O, 500 MHz) de: A) complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$ 1mM a pD 7, B) compuesto **N** 2mM a pD 7, y mezclas 1:1 1 mM de complejo $MV^{2+} \subset CB[8]$ y **N** a C) pD 7 y D) pD 12. En verde se representa el desplazamiento de las señales de MV^{2+} y en azul el de las señales de **N**.

3.3.4. Cálculos DFT-D para los potenciales complejos heteroternarios

Con el fin de estudiar más en detalle los complejos discutidos en el anterior apartado, se decidió realizar un estudio computacional mediante métodos de estructura electrónica de la teoría del funcional de densidad corregido para dispersión (DFT-D).²⁶ En el mismo, se pretende evaluar a través de la estimación de las energías libres para los procesos, la potencial formación de complejos heteroternarios entre CB[8] como host, MV^{2+} como primer guest, y los pares AH/A^- NH/N^- como segundo guest.

Así, para la obtención de las variaciones en la energía libre para los procesos de complejación en medio acuoso $H + G_1 + G_2 \rightleftharpoons G_1 \cdot G_2 \subset H$ (H: host, G_1 : 1^{er} guest, G_2 : 2^o guest, $G_1 \cdot G_2 \subset H$: complejo heteroternario), se siguió una aproximación supramolecular multinivel como la propuesta por Grimme y colaboradores,²⁶ donde:

$$\Delta G_{aq}^{\circ} = G_{aq}^{\circ}(G \subset H) - G_{aq}^{\circ}(G_1) - G_{aq}^{\circ}(G_2) - G_{aq}^{\circ}(H) \text{ (Ecuación 1)}$$

Así, para el computo de la energía libre de Gibbs para cada especie (X), implícitamente dependiente de la temperatura, ésta es computada como:

$$G_{aq}^{\circ}(X) = [E_{gas}^{DFT}(X) + \delta_{solv}(X)] + G_{gas, mrrho}^{\circ}(X) \text{ (Ecuación 2)}$$

Con el fin de seguir una metodología computacionalmente eficiente, las geometrías de los compuestos fueron minimizadas en fase gaseosa usando el método de estructura electrónica compuesto r^2 scan-3c,²⁷ comprobando la naturaleza de las estructuras obtenidas como mínimos locales en las consiguientes superficies de energía potencial. A continuación, el término $E_{gas}^{DFT}(X) + \delta_{solv}(X)$ para cada especie se computa mediante cálculos energéticos de punto simple al nivel SMD(agua)/ ω B97X-D4/def2-QZVP// r^2 -scan3c. Así, el uso del funcional híbrido ω B97X²⁸ corregido para dispersión (D4),²⁹ en combinación con el conjunto base de Alrich de calidad quadruple- ζ def2-QZVP,³⁰ y el modelo de solvatación implícita SMD de Thrular y colaboradores,³¹ garantiza una mejor evaluación de las energías electrónicas y de solvatación para las distintas especies. Del mismo modo, las correcciones termoestadísticas correspondientes a la conversión de energía a energía libre se estimaron asimismo sobre las estructuras minimizadas con r^2 scan-3c, a través de cálculos de Hessiano de punto simple al nivel de cálculo semiempírico GFN2-

XTB,³² usando el método de solvatación implícito ALPB para emular el medio acuoso,³³ y considerando el esquema modificado de rotor rígido-oscilador armónico propuesto por Grimme y colaboradores.²⁶ En la tabla se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los complejos considerados:

Especies (X)	$E_{gas}^{DFT} + \delta_{solv}$ (X, ha)	$G_{gas,mrrho}^{\circ}$ (X, ha)	G_{aq}° (X, ha)	
HOSTS				
CB[8]	-4818.144745	0.957695	-4817.187050	
GUESTS				
NH	-768.269969	0.200060	-768.069909	
N⁻	-767.805058	0.187986	-767.617071	
AH	-804.167600	0.176939	-803.990661	
A⁻	-803.708748	0.164569	-803.544179	
MV²⁺	-575.4092327	0.189955	-575.219277	
GCH				$\Delta G_{gas,mrrho}^{\circ}$ (X, kcal/mol)
MV²⁺⊂CB8	-5393.593876	1.178462	-5392.415414	-5.7
MV²⁺·NH⊂CB8	-6161.920266	1.408054	-6160.512212	-22.6
MV²⁺·N⁻⊂CB8	-6161.436345	1.393997	-6160.042348	-11.9
MV²⁺·AH⊂CB8	-6197.810458	1.383842	-6196.426616	-18.6
MV·A⁻⊂CB8	-6197.336006	1.366697	-6195.969309	-11.8

Tabla 1: Valores computados de energías libres de asociación incluyendo las distintas componentes discutidas en el texto.

En lo referente a los valores obtenidos, estos muestran en todos los casos valores negativos, apuntando a procesos de asociación permitidos termodinámicamente. En primer lugar, cabe destacar el buen acuerdo entre el valor obtenido para el complejo **MV²⁺⊂CB[8]** y el experimental ($\Delta G_{exp}^{\circ} = -6.9$ kcal/mol)^{25b}. Son destacables, además, las discrepancias encontradas en la predicción de las energías libres para los procesos de los compuestos modelo protonados (ácidos carboxílicos) o desprotonados (carboxilatos), que presentan claras diferencias en los valores estimados de $\Delta\Delta G^{\circ} = 10.7$ kcal/mol para **NH/N⁻** y $\Delta\Delta G^{\circ} = 6.8$ kcal/mol para **AH/A⁻**. Estas diferencias pueden explicarse en base a dos factores estructurales: el primero sería que la presencia de una carga negativa implica la repulsión de esta con los portales electronegativos del receptor, efecto más acusado en el caso de **N⁻** que presenta una distancia menor entre la carga negativa y el núcleo aromático que **A⁻**. Por otra parte, como se

puede ver en la **Figura 10**, en ambos casos la desprotonación implica además la pérdida de un enlace de hidrógeno entre el protón del correspondiente ácido y un grupo carbonilo de uno de los portales del macrociclo.

En general, podría decirse que los cálculos computacionales soportan la idea de que los procesos de complejación observados experimentalmente puedan corresponderse, como era esperado, a la formación de aductos de tipo heteroternario.

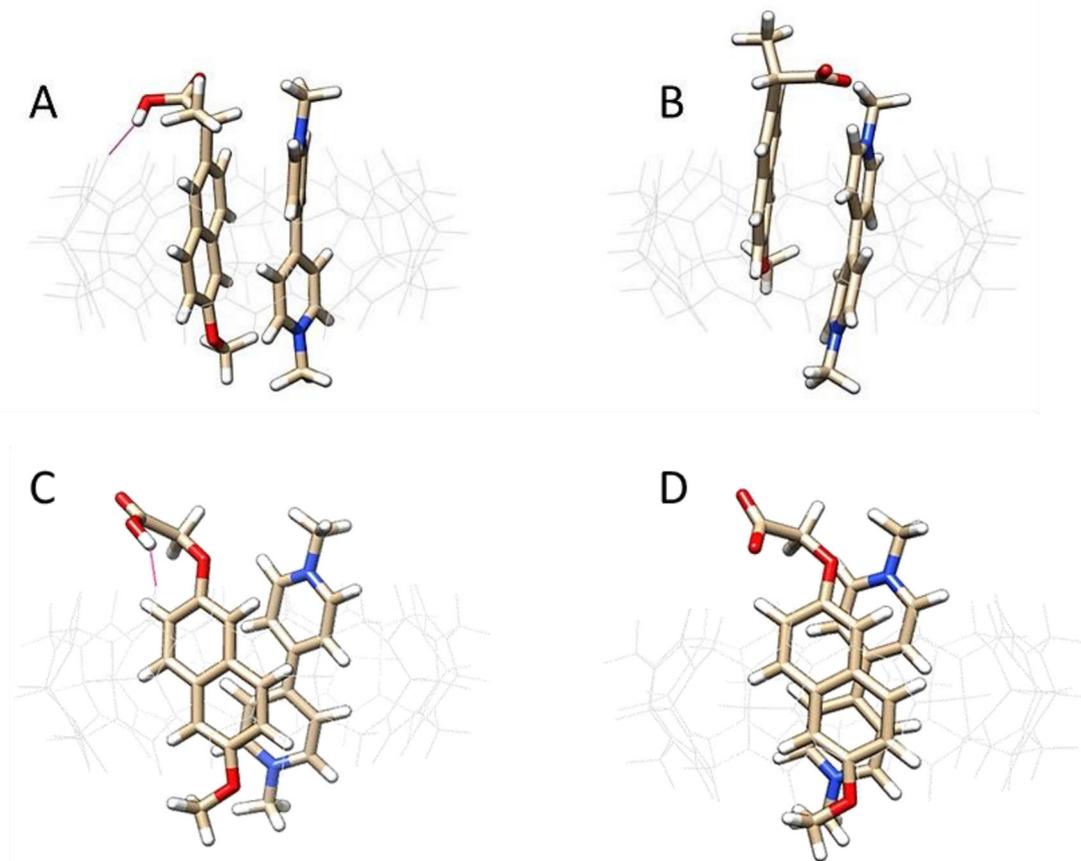


Figura 10: Representación de varillas (*guests*, coloreados como: C: crema, O: rojo, N: azul, H: blanco) y alambre (CB[8], todos los átomos coloreados por claridad como grises), para las estructuras minimizadas al nivel de cálculo DFT r^2 scan-3c(gas) de: A) $MV^{2+} \cdot NH \subset CB[8]$, B) $MV^{2+} \cdot N \subset CB[8]$, C) $MV^{2+} \cdot AH \subset CB[8]$, E) $MV^{2+} \cdot A \subset CB[8]$.

3.4. Estudio de los complejos de CB[8] con los modelos B y C

3.4.1. Estudio del proceso de complejación entre el modelo B^{3+} y CB[8]

En primer lugar se realizó un estudio cualitativo mediante 1H -RMN, comparando los espectros para distintas disoluciones 1 mM del compuesto $B \cdot 3Cl$ con CB[8] a 0, 0.5 y 1 equivalentes (**Figura 13**). A diferencia de lo discutido en el apartado 3.2., en éste caso se puede comprobar que el equilibrio de formación del complejo $B^{3+} \subset CB[8]$ es lento en la escala de tiempos de RMN, a

la vista del espectro de la disolución 2:1 (*guest:host*), donde se observan las señales correspondientes a una nueva especie y las señales del sustrato libre. La observación de las señales de todas las especies implicadas en el equilibrio, permite no solo la determinación directa de la estequiometría del complejo por integración relativa (1:1 en este caso), sino también la determinación por el mismo método de la constante de asociación. Sin embargo, debido al considerable error asociado a la integración, y a la falta de más espectros a diferentes estequiometrías, la determinación de la constante resultaría demasiado imprecisa. Por esta razón se recurre a otra técnica como la calorimetría isotérmica de titulación, que además permite la determinación inmediata de todos los parámetros termodinámicos correspondientes.

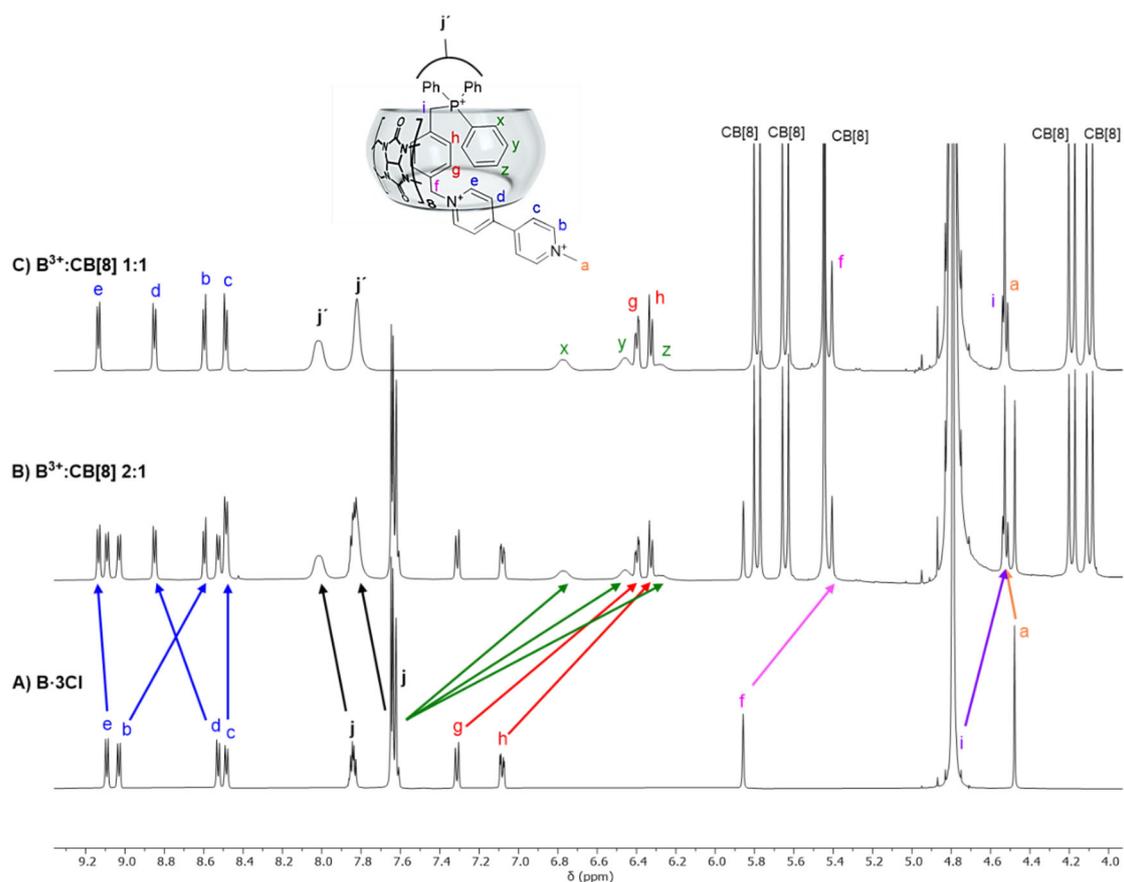


Figura 11: Espectros de ^1H -RMN (D_2O , 500 MHz) de mezclas 1 mM para: A) $\text{B}\cdot 3\text{Cl}$, B) $\text{B}\cdot 3\text{Cl}:\text{CB}[8]$ 2:1 y C) de $\text{B}\cdot 3\text{Cl}:\text{CB}[8]$ 1:1.

La situación indicada de equilibrio lento resulta además la más ventajosa desde el punto de vista de la elucidación estructural de la geometría del complejo. Así, en el espectro de la mezcla 1:1 de $\text{CB}[8]$ y B^{3+} se pueden observar dos juegos de dobletes correspondientes a los protones del grupo CH_2 de los

portales del receptor, lo que implica la no equivalencia de los dos portales carbonílicos en el complejo. En cuanto a las señales asignadas a $\text{B}\cdot\text{3Cl}$ en el complejo con la ayuda de experimentos de RMN 1D/2D, la primera situación resaltable es el fuerte apantallamiento mostrado tanto por los singletes de los grupos metilénicos (H_{i-f}), como de todos los protones del grupo xililo, lo que sugiere la inclusión de este fragmento dentro de la cavidad del receptor. Por otra parte, los desplazamientos de las señales correspondientes a la estación bipyridínica aparecen menormente afectados por la complejación y de una forma más errática, con algunas de sus señales experimentando un leve desapantallamiento en buen acuerdo con su posicionamiento no dentro, sino fuera del receptor y expuestos al efecto de la corona carbonílica del CB[8]. Por último, resultan sorprendentes la afectación del grupo trifenilfosfonio por parte del CB[8]. Así, se puede observar un desdoblamiento de las señales de los grupos fenilo del PPh_3^+ en: a) un grupo de dos singletes anchos que integran por 10 Hs (H_j), ligeramente desapantallados y, b) un grupo 3 señales que se apantallan notablemente (aproximadamente 0.8-1.2 ppm) correspondientes a H_x - H_z . Esta situación, recientemente reportada por el grupo de investigación en sistemas similares,¹⁹ se debe a la inserción en el interior de la cavidad del CB[8] de un grupo fenilo del fosfonio formando un inusual complejo pseudoheteroternario. Así, el sistema se va a encontrar en un equilibrio de intercambio de los grupos fenilo del PPh_3^+ , entre su disposición en el interior o el exterior de la cavidad. Este intercambio de entrada/salida presenta una barrera energética relativamente baja (de aproximadamente 15.0 kcal/mol, para los sistemas estudiados previamente)¹⁹, permitiendo que el intercambio tenga una velocidad lenta en la escala de tiempos de RMN.

