



Universidad Nacional del Litoral  
Facultad de Ingeniería Química

Tesis presentada para obtener el Grado Académico de **Magister en Química**

*“Síntesis de  $\beta$ -Ciclodextrinas Modificadas sobre la base de Líquidos Iónicos y Reacciones Click: Caracterización y Aplicación”*

**B.S Marcos Toniolo**

**Directora**  
Dra. María Virginia Bravo

Laboratorio Gustavo A. Fester- Grupo de Fisicoquímica Orgánica  
Instituto de Química Aplicada del Litoral IQAL (UNL-CONICET)

Ante todo, quiero agradecer a mi madre, Viviana Cáceres, a mi padre, Horacio Toniolo, y mi hermano Ramiro Toniolo por su amor y apoyo incondicional. Sin ellos, no habría podido terminar esta tesis. Quiero agradecer a mis amigas Ana Reinick, Bettina Sosa y Belén Martini por ayudarme a superar los momentos difíciles y celebrar los buenos. Agradezco a mis amigos de Alaska, Ryan Steele e Yvonne Sam, a pesar de estar a miles de kilómetros de distancia, su amistad y su atención no fue algo menor.

Agradezco enormemente al Dr. José Fernández por su mentoría y su optimismo, que me infundió la positividad que tanto necesitaba cuando más la necesitaba. A Dr. Cristian Ferretti que me dejó utilizar su laboratorio del Fester para desarrollar la tesis. Por la Universidad Pública, aunque haya mucho que trabajar y cambiar para aun ser mejor me otorgó la oportunidad para seguir formándome profesional y académicamente.

Y, por último, quiero agradecer al Universo, a Dios y a mis ancestros, porque, aunque esto es químico, creo que todo es energía y, sin su ayuda, sinceramente no sé dónde estaría.

*“Imma be misunderstood till I die might as well have a good time”*-SZA

En el marco de esta tesis, donde gran parte del trabajo se basó en la síntesis de compuestos orgánicos, me parece oportuno citar a continuación un breve texto desarrollado por Paul Anastas y John Warner en *Química Verde: Teoría y Práctica* (1998), la siguiente lista describe un marco para crear una sustancia química, un proceso o un producto más ecológico. Esto es de gran relevancia en la sociedad actual, donde la química verde debe promoverse y estar a la vanguardia de nuestras ideas. No solo para proteger nuestra salud, pero también para dejar un futuro sano a las generaciones a venir.

- 1: Prevención:** Es mejor prevenir los residuos que tratarlos o limpiarlos una vez creados.
- 2: Economía atómica:** Los métodos sintéticos deben diseñarse para maximizar la incorporación de todos los materiales utilizados en el proceso en el producto final.
- 3: Síntesis químicas menos peligrosas:** Siempre que sea posible, los métodos sintéticos deben diseñarse para utilizar y generar sustancias que posean poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.
- 4: Diseño de productos químicos más seguros:** Los productos químicos deben diseñarse para preservar la eficacia de su función y reducir la toxicidad.
- 5: Disolventes y auxiliares más seguros:** Siempre que sea posible, se debe evitar el uso de sustancias auxiliares (p. ej., disolventes, agentes de separación, etc.) y deben ser inocuas cuando se utilicen.
- 6: Diseño para la Eficiencia Energética:** Se deben reconocer los impactos ambientales y económicos de los requerimientos energéticos y minimizarlos. Los métodos sintéticos deben aplicarse a temperatura y presión ambiente.
- 7: Uso de materias primas renovables:** Una materia prima o materia prima debe ser renovable en lugar de agotarse siempre que sea técnica y económicamente factible.
- 8: Reducir los derivados:** La derivatización innecesaria (uso de grupos bloqueantes, protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos) debe minimizarse o evitarse si es posible, porque dichos pasos requieren reactivos adicionales y generan desechos.
- 9: Catálisis:** Los reactivos catalíticos (lo más selectivos posible) son superiores a los reactivos estequiométricos.
- 10: Diseño para la degradación:** Los productos químicos deben diseñarse de manera que al final de su función se descompongan en