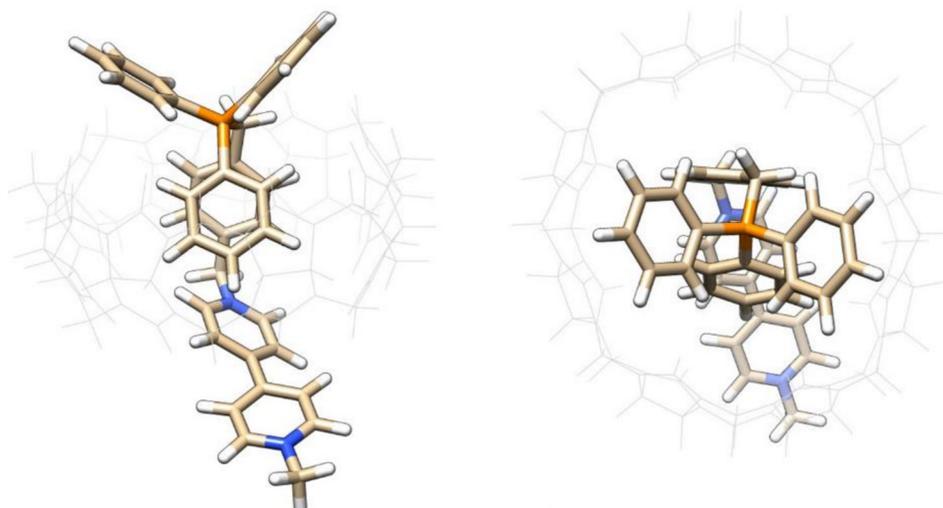


Figura 12: Visión frontal y cenital para un mínimo local del complejo $B^{3+} @CB[8]$ al nivel de cálculo DFT-D SMD(agua)/ r^2 scan-3c del complejo (detalles de la representación en **Figura 10**).

En la **Figura 12** se muestra la estructura minimizada mediante DFT-D para el complejo $B^{3+} @CB[8]$ en medio acuoso, correspondiente a un mínimo en la superficie de energía potencial del complejo, y que representa con fidelidad el modo de interacción hallado experimentalmente. A pesar de lo inusual del modo de inserción, éste se puede racionalizar en base a un mejor empaquetamiento *host-guest* que en aquellas situaciones en las que se introdujese únicamente un anillo aromático dentro de la cavidad, produciéndose la introducción de dos anillos aromáticos sin que las interacciones catión-dipolo fosfonio/piridino-corona carbonílica se vean demasiado afectadas.

Para finalizar, los experimentos de calorimetría isoterma de titulación permitieron obtener los parámetros termodinámicos para la formación del complejo $B^{3+} @CB[8]$, los cuales se recogen en la **Tabla 2**. El conjunto de interacciones que se establecen, sumado al mejor coeficiente de empaquetamiento (con la consiguiente liberación de moléculas de agua del interior de la cavidad) incrementa notablemente la estabilidad termodinámica del complejo, lo que se refleja en la constante de asociación determinada, con un valor de $3.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, considerablemente elevada para tratarse de un complejo de estequiometría 1:1 con el CB[8]. Las representaciones gráficas y el ajuste de los datos experimentales de ITC se pueden encontrar en el apartado Anexos.

K_d (M)	$2.638 \cdot 10^{-8}$
K_a (M ⁻¹)	$3.791 \cdot 10^7$
n	1.732 ± 0.005
ΔG (kJ/mol)	-43.26
ΔH (kJ/mol)	-31.88 ± 0.281
ΔS (J/mol·K)	38.17
$-T\Delta S$ (kJ/mol)	-11.38

Tabla 2: Parámetros termodinámicos calculados para el complejo $B^{3+} \subset CB[8]$, mediante ajuste de los datos experimentales de ITC a un modelo independiente ($\alpha = 95\%$) empleando el software NanoAnalyze. **n** indica la estequiometría del complejo.

3.4.2. Estudio del proceso de complejación entre el modelo C^{2+} y CB[8]

Como en el caso anterior, en primer lugar se realizó un estudio cualitativo mediante 1H -RMN comparando distintas disoluciones del compuesto $C \cdot 2Br$ con CB[8] a 0, 0.5 y 1 equivalentes (**Figura 13**).

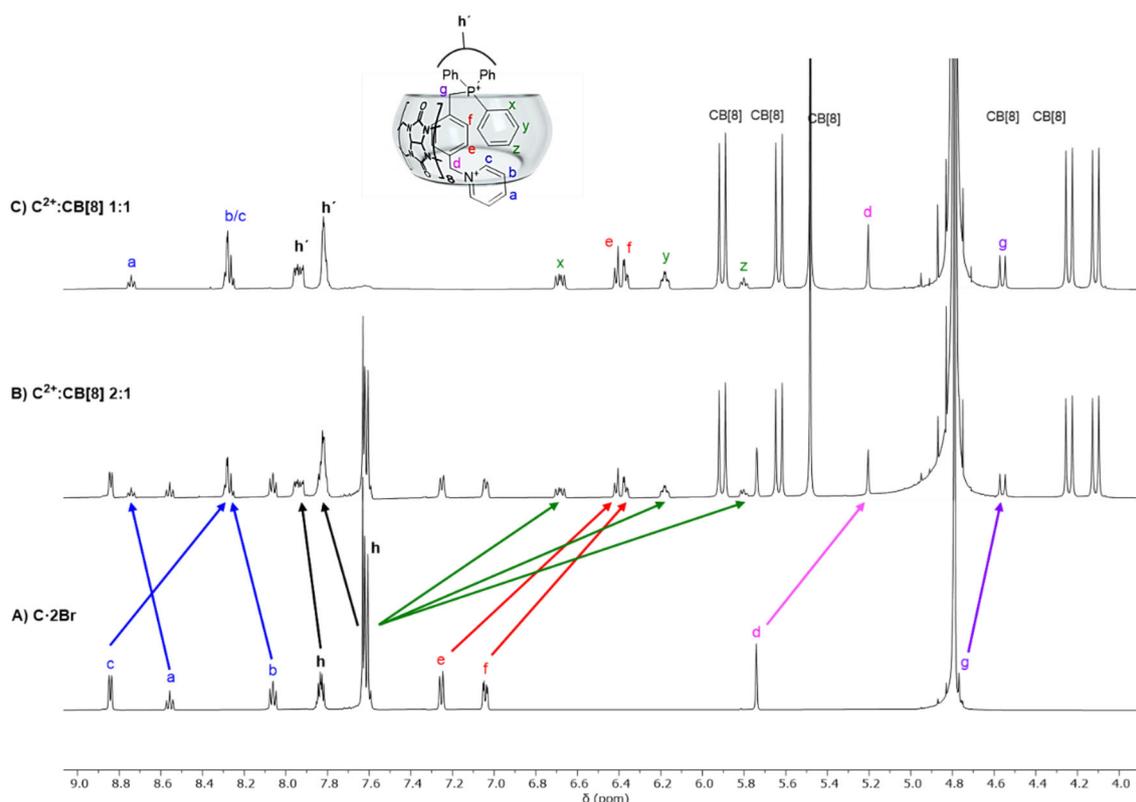


Figura 13: Espectros de 1H -RMN (D_2O , 500 MHz) de disoluciones 1mM de: A) $C \cdot 2Br$, B) mezcla 2:1 de $C \cdot 2Br:CB[8]$ y C) mezcla 1:1 de $C \cdot 2Br:CB[8]$.

A la vista del espectro de la mezcla 2:1 de $C^{2+}:CB[8]$ (**Figura 13B**), los resultados obtenidos son similares a los ya comentados para la complejación del modelo B^{3+} , pudiéndose observar la formación de una nueva especie distinta a

los componentes de partida y en equilibrio lento con estos en la escala de tiempos de RMN, observándose las señales correspondientes al substrato \mathbf{C}^{2+} libre y señales en buen acuerdo con un complejo de inclusión de estequiometría 1:1, tal y como sucedía en el caso del complejo $\mathbf{B}^{3+}\text{-CB}[8]$. Como en este, para el modelo \mathbf{C}^{2+} se pueden observar una serie de características que apuntan a la formación de un complejo pseudoheteroternario $\mathbf{C}^{2+}\text{-CB}[8]$: desdoblamiento de las señales de los protones metilénicos del CB[8], apantallamiento significativo del grupo xililo del *linker*, y desdoblamiento de las señales de los grupos fenilo del grupo PPh_3^+ en un grupo de dos multipletes. En este caso, dicho desdoblamiento es todavía más claro con un grupo de señales para dos grupos fenilo fuera del receptor que integran por 10 Hs (H_h), ligeramente desapantallados, y 3 señales que se apantallan notablemente (hasta más de 1 ppm) correspondientes a H_{x-z} . Como para el modelo \mathbf{B}^{3+} , esta situación se debe a la inserción en el interior de la cavidad del CB[8] de uno de los grupos fenilo del PPh_3^+ . En este caso, a diferencia de lo que se observaba para el complejo $\mathbf{B}^{2+}\text{-CB}[8]$, las señales desdobladas de los fenilos del grupo $^+\text{PPh}_3$ (H_h y H_{x-z}) no se encuentran en una situación de coalescencia parcial, sino que aparecen como señales de multiplicidad definida. Esto se debe a que en este caso la velocidad de intercambio de los grupos fenilo debe ser más baja que lo observado para el complejo $\mathbf{B}^{2+}\text{-CB}[8]$ y que lo reportado en sistemas similares.¹⁹ Finalmente, otro aspecto resaltable a la vista de la **Figura 13** es la aparente introducción parcial del anillo de piridina en el interior de la cavidad del CB[8], como parece indicar la señal correspondiente a los protones en alfa al N del anillo (H_c), que sufren un apantallamiento respecto al substrato libre. Además, las otras dos señales del heterociclo (H_a y H_b) sufren únicamente un ligero desapantallamiento. Mucho menos acusado del esperado si se encontrasen en la zona exterior de la corona carbonílica.



Figura 14: Visión frontal y cenital para un mínimo local del complejo $C^{2+} @CB[8]$ al nivel de cálculo DFT-D SMD(agua)/r²scan-3c del complejo (detalles de la representación en **Figura 10**).

Al igual que para el complejo $B^{3+} @CB[8]$, el modo de inserción observado experimentalmente se corresponde con un mínimo encontrado mediante DFT-D en la superficie de energía potencial para el compuesto en agua (**Figura 15**), la cual estaría favorecida por un mayor coeficiente de empaquetamiento *host-guest*. Este conjunto de interacciones estabilizantes explica los parámetros termodinámicos obtenidos mediante calorimetría isotérmica de titulación (**Tabla 3**) para este complejo de inclusión, con una constante de asociación de $3.2 \cdot 10^7$ M⁻¹ considerablemente elevada para tratarse de un complejo 1:1. Las correspondientes representaciones gráficas de los resultados de ITC obtenidos se pueden encontrar en el apartado Anexos.

K_d (M)	$3.133 \cdot 10^{-8}$
K_a (M⁻¹)	$3.192 \cdot 10^7$
n	1.354 ± 0.0004
ΔG (kJ/mol)	-42.83
ΔH (kJ/mol)	-44.06 ± 0.363
ΔS (J/mol·K)	-4.11
-TΔS (kJ/mol)	1.226

Tabla 3 Parámetros termodinámicos calculados para el complejo $C^{2+} @CB[8]$, mediante ajuste de los datos experimentales de ITC a un modelo independiente ($\alpha = 95$ %) empleando el software NanoAnalyze. **n** indica la estequiometría del complejo.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Procedimientos generales

Los reactivos y disolventes empleados en las síntesis son comerciales y no fueron sometidos a purificaciones adicionales. El agua de calidad MiliQ empleada se obtuvo a partir de un equipo *Millipore Gradient A10*. Para el seguimiento de algunas reacciones se realizó una cromatografía en capa fina utilizando cromatofolios de gel de sílice *Merck 60 F254* que se revelaron mediante luz ultravioleta (254 y 360 nm). En el caso de necesitar el uso de agitación por ultrasonidos se empleó un equipo *Branson 2510*.

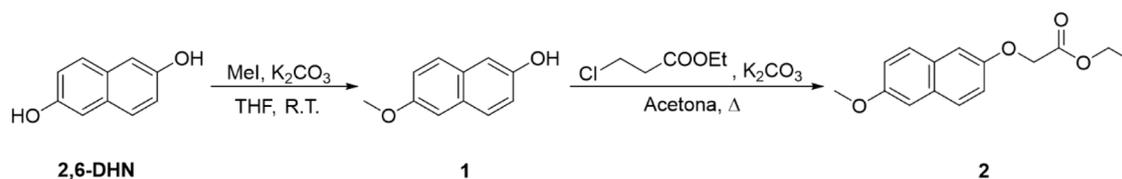
Para el seguimiento de las reacciones por ^1H -RMN se utilizó un equipo *Bruker Avance 300* (300 MHz) mientras que para la caracterización estructural y estudio de complejos de inclusión se empleó el equipo *Bruker Avance 500* (500 MHz para ^1H y 126 MHz para ^{13}C), de mayor resolución, que pertenece al SAI (Servicio de Apoyo a la Investigación). Como disolventes para la preparación de las muestras se emplearon D_2O , CDCl_3 y CD_3CN .

Para la determinación de las constantes de asociación y otros parámetros termodinámicos mediante calorimetría de titulación isotérmica se empleó un equipo NanoITC de TA Instruments, y para el tratamiento de datos se empleó el software NanoAnalyze de la misma casa comercial.

Para llevar a cabo el estudio computacional mediante métodos de estructura electrónica de la teoría del funcional de densidad corregido para dispersión (DFT-D)²⁶ se utilizó el software ORCA v.5.0.3³⁴ para todos los cálculos, salvo aquellos correspondientes a las correcciones termoestadísticas, realizados con el método semiempírico GFN2-XTB³⁵ integrado en el programa de libre distribución XTB v. 6.4.1.³⁶

4.2. Síntesis de modelos simplificados

4.2.1. Síntesis del éster de A

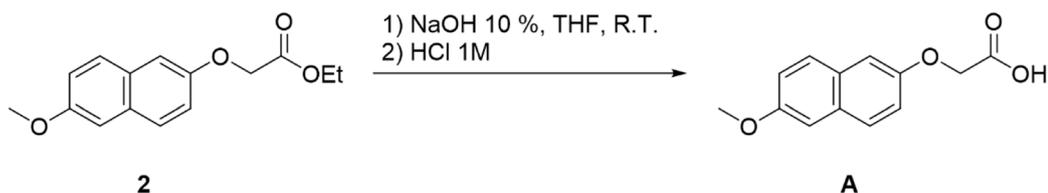


Se disuelven 1,84 g de 2,6-DHN (11.48 mmol, 1 eq) y 1,74 g de K_2CO_3 (12.63 mmol, 1.1 eq) en 20 mL de THF. A continuación, se adicionan 785 μL de MeI (12.63 mmol, 1.1 eq) y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 120 h. Tras ese tiempo se diluye con 100 mL de H_2O y se extrae con Et_2O (3×50 mL). Se lava la fase orgánica con H_2O ($3 \times 30\text{mL}$) y se concentra a sequedad. Se disuelve en 50 mL de NaOH 10%, se filtra y se neutraliza con HCl 1M hasta la formación de un precipitado. Se filtra a vacío el precipitado formado, se lava con H_2O (3×15 mL) y se deja a secar en la línea de vacío. Se obtiene el intermedio **1** como un sólido pulverulento de color blanco (763 mg, rendimiento del 38 %).

Se disuelven 500 mg de **1** (2.87 mmol, 1 eq) y 3 g de K_2CO_3 (21.7 mmol, 7.7 eq) en 100 mL de acetona. A continuación, se adiciona 1 mL de cloroacetato de etilo (9.2 mmol, 3.2 eq) y se deja a reflujo (65°C) durante 24 h. Tras ese tiempo se filtra a vacío, se diluye con 100 mL de Et_2O y se lava con HCl 1 M (2×50 mL) y H_2O (2×50 mL). Se concentra a sequedad la fase orgánica y se purifica mediante una columna de sílice empleando como eluyente una mezcla 2:8 de AcOEt:Hexano. Tras la purificación, se concentran a sequedad los tubos correspondientes al producto **2** puro, obteniéndose un sólido blanquecino (353 mg, rendimiento del 56 %) cuya identidad se comprobó en base a sus datos espectroscópicos.

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.67 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.9, 2.6$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.9, 2.6$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 4.71 (s, 2H), 4.30 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **$^{13}\text{C RMN}$** (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 169.13, 156.57, 130.40, 129.53, 128.56, 128.40, 119.26, 107.67, 106.10, 65.76, 61.52, 55.43, 14.31.

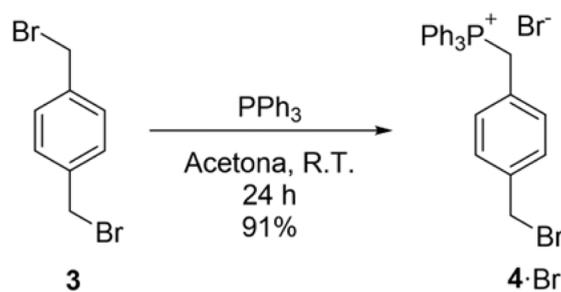
4.2.2. Síntesis del segundo sustrato **A**



Se disuelven 133 mg de **2** (0,509 mmol, 1 eq) en 30 mL de THF. A continuación, se adicionan 30 mL de una disolución de NaOH 10 % y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. Tras ese tiempo se añaden 30 mL de HCl 1 M, se extrae con CH₂Cl₂ (3 × 15 mL), se concentra a sequedad la fase orgánica y se deja en la línea de vacío. Se obtiene el producto **A** como un sólido pulverulento de color blanco (94 mg rendimiento del 86 %), cuya identidad se confirmó en base a sus datos espectroscópicos.

¹H RMN (500 MHz, D₂O) δ (ppm): 7.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H), 7.12 – 7.09 (m, 2H), 4.48 (s, 2H), 3.83 (s, 3H). **¹³C RMN** (126 MHz, D₂O) δ (ppm): 176.83, 155.53, 154.34, 129.63, 129.48, 128.49, 118.89, 118.62, 107.18, 106.57, 66.78, 55.35. **HR-ESI-MS**: *m/z* calculado para [C₁₀H₆O₂]²⁺ 158.0373, encontrado 158.0374 (100 %); *m/z* calculado para [C₁₃H₁₁O₄]⁻ 231.0662, encontrado 231.0661 (8.31 %).

4.2.3. Síntesis del precursor **4·Br**

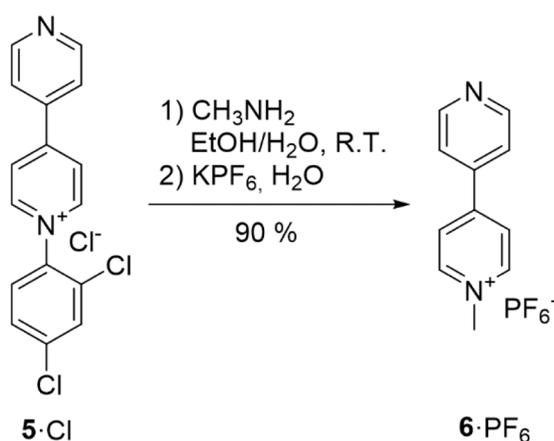


Se disuelven 1,00 g de trifetilfosfina (3.81 mmol, 1 eq) y 2,00 g de α, α'-dibromo-*p*-xileno **3** (7.63 mmol, 2 eq) en 40 mL de acetona. La disolución se deja 24 horas en agitación a temperatura ambiente. Tras ese tiempo se filtra el sólido formado, se lava con Et₂O (3 × 15 mL) y se deja a secar en la línea de vacío durante 24 h. Se obtiene el producto **4·Br** como un sólido pulverulento

blanquecino (1.82 g, rendimiento del 91 %) cuya identidad se comprobó en base a su espectro de $^1\text{H-RMN}$.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, D_2O) δ (ppm): 7.84 – 7.73 (m, 3H), 7.65 – 7.47 (m, 12H), 7.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H), 4.65 (s, 2H), 4.46 (s, 2H).

4.2.4. Síntesis del precursor $6 \cdot \text{PF}_6$

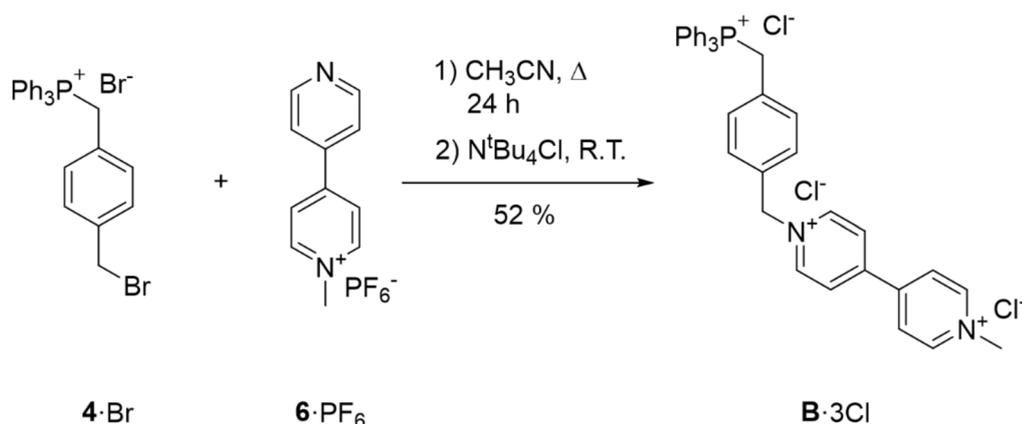


Se disuelven 1.5 g de $5 \cdot \text{Cl}$ (3.5 mmol, 1 eq) en 60 mL de una mezcla $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1. A continuación, se adicionan lentamente 1.2 mL de CH_3NH_2 (14.7 mmol, 4.2 eq). La disolución se deja agitando a temperatura ambiente durante 2 h 30'. Se lava la disolución con AcOEt (6 \times 30 mL), se concentra la fase acuosa y se deja a secar en la línea de vacío. Se obtiene el producto $6 \cdot \text{Cl}$ como un sólido (650 mg, rendimiento del 90 %) cuya identidad se comprobó en base a sus datos espectroscópicos.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, D_2O), δ (ppm): 8.88 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 8.73 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H), 8.36 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.88 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.42 (s, 3H). $^{13}\text{C-RMN}$ (126 MHz, D_2O), δ (ppm): 153.48, 150.09, 149.89, 145.54, 142.59, 125.69, 122.41, 47.74. **HR-ESI-MS**: m/z calculado para para $[\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2]^+$ 117.0916; encontrado 117.0916 (100.00 %).

Se disuelve el sólido obtenido en 50 mL de H_2O , se adicionan 3 g de KPF_6 (16 mmol, 5 eq) y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El precipitado obtenido se filtra, se lava con H_2O (2 \times 15 mL) y Et_2O (2 \times 15 mL) y se deja a secar en la línea de vacío. Se obtiene el producto $6 \cdot \text{PF}_6$ como un sólido anaranjado (650 mg, rendimiento del 100 %).

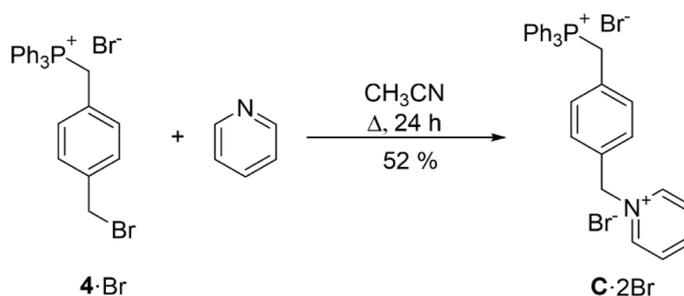
4.2.5. Síntesis del modelo capado **B** 3Cl



Se disuelven 162 mg de **4·Br** (0.307 mmol, 1 eq) y 292 mg de **6·PF₆** (0.921 mmol, 3 eq) en 15 mL de CH₃CN y se deja a reflujo con agitación durante 24 h. Tras ese tiempo se concentra sequedad y se lava con H₂O (2 × 15 mL) y Et₂O (3. × 20 mL). Se redisuelve el sólido obtenido en 15 mL de CH₃CN, se adicionan 500 mg de NBu₄Cl (1.5 mmol, 5 eq) y se deja con agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El precipitado formado se filtra y se lava con CH₃CN (2 × 15 mL) y con Et₂O (3 × 15 mL) obteniéndose el producto **B·3Cl** como un sólido de color marrón (135 mg, rendimiento del 52 %), cuya identidad se comprobó en base a sus datos espectroscópicos.

¹H-RMN (500 MHz, D₂O), δ (ppm): 9.09 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 9.02 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 8.52 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 8.48 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.83 (m, 3H), 7.62 (m, 12H), 7.30 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.07 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 2H), 5.85 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 4.47 (s, 3H). **¹³C-RMN** (126 MHz, D₂O) δ (ppm): 163.04, 162.75, 150.60, 149.53, 146.29, 145.43, 135.15, 135.12, 134.06, 133.99, 132.69, 132.66, 132.01, 131.97, 129.89, 129.78, 129.63, 129.56, 129.54, 127.07, 126.60, 117.41, 117.30, 116.60, 115.09, 64.08, 48.28, 29.47, 29.08. **³¹P-RMN** (400 MHz, D₂O), δ (ppm): 22.60. **HR-ESI-MS**: m/z calculado para [C₁₁H₁₁N₂]⁺ 117.0916, encontrado 117.0916 (100.00 %); m/z calculado para [C₁₈H₁₅P]⁺ 262.0906, encontrado 262.0904 (95.49 %), m/z calculado para [C₁₉H₁₉Br₂ClN₂Na₃]²⁺ 268.6215, encontrado 268.6213 (55.68 %).

4.2.6. Síntesis del modelo capado **C** 2Br

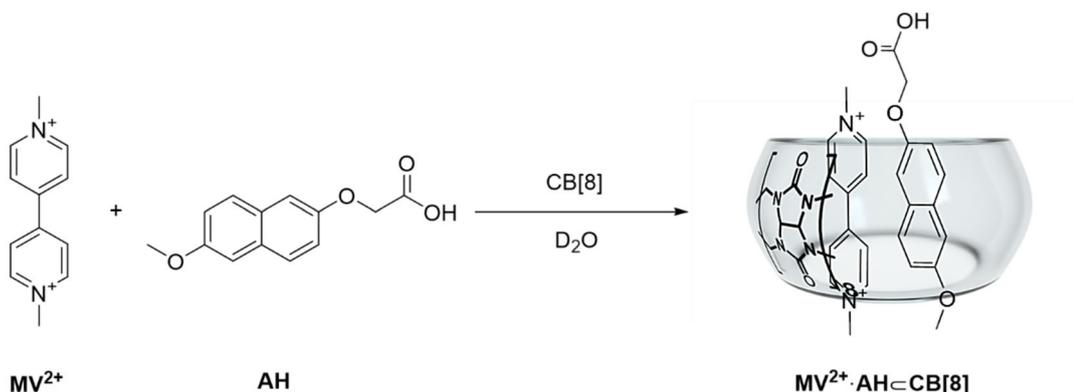


Se disuelven 435 mg de **4·Br** (0.826 mmol, 1 eq) en 25 mL de CH_3CN y se adicionan 200 μL de piridina (2.5 mmol, 3 eq). La disolución se deja a reflujo con agitación durante 24 h. Se filtra el precipitado formado, se lava con CH_3CN ($2 \times 15 \text{ mL}$) y con Et_2O ($2 \times 15 \text{ mL}$) y se deja a secar en la línea de vacío durante 24 h. Se obtiene el producto **C·2Br** como un polvo blanquecino (260 mg, rendimiento del 52 %) cuya identidad se comprobó en base a sus datos espectroscópicos.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, D_2O), δ (ppm): 8.85 (d, $J = 5.6 \text{ Hz}$, 2H), 8.56 (tt, $J = 8.0$, 1.4 Hz, 1H), 8.07 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2H), 7.84 (m, 3H), 7.62 (m, 12H), 7.25 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 2H), 7.04 (dd, $J = 8.3$, 2.5 Hz, 2H), 5.74 (s, 2H), 4.77 (s, 1H). **$^{13}\text{C-RMN}$** (126 MHz, D_2O), δ (ppm): 146.14 (CH), 144.24 (CH), 135.11 (CH), 134.06 (CH), 133.23 (C), 129.86 (CH), 129.32 (CH), 128.39 (CH), 117.29 (C), 116.60 (C), 63.87 (CH_2). **$^{31}\text{P-RMN}$** (400 MHz, D_2O), δ (ppm): 22.57. **HR-ESI-MS**: m/z calculado para $[\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{P}]^+$ 262.0906, encontrado 262.0903 (100.00 %); m/z calculado para $[\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{P}]^{2+}$ 366.1520, encontrado 366.1515 (50.00 %), m/z calculado para $[\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{DNP}]^{2+}$ 226.6037, encontrado 226.6035 (21.38 %).

4.3. Estudio de complejación con substratos modelo paraquat, A y N

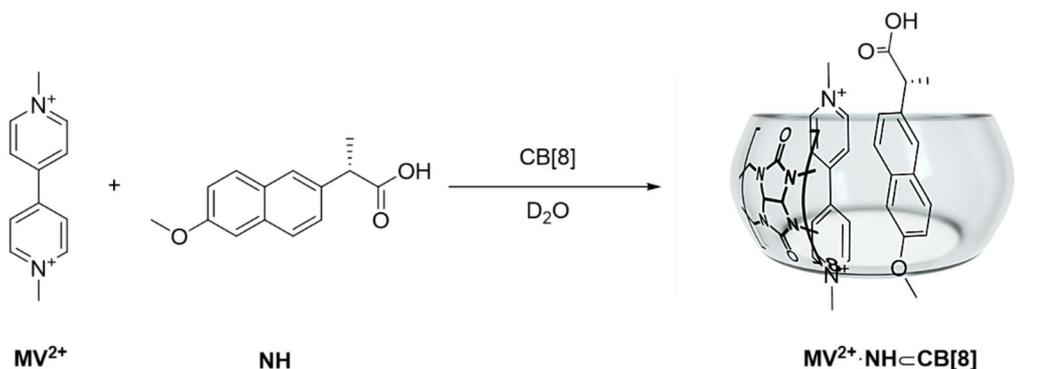
4.3.1. Estudio de complejación entre MV^{2+} , A y CB[8]



Para llevar a cabo el estudio cualitativo mediante RMN se preparan dos disoluciones *stock* 2 mM de *N,N'*-4,4'-dimetilviológico como ioduro ($MV \cdot 2I$) y dos disoluciones *stock* 2 mM de **A** a pD = 7 y 12, empleando tampón fosfato (para disolver **A** a pD = 7 es necesario calentar a 50 °C con ultrasonidos 30'). A continuación, se preparan los siguientes tubos de RMN:

- 500 μL MV^{2+} 2mM (pD12 o pD7) + 500 μL *buffer* (pD12 o pD7). Saturar añadiendo CB[8], filtrar y pasar 600 μL a un tubo de RMN.
- 300 μL MV^{2+} 2mM (pD12 o pD7) + 300 μL **A** 2mM (pD12 o pD7). Saturar con CB[8] y filtrar a un tubo de RMN.
- 500 μL MV^{2+} 2mM pD7 + 500 μL **A** 2mM pD = 7. Saturar con CB[8], filtrar y acidificar con DCI diluido hasta pD = 3. Pasar 600 μL a un tubo de RMN.

4.3.2. Estudio de complejación entre MV^{2+} , N y CB[8]

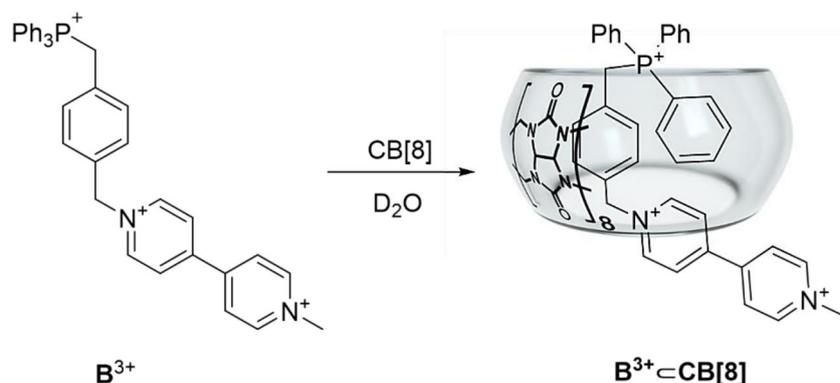


Para llevar a cabo el estudio cualitativo mediante RMN se preparan dos disoluciones *stock* 2 mM de *N,N'*-4,4'-dimetilviológeno como ioduro (**MV**·2I) y dos disoluciones *stock* 2 mM de naproxeno (**N**) a pD = 7 y 12, empleando *buffer* fosfato (para disolver a pD = 7 es necesario calentar a 50 °C con ultrasonidos 30'). A continuación, se preparan los siguientes tubos de RMN:

- 500 μL **MV**²⁺ 2mM (pD12 o pD7) + 500 μL *buffer* (pD = 12 o 7). Saturar añadiendo CB[8], filtrar y pasar 600 μL a un tubo de RMN.
- 300 μL **MV**²⁺ 2mM (pD12 o pD7) + 300 μL **N** 2mM (pD12 o pD7). Saturar con CB[8] y filtrar a un tubo de RMN.

4.4. Estudio de los complejos de CB[8] con los modelos B y C

4.4.1. Estudio del proceso de complejación de **B**³⁺ y CB[8]



Se preparan 5 mL de una disolución *stock* 2 mM de **B**·3Cl en D₂O. A continuación, se toman 2 mL de esta disolución y se adiciona CB[8] en exceso hasta que no se disuelva y quede en suspensión (aplicar calor y agitación ultrasonidos). Se filtra la suspensión para obtener una disolución 1:1 de **B**·3Cl:CB[8] (1 eq). Finalmente se preparan los siguientes tubos de RMN:

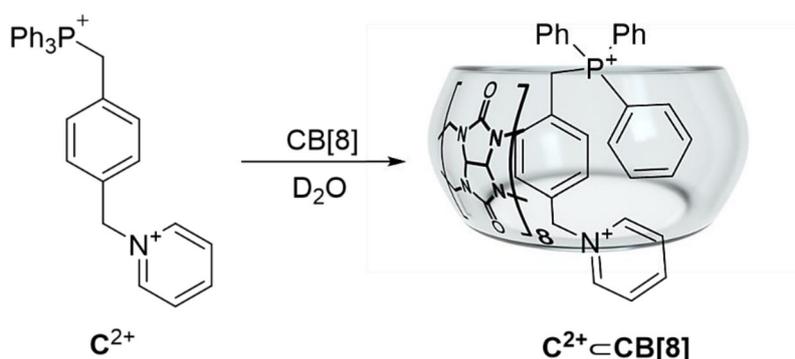
- Tubo 0 equivalentes: 500 μL de disolución *stock* de **B**·3Cl 2 mM.
- Tubo 1 equivalentes: 500 μL de disolución 1:1 de **B**·3Cl:CB[8].
- Tubo 0.5 equivalentes: 250 μL de disolución *stock* de **B**·3Cl 2 mM + 250 μL de disolución 1:1 de **B**·3Cl:CB[8].

Las señales de ¹H-RMN que se obtienen de la disolución de estequiometría 1:1 son:

¹H-RMN (500 MHz, D₂O), δ (ppm): 8.66 (tt, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 1H), 8.19 (m, 4H), 7.85 (m, 4H), 7.73 (dt, *J* = 5.4, 2.8 Hz, 6H), 6.60 (dd, *J* = 12.7, 7.7 Hz, 2H), 6.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.28 (dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 2H), 6.09 (td, *J* = 7.8, 3.3 Hz, 2H), 5.82 (d, *J* = 15.3 Hz, 8H), 5.71 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.55 (d, *J* = 15.2 Hz, 8H), 5.12 (s, 2H), 4.47 (d, *J* = 12.7 Hz, 2H), 4.15 (d, *J* = 15.4 Hz, 8H), 4.03 (d, *J* = 15.2 Hz, 8H).

La constante de asociación y los parámetros termodinámicos del complejo de inclusión **B³⁺⊂CB[8]** se determinan por calorimetría de titulación isotérmica (ITC). En la jeringa de inyección del equipo se añade una disolución 2.36 mM de **B³⁺** (250 μL) y en la celda se añade una disolución 100 μM de CB[8] (disolver mediante agitación ultrasónicas a 80 °C durante 30'). Se realizan un total de 25 inyecciones de 4 μL cada una, y los datos obtenidos se procesan empleando el programa NanoAnalyze ajustando los datos a un modelo independiente.

4.4.2. Estudio del proceso de complejación de **C²⁺** y CB[8]



Se preparan 5 mL de una disolución *stock* 2 mM de **C·2Br** en D₂O. A continuación, se toman 2 mL de esta disolución y se adiciona CB[8] en exceso hasta que no se disuelva y quede en suspensión (aplicar calor y agitación ultrasónicas). Se filtra la suspensión para obtener una disolución 1:1 de **C·2Br:CB[8]** (1 eq).

Finalmente se preparan los siguientes tubos de RMN:

- Tubo 0 equivalentes: 500 μL de disolución *stock* de **C·2Br** 2 mM.
- Tubo 1 equivalentes: 500 μL de disolución 1:1 de **C·2Br:CB[8]**.
- Tubo 0.5 equivalentes: 250 μL de disolución *stock* de **C·2Br** 2 mM + 250 μL de disolución 1:1 de **C·2Br:CB[8]**.

Las señales de ^1H -RMN que se obtienen de la disolución de estequiometría 1:1 son:

^1H -RMN (500 MHz, D_2O), δ (ppm): 8.66 (tt, $J = 7.3, 1.9$ Hz, 1H), 8.19 (m, 4H), 7.85 (m, 4H), 7.73 (dt, $J = 5.4, 2.8$ Hz, 6H), 6.60 (dd, $J = 12.7, 7.7$ Hz, 2H), 6.33 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.28 (dd, $J = 8.4, 2.5$ Hz, 2H), 6.09 (td, $J = 7.8, 3.3$ Hz, 2H), 5.82 (d, $J = 15.3$ Hz, 8H), 5.71 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.55 (d, $J = 15.2$ Hz, 8H), 5.12 (s, 2H), 4.47 (d, $J = 12.7$ Hz, 2H), 4.15 (d, $J = 15.4$ Hz, 8H), 4.03 (d, $J = 15.2$ Hz, 8H).

La constante de asociación y los parámetros termodinámicos del complejo de inclusión $\text{C}^{2+} \subset \text{CB}[8]$ se determina por calorimetría de titulación isotérmica (ITC). En la jeringa de inyección del equipo se añade una disolución 2.76 mM de C^{2+} (250 μL) y en la celda se añade una disolución 100 μM de CB[8] (disolver mediante agitación ultrasónicas a 80 $^\circ\text{C}$ durante 30'). Se realizan un total de 25 inyecciones de 5 μL cada una, y los datos obtenidos se procesan empleando el programa NanoAnalyze ajustando los datos a un modelo independiente.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados en este trabajo y los resultados obtenidos, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Los compuestos modelo **A**, **B**·3Cl y **C**·2Br se sintetizaron de manera eficiente, y se caracterizaron satisfactoriamente empleando las técnicas de RMN mono y bidimensionales y espectrometría de masas ESI-MS.
2. El estudio cualitativo mediante ¹H-RMN del proceso de complejación entre CB[8], **MV**²⁺ y los segundos sustratos **A** y **N**, mostró indicios de la formación de complejos heteroternarios a todos los pH estudiados. No obstante, la coalescencia de las señales en los espectros dificulta mucho su análisis por lo que se requiere un mayor estudio para determinar con exactitud la estructura del complejo, así como las correspondientes constantes de asociación.
3. Los cálculos computacionales DFT-D han permitido corroborar que los datos experimentales obtenidos se pueden corresponder con la formación de aductos heteroternarios, además de arrojar información sobre posibles diferencias estructurales entre los complejos en función del estado de protonación de los segundos sustratos.
4. El estudio de la complejación entre el CB[8] y el compuesto modelo **B**·3Cl, permitió demostrar la formación de un inusual complejo de inclusión pseudoheteroternario, cuya estructura implica la introducción simultánea de un grupo fenilo y del xililo. Esta disposición se corresponde con un mínimo local a nivel de cálculo DFT-D. La constante de asociación de $3.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, determinada mediante ITC, muestra un valor notablemente más elevado de lo esperado para un complejo binario, confirmando la formación de un complejo pseudoheteroternario.
5. Al igual que para el modelo **B**³⁺, el estudio de la complejación entre el CB[8] y el compuesto modelo **C**·2Br, demostró la formación de un complejo pseudoheteroternario, con una constante de asociación considerablemente elevada, de $3.2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, determinada mediante ITC.

CONCLUSIONS

In accordance with the objectives set out in this work and the results obtained, the following conclusions can be drawn:

1. Model compounds **A**, **B**·3Cl and **C**·2Br were efficiently synthesised, and successfully characterised using one- and two-dimensional NMR and ESI-MS mass spectrometry techniques.
2. The qualitative ¹H-NMR study of the complexation process between CB[8], **MV**²⁺ and the second guests **A** and **N** showed evidence of the formation of heterotetrameric complexes at all pHs studied. However, the coalescence of the signals in the spectra makes their analysis very difficult and further study is required to determine the exact structure of the complex, as well as the corresponding association constants.
3. DFT-D computational calculations have allowed us to corroborate that the experimental data obtained may correspond to the formation of heterotetrameric adducts and have also provided information on possible structural differences between the complexes depending on the protonation state of the second guest.
4. The study of the complexation between CB[8] and the model compound **B**·3Cl, allowed to demonstrate the formation of an unusual pseudoheteroheteroternary inclusion complex, whose structure involves the simultaneous introduction of a phenyl group and the xylyl group. This arrangement corresponds to a local minimum at the DFT-D calculation level. The association constant of $3.7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, determined by ITC, shows a significantly higher value than expected for a binary complex, confirming the formation of a pseudoheteroheteroternary complex.
5. As for the **B**³⁺ model, the study of the complexation between CB[8] and the model compound **C**·2Br, showed the formation of a pseudoheteroternary complex, with a considerably elevated association constant of $3.2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, determined by ITC.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Lehn, J.-M. Supramolecular Chemistry - Scope and Perspectives, Molecules, Supermolecules and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, 27, 89–112.
2. Biedermann, F.; Schneider, H.-J. Experimental Binding Energies in Supramolecular Complexes. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 5216–5300.
3. Lehn, J.-M. Towards Complex Matter: Supramolecular Chemistry and Self Organization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, 99, 4763–4768.
4. Ariga, K.; Kunitake, T. Supramolecular Chemistry - Fundamentals and Applications; *Springer*. Heidelberg, Alemania, **2006**.
5. Liu, Z.; Nalluri, S. K. M.; Stoddart, J. F. Surveying Macrocyclic Chemistry: From Flexible Crown Ethers to Rigid Cyclophanes. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 2459–2478.
6. Rowan, S. J.; Cantrill, S. J.; Cousins, G. R. L.; Sanders, J. K. M.; Stoddart, J. F. Dynamic Covalent Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 898–952.
7. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2016/press-release/>
8. Steed, J. W.; Atwood, J. L. Supramolecular Chemistry, 2nd Ed.; Wiley. Chichester, Inglaterra, **2009**.
9. Bruns, C.J.; Stoddart, J. F. The Nature of the Mechanical Bond: From Molecules to Machines, John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, **2016**.
10. Taghavi Shahraki, B., Maghsoudi, S., Fatahi, Y., Rabiee, N., Bahadorikhalili, S., & Dinarvand, R. *et al.* The flowering of Mechanically Interlocked Molecules: Novel approaches to the synthesis of rotaxanes and catenanes. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, 423, 213484.
11. Stoddart, J. Mechanically Interlocked Molecules (MIMs)-Molecular Shuttles, Switches, and Machines (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 11094-11125.
12. Xue, M.; Yang, Y.; Chi, X.; Yan, X.; Huang, F. Development Of Pseudorotaxanes And Rotaxanes: From Synthesis To Stimuli-Responsive Motions To Applications. *Chem. Rev.* **2015**, 115, 7398-7501.

13. Oshovsky, G., Reinhoudt, D. and Verboom, W. Supramolecular Chemistry in Water. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2366-2393.
14. Barrow, S., Kasera, S., Rowland, M., del Barrio, J., Scherman, O. Cucurbituril-Based Molecular Recognition. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12320-12406.
15. Han, Z., Zhou, Q., & Li, Y. Self-assembled (pseudo)rotaxane and polyrotaxane through host-guest chemistry based on the cucurbituril family. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2018**, *92*, 81-101.
16. Pazos, E., Novo, P., Peinador, C., Kaifer, A., García, M. D. Cucurbit[8]uril (CB[8])-Based Supramolecular Switches. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *58*, 403-416.
17. Blanco-Gómez, A., Cortón, P., Barravecchia, L., Neira, I., Pazos, E., Peinador, C., García, M. D. Controlled binding of organic guests by stimuli-responsive macrocycles. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 3834-3862.
18. Neira, I., Blanco-Gómez, A., Quintela, J., Peinador, C., García, M. D. Adjusting the Dynamism of Covalent Imine Chemistry in the Aqueous Synthesis of Cucurbit[7]uril-based [2]Rotaxanes. *Org. Letters.* **2019**, *21*, 8976-8980.
19. Neira, I., Peinador, C., García, M. D. CB[7]- and CB[8]-Based [2]-(Pseudo)rotaxanes with Triphenylphosphonium-Capped Threads: Serendipitous Discovery of a New High-Affinity Binding Motif. *Org. Letters.* **2022**, *24*, 4491-4495.
20. Murphy, M., & Hartley, R. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies. *Nat. Rev. Drug Discovery.* **2018**, *17*, 865-886.
21. Russell, O., Gorman, G., Lightowers, R., Turnbull, D. Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell.* **2020**, *181*, 168-188.
22. Murphy, M., & Smith, R. Drug delivery to mitochondria: the key to mitochondrial medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2000**, *41*, 235-250.
23. Chrétien, D., Bénit, P., Ha, H., Keipert, S., El-Khoury, R., & Chang, Y. *et al.* Mitochondria are physiologically maintained at close to 50 °C. *PLOS Biology.* **2018**, *16*, e2003992.
24. Todd, P., & Clissold, S. Naproxen A Reappraisal of its Pharmacology, and Therapeutic Use in Rheumatic Diseases and Pain States. *Drugs.* **1990**, *40*, 91-137.
25. a) Kim, H.; Heo, J.; Jeon, W.; Lee, E.; Kim, J.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Kim, K. Selective Inclusion Of A Hetero-Guest Pair In A Molecular Host: Formation Of Stable Charge-Transfer Complexes In Cucurbit[8]Uril. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1526-1529. b) Jeon, W.; Kim, H.; Lee, C.; Kim, K. Control Of The Stoichiometry In

- Host–Guest Complexation By Redox Chemistry Of Guests: Inclusion Of Methylviologen In Cucurbit[8]Urils. *Chem. Commun.* **2002**, 1828-1829.
26. Bursch, M.; Mewes, J.-M.; Hansen, A.; Grimme, S. Best practice DFT protocols for basic molecular computational chemistry. *ChemRxiv.* **2022**, 1-23.
27. Grimme, S.; Hansen, A.; Ehlert, S.; Mewes, J.-M. r2SCAN-3c: A "Swiss army knife" composite electronic-structure method. *J. Chem. Phys.* **2021**, *154*, 064103.
28. Chai, J. D.; Head-Gordon, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 6615-6620.
29. Najibi, A, Goerigk, L. DFT-D4 counterparts of leading meta-generalized-gradient approximation and hybrid density functionals for energetics and geometries. *J. Comput. Chem.* **2020**; *41*, 2562-2572.
30. Weigend, F.; Ahlrichs, R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3297-3305.
31. Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J. Phys. Chem. B.* **2009**, *113*, 6378-6396.
32. Spicher, S.; Grimme, S. Single-Point Hessian Calculations for Improved Vibrational Frequencies and Rigid-Rotor-Harmonic-Oscillator Thermodynamics. *J. Chem. Theory Comput.* **2021**, *17*, 1701-1714.
33. Ehlert, S.; Stahn, M.; Spicher, S.; Grimme, S. Robust and Efficient Implicit Solvation Model for Fast Semiempirical Methods. *J Chem Theory Comput.* **2021**, *17*, 4250-4261.
34. Neese, F. Software update: The ORCA program system—Version 5.0. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2022**, e1606.
35. Bannwarth, C.; Ehlert, S.; Grimme, S. GFN2-xTB-An Accurate and Broadly Parametrized Self-Consistent Tight-Binding Quantum Chemical Method with Multipole Electrostatics and Density-Dependent Dispersion Contributions. *J. Chem. Theory. Comp.* **2019**, *15*, 1652-1671.
36. <https://github.com/grimme-lab/xtb>.

7. ANEXOS

Espectros de RMN

Segundo sustrato A

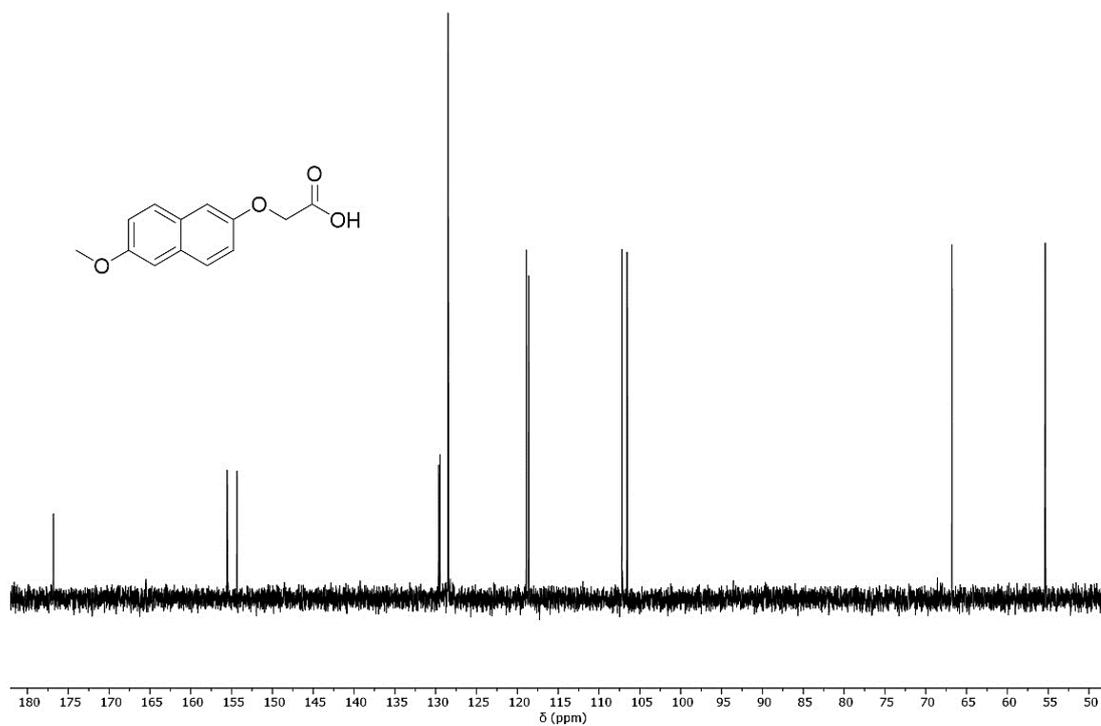


Figura 15: Espectro de ¹³C-RMN (D₂O, 126 MHz) del segundo sustrato A.

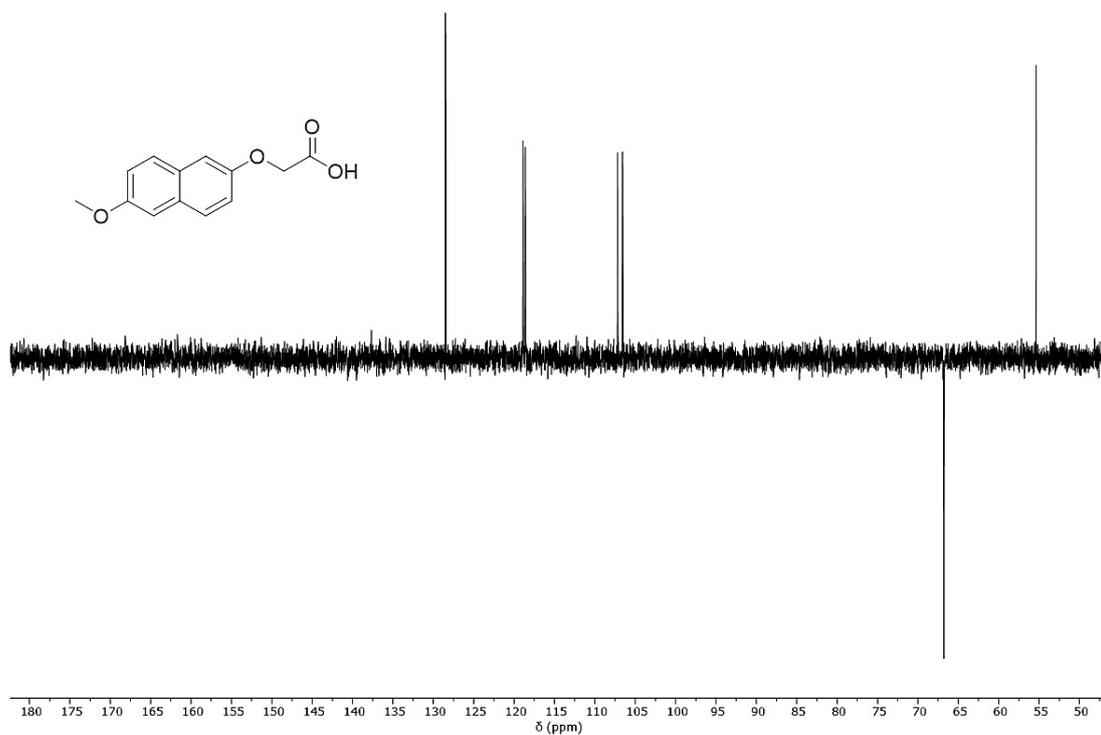


Figura 16: Espectro DEPT-135 (D₂O, 126 MHz) del segundo sustrato A.

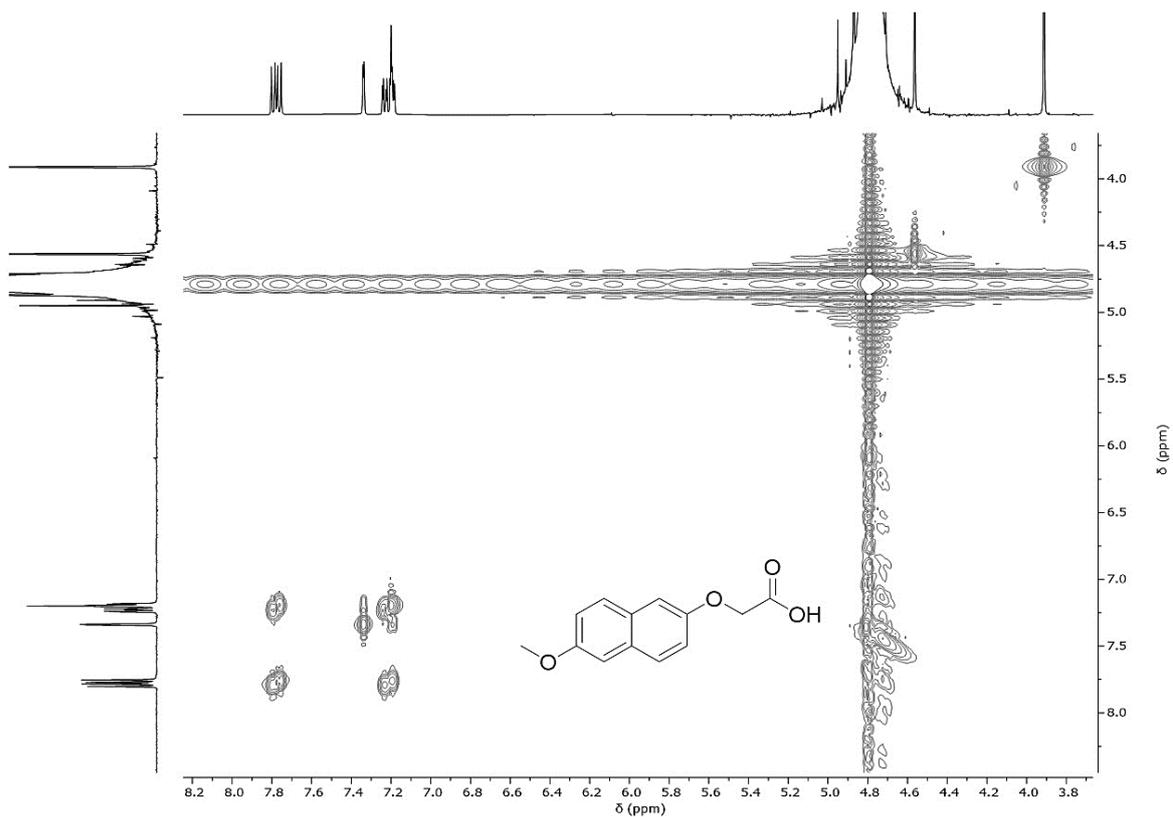


Figura 17: Espectro COSY (D₂O, 500 MHz) del segundo sustrato A.

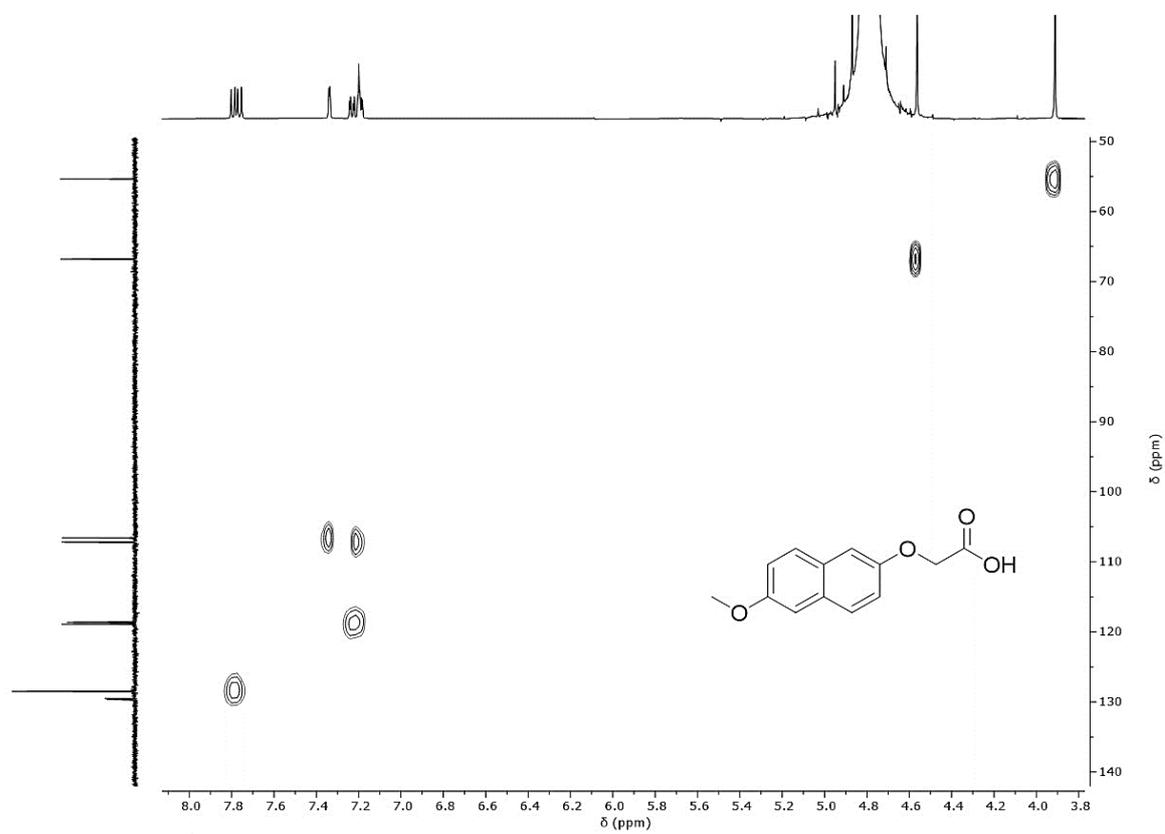


Figura 18: Espectro HSQC (D₂O, 500 MHz) del segundo sustrato A.

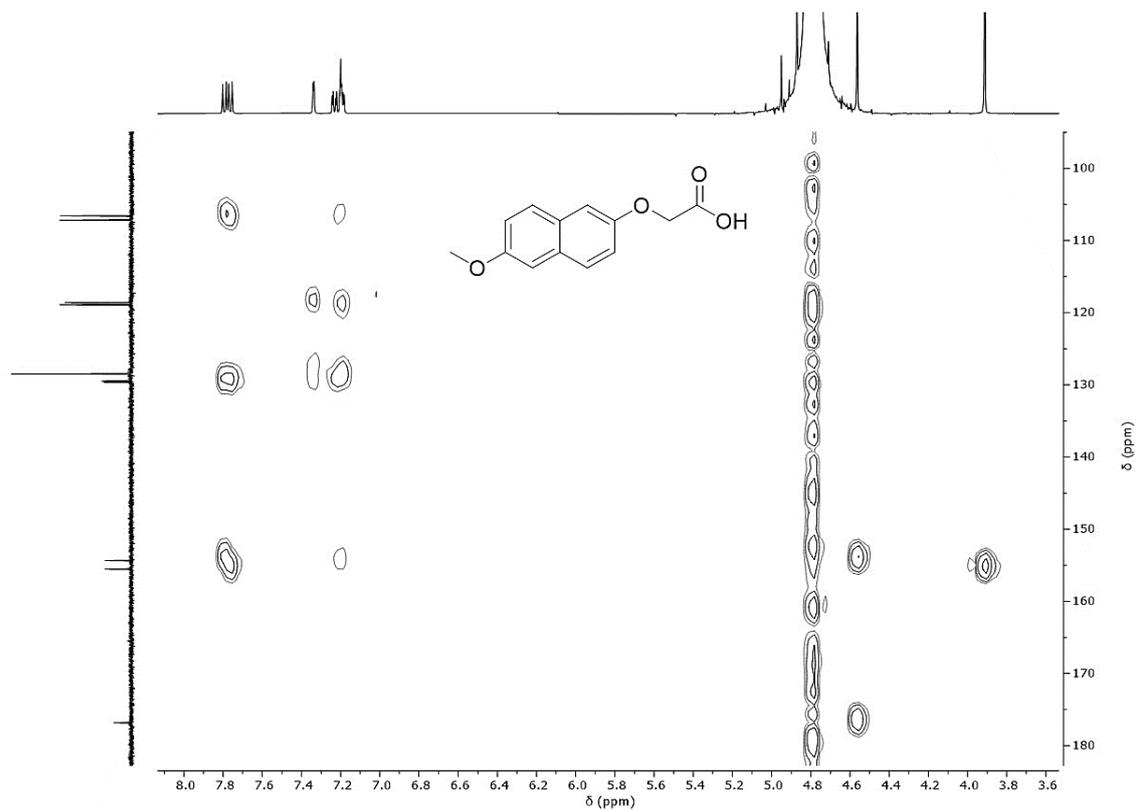


Figura 19: Espectro HMBC (D_2O , 500 MHz) del segundo sustrato **A**.

Modelo Capado **B**·3Cl

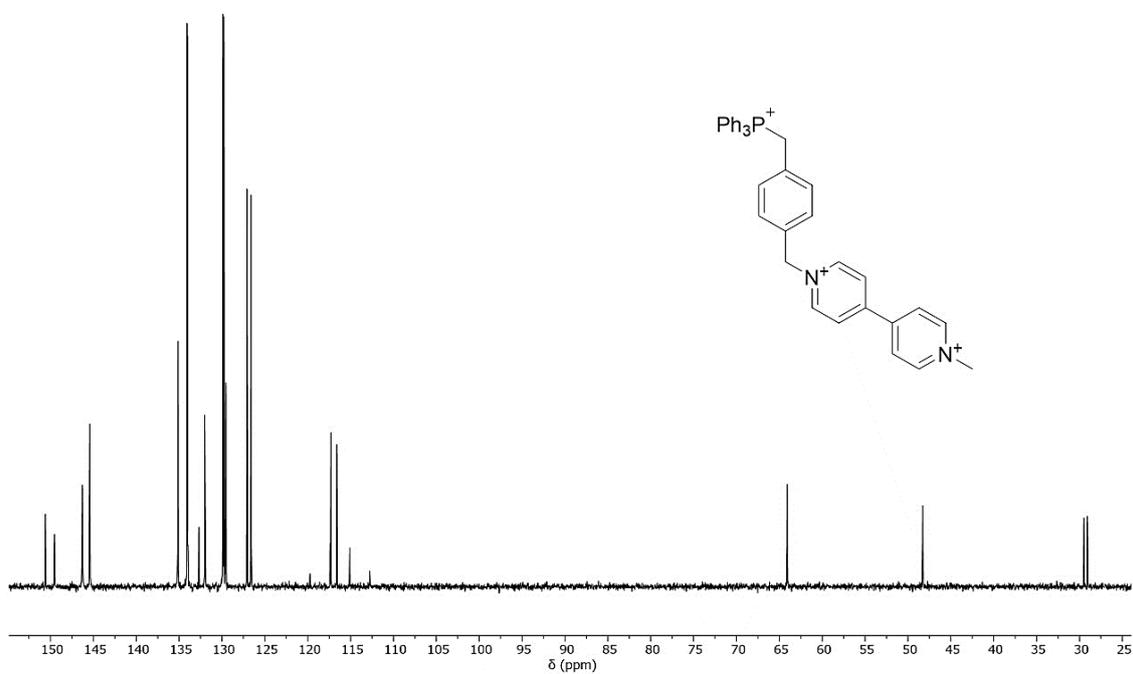


Figura 20: Espectro de ^{13}C -RMN (D_2O , 126 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

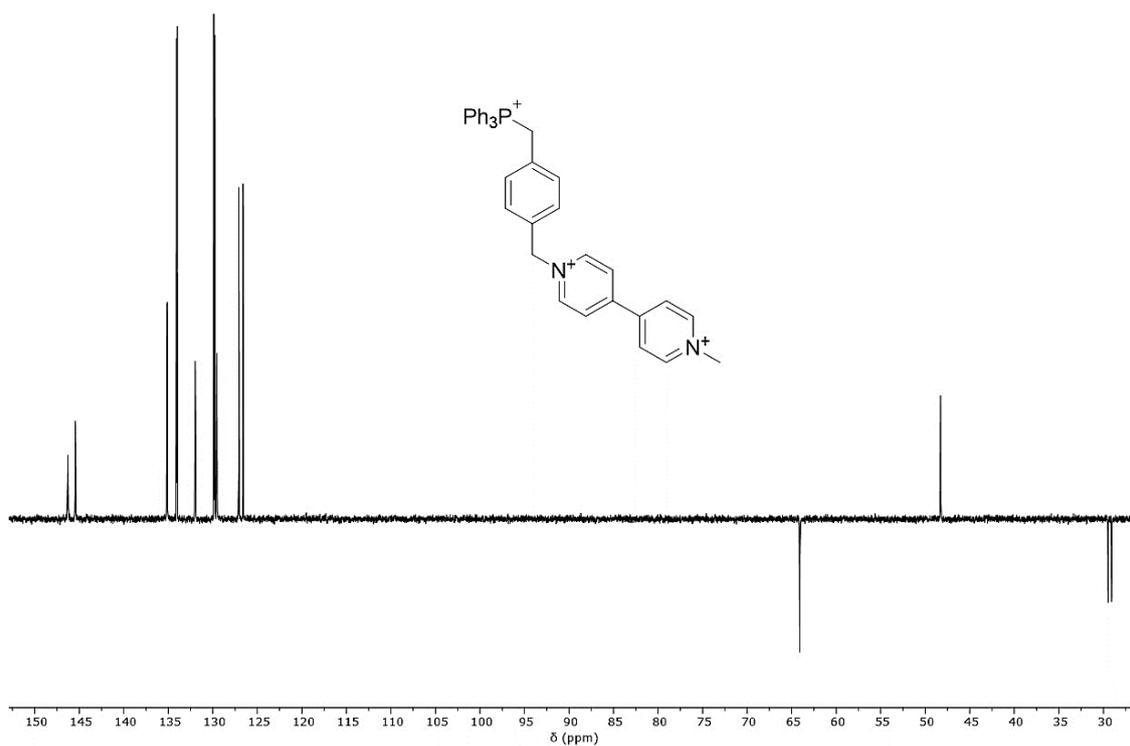


Figura 21: Espectro de DEPT-135 (D_2O , 126 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

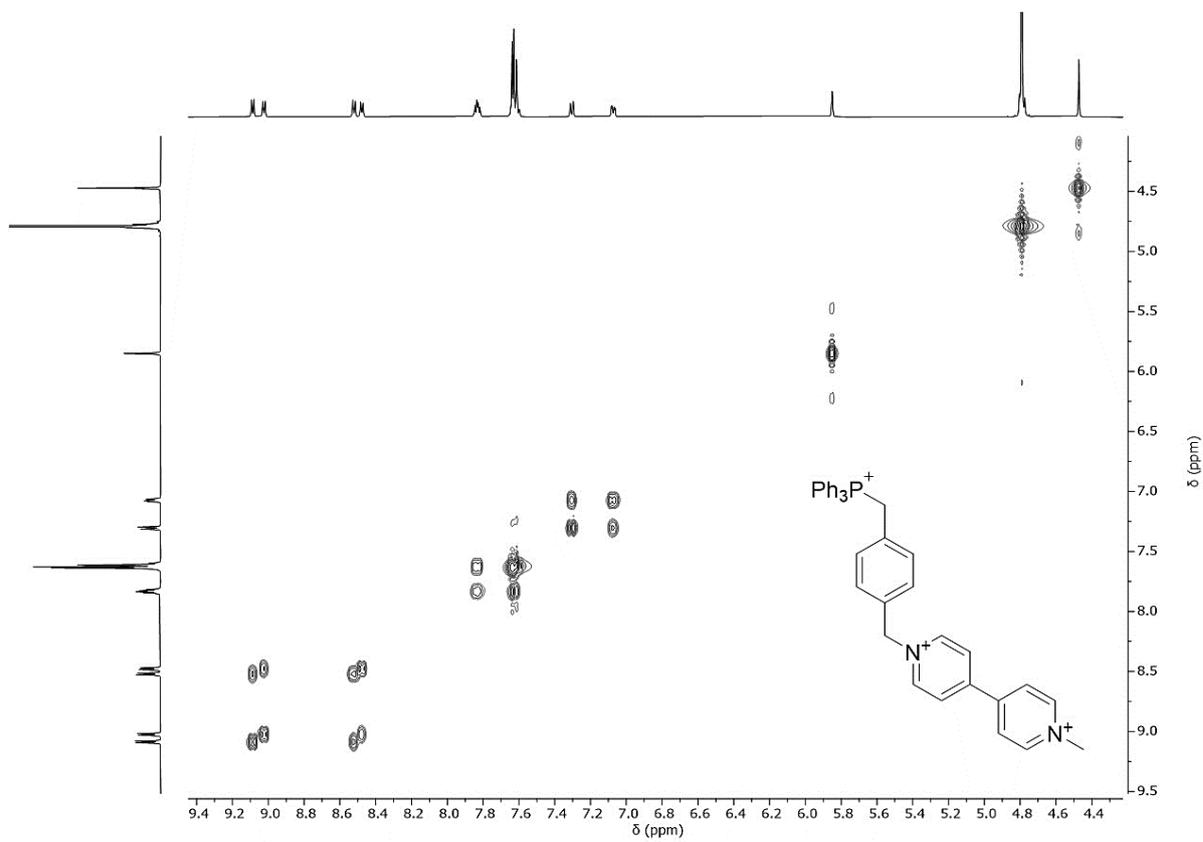


Figura 22: Espectro de COSY (D_2O , 500 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

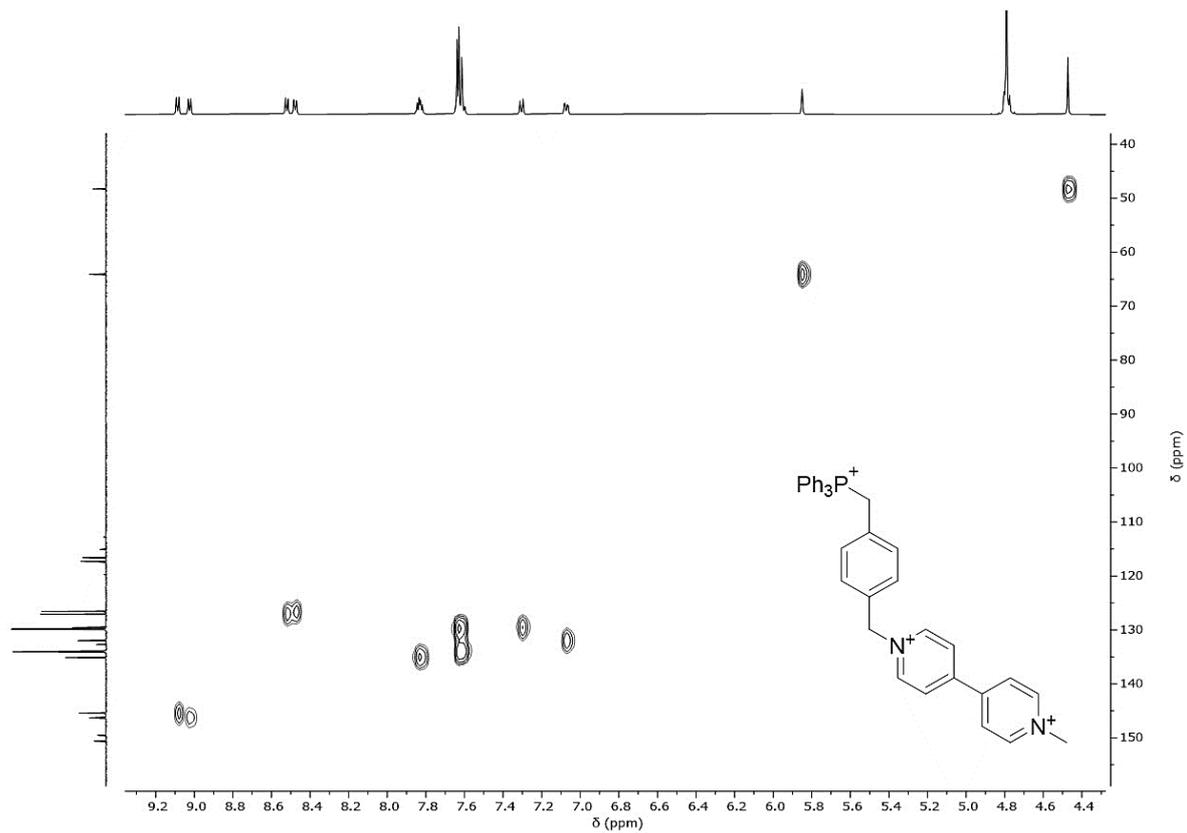


Figura 23: Espectro de HSQC (D_2O , 500 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

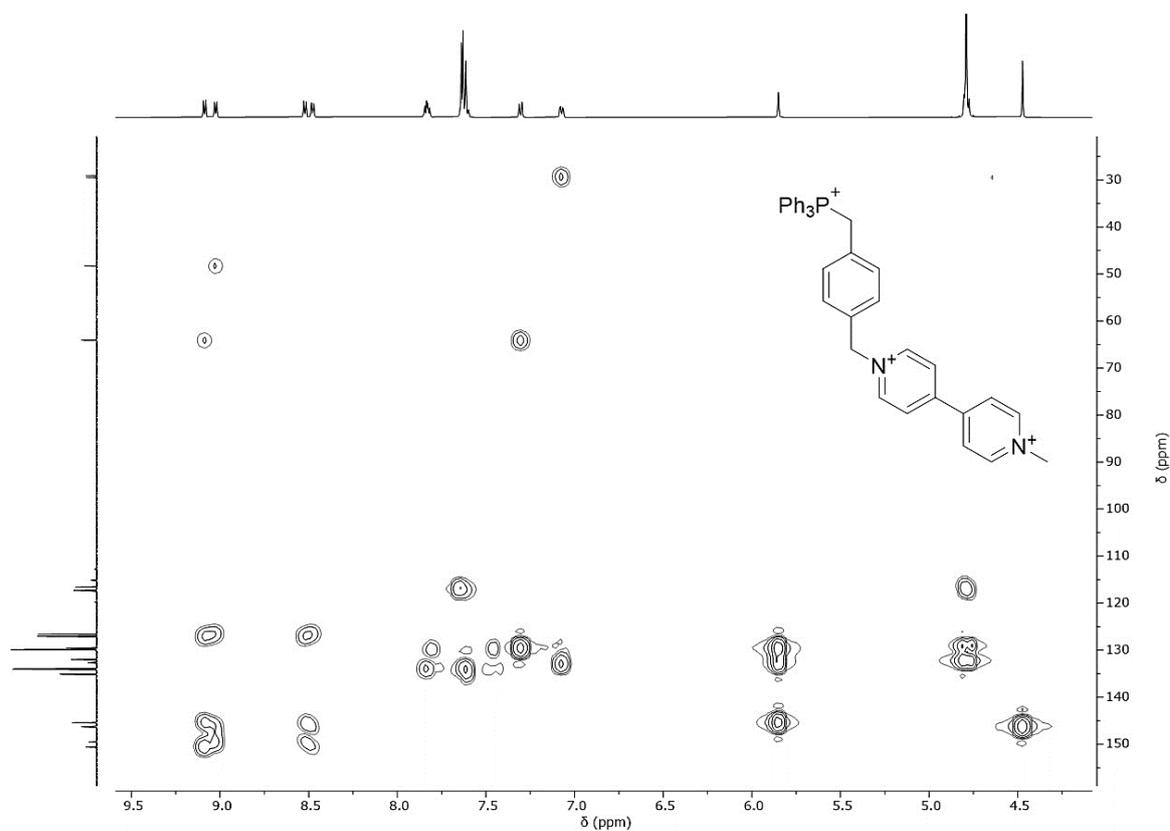


Figura 24: Espectro de HMBC (D_2O , 500 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

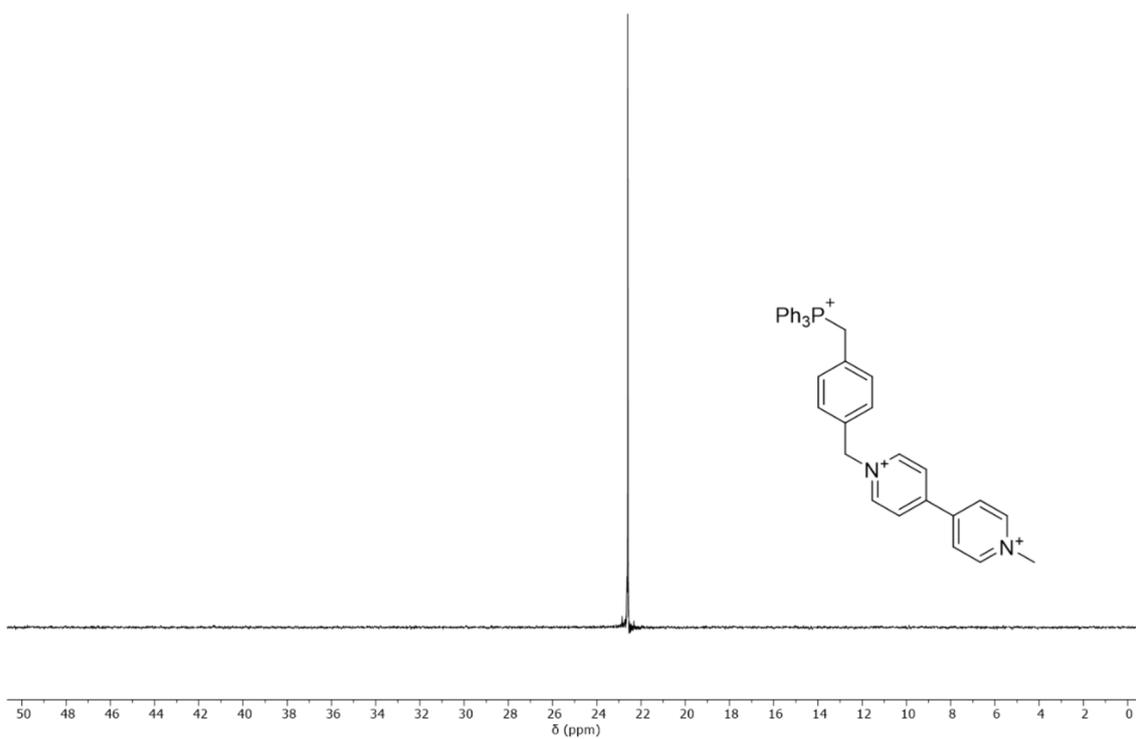


Figura 25: Espectro de ^{31}P -RMN (D_2O , 400 MHz) del modelo capado **B**·3Cl.

Modelo Capado **C**·2Br

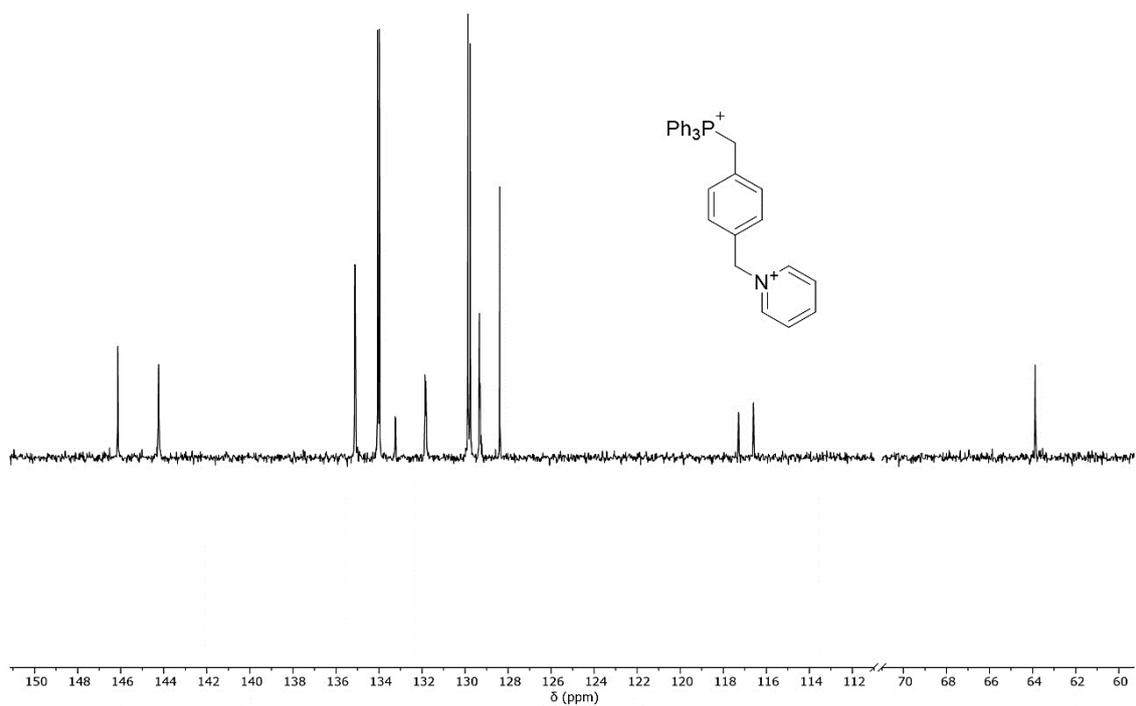


Figura 26: Espectro de ^{13}C -RMN (D_2O , 126 MHz) del modelo capado **C**·2Br.

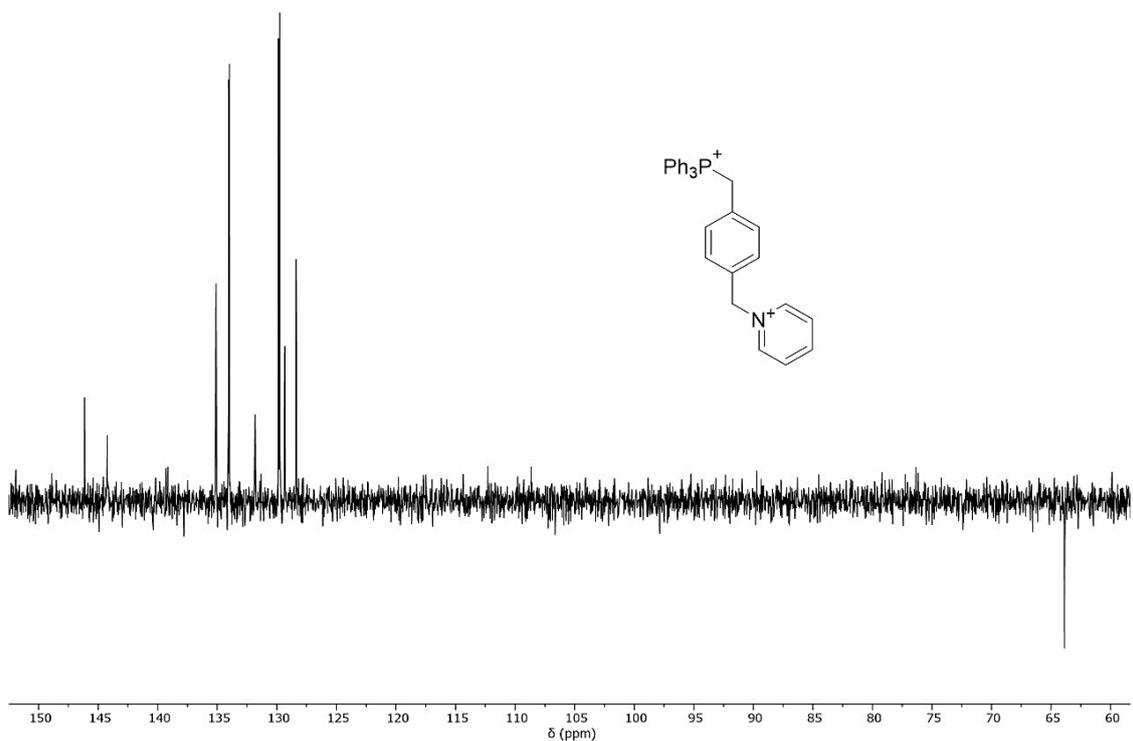


Figura 27: Espectro de DEPT-135 (D_2O , 126 MHz) del modelo capado $\text{C}\cdot 2\text{Br}$

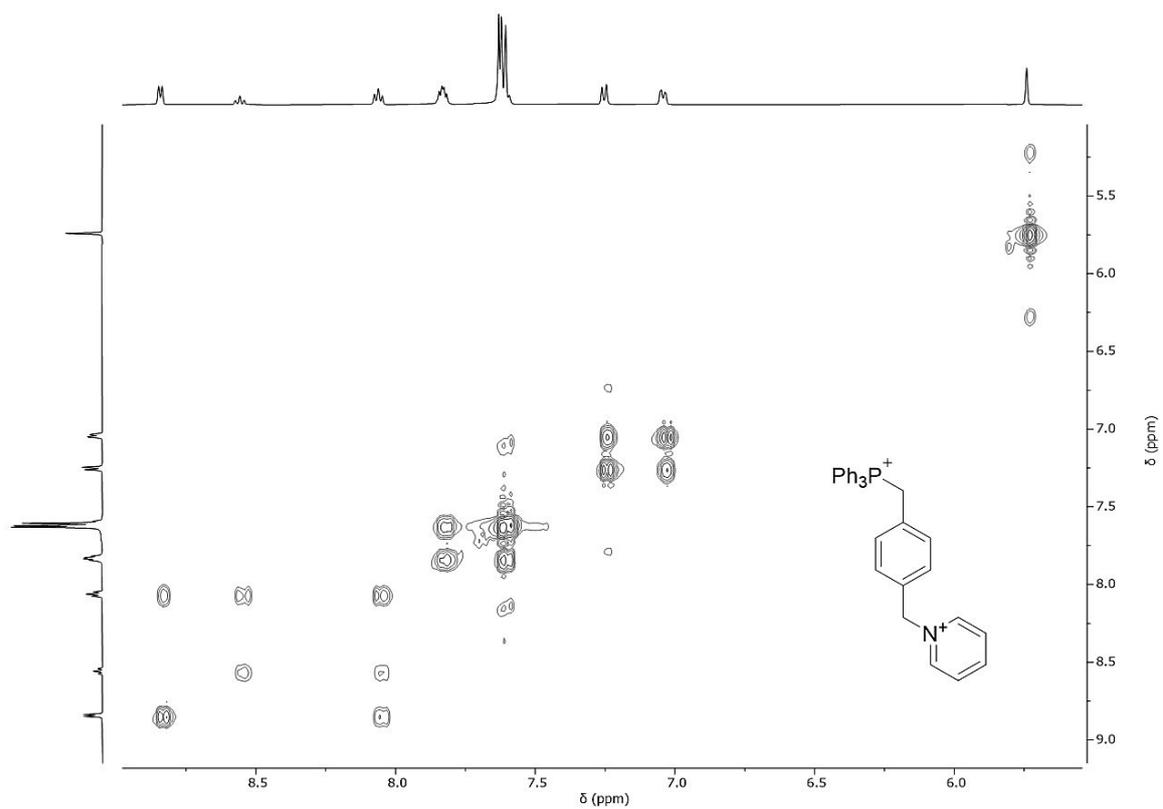


Figura 28: Espectro de COSY (D_2O , 500 MHz) del modelo capado $\text{C}\cdot 2\text{Br}$

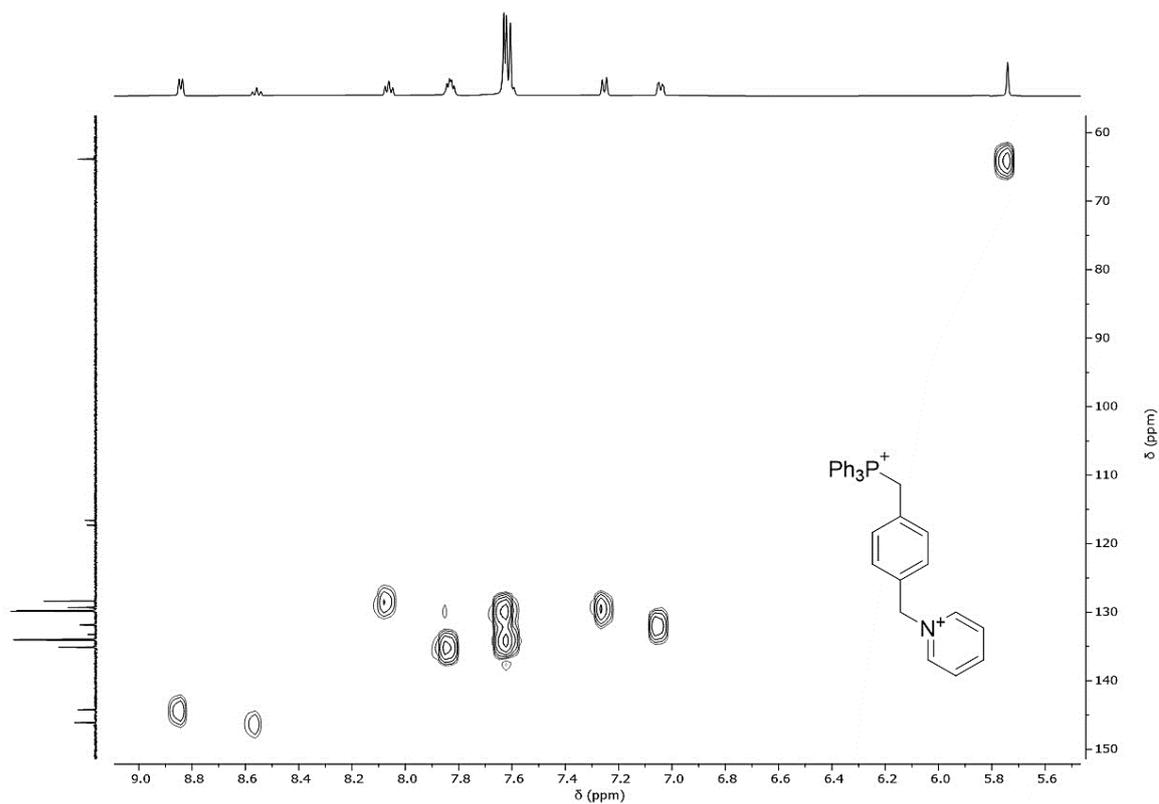


Figura 29: Espectro de HSQC (D_2O , 500 MHz) del modelo capado $C \cdot 2Br$

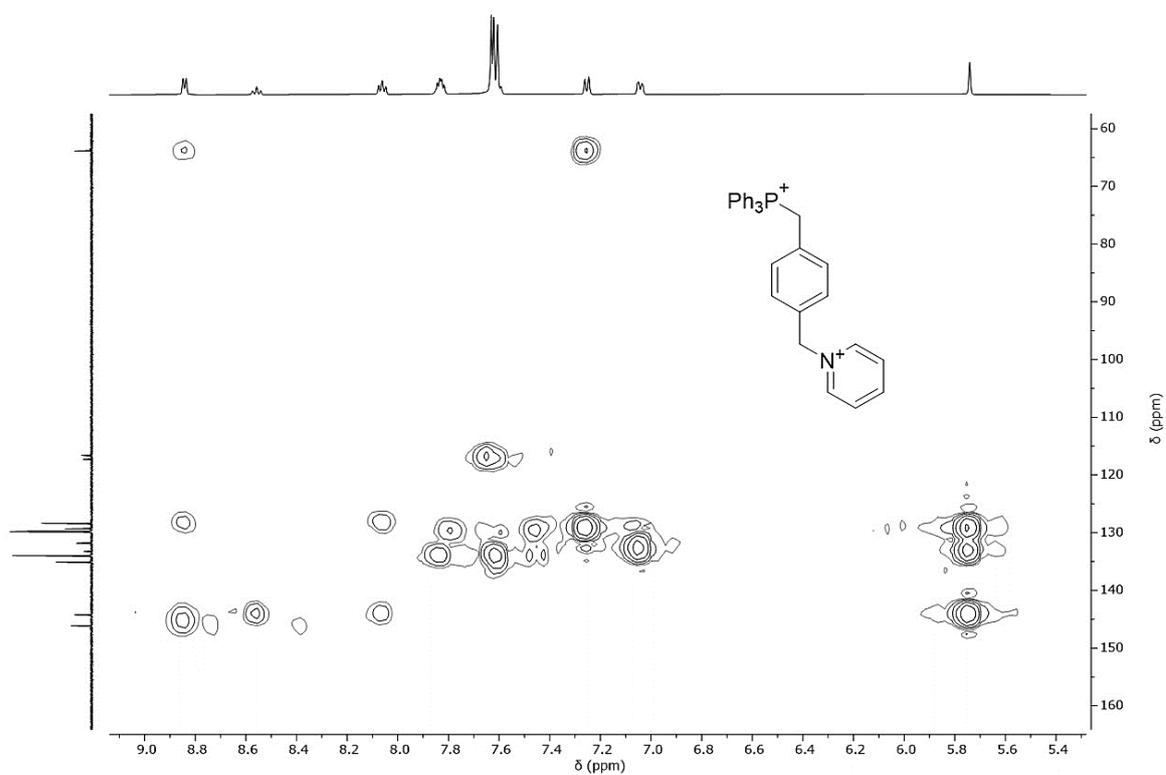


Figura 30: Espectro de HMBC (D_2O , 500 MHz) del modelo capado $C \cdot 2Br$

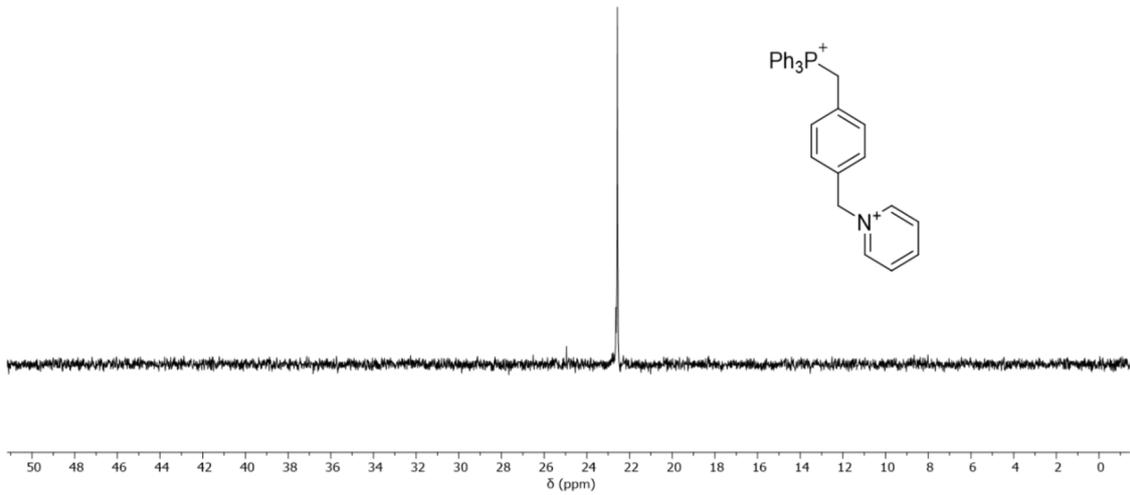


Figura 31 Espectro de ^{31}P -RMN (D_2O , 400 MHz) del modelo capado $\text{C}\cdot 2\text{Br}$.

Calorimetría Isotérmica de Titulación

Complejo $\text{C}^{2+}\text{CB}[8]$

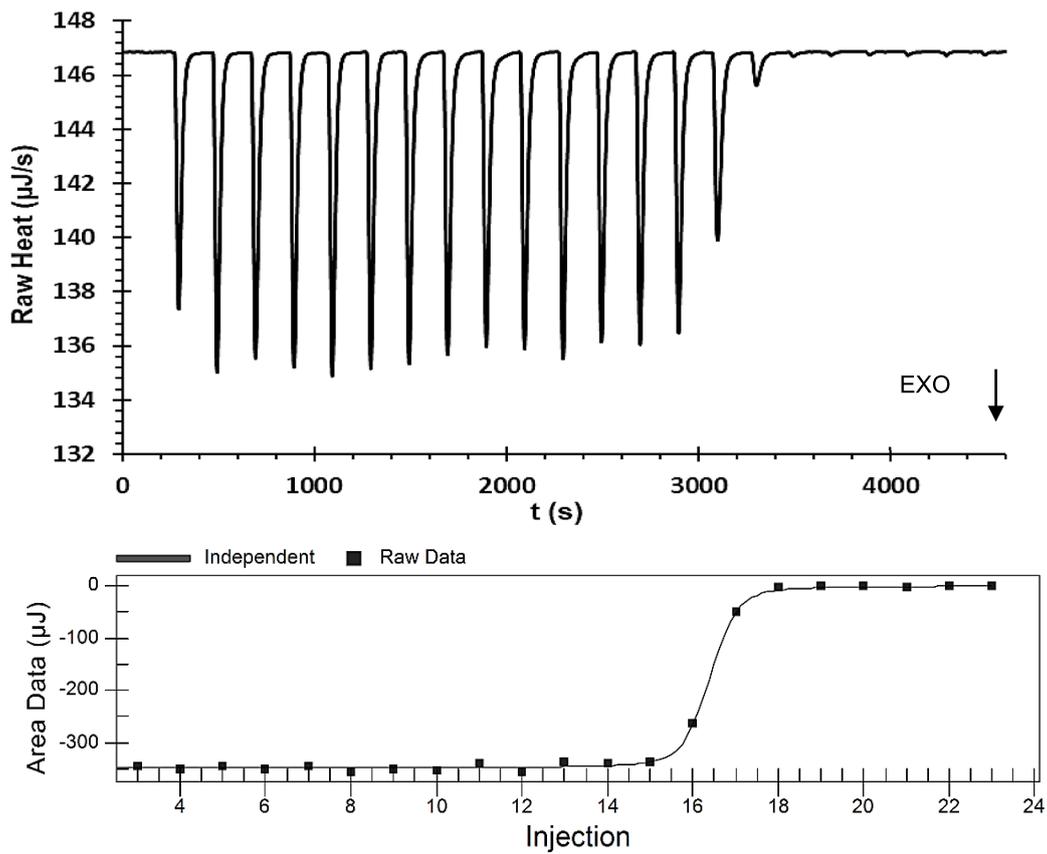


Figura 32: Representación gráfica de los datos experimentales de ITC del complejo $\text{C}^{2+}\text{CB}[8]$ (arriba) y del ajuste de los datos a un modelo independiente utilizando el software NanoAnalyze (abajo).

Complejo B^{3+} -CB[8]

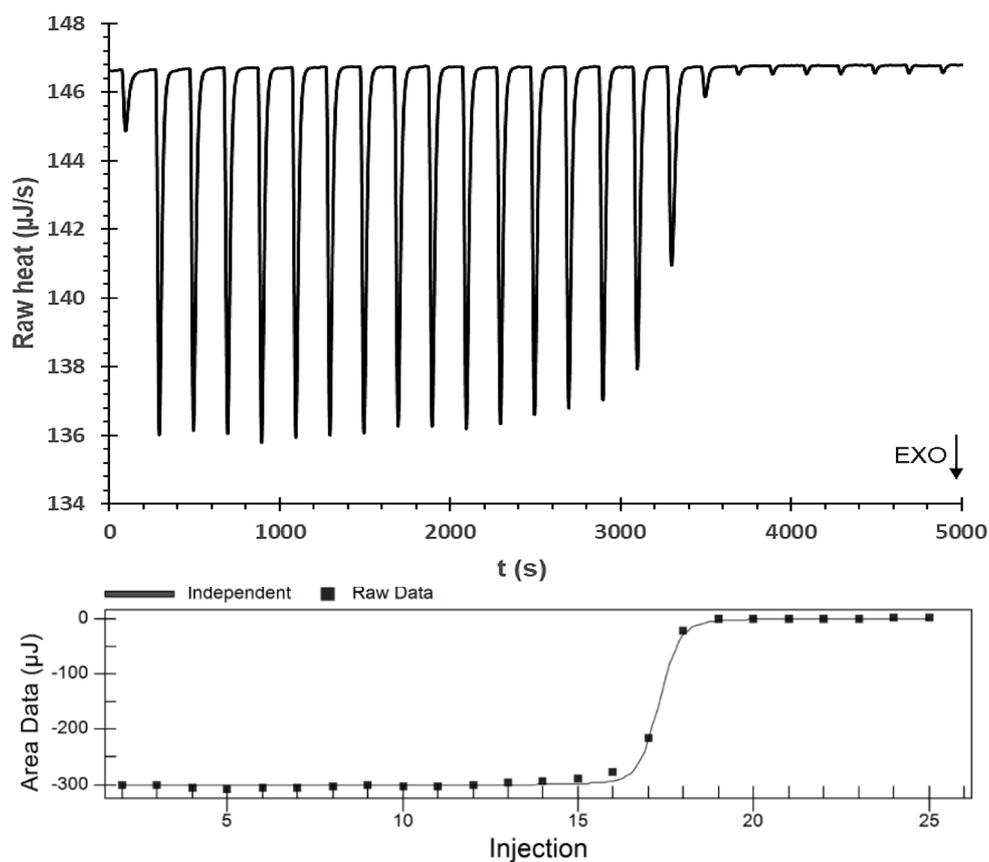


Figura 33: Representación gráfica de los datos experimentales de ITC del complejo B^{3+} -CB[8] (arriba) y del ajuste de los datos a un modelo independiente utilizando el software NanoAnalyze (abajo).

Espectrometría de masas

Segundo sustrato A

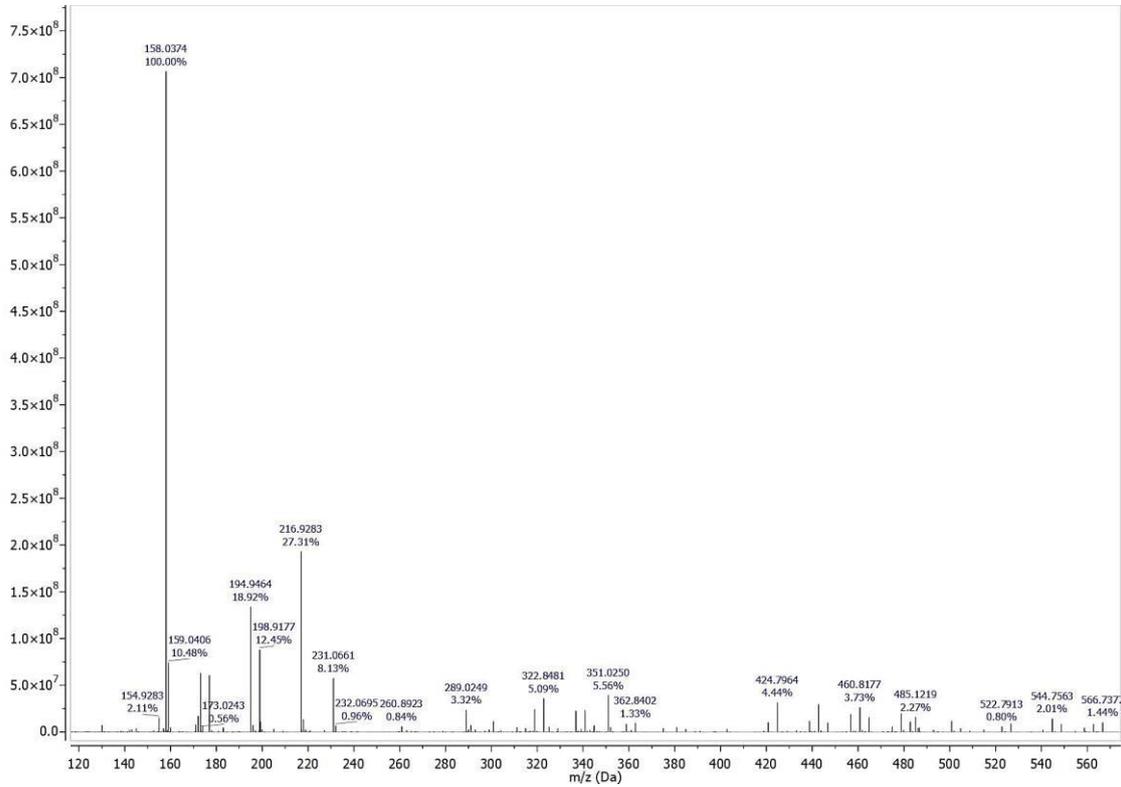


Figura 34: Espectro HR-ESI-MS (ESI -) del segundo sustrato A.

Modelo Capado B·3CI

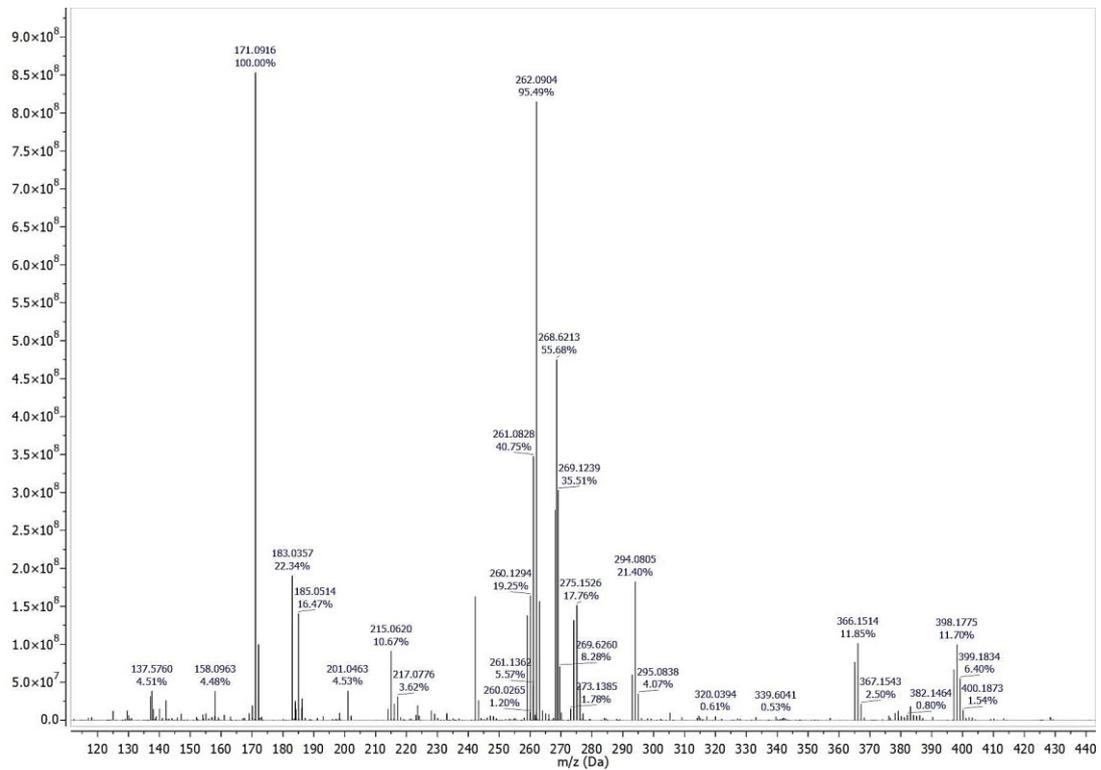


Figura 35: Espectro HR-ESI-MS (ESI +) del modelo B·3CI.

Modelo Capado C·2Br

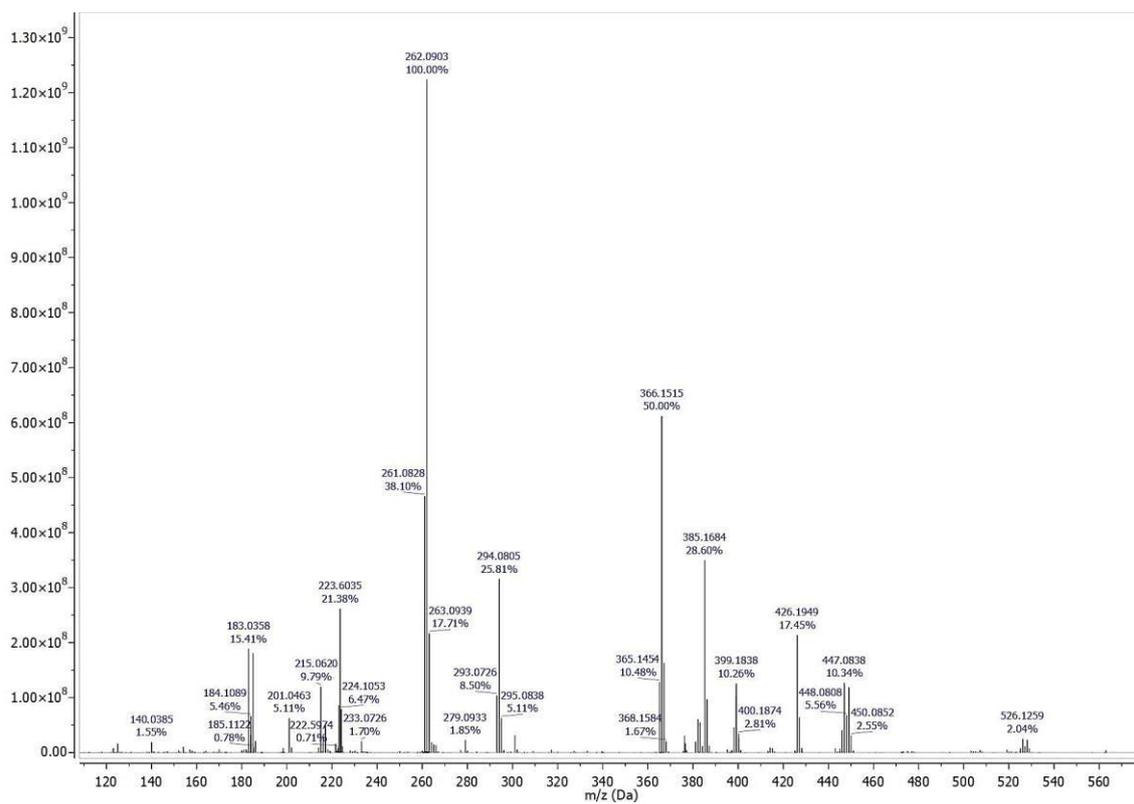


Figura 36: Espectro HR-ESI-MS (ESI +) del modelo C·2Br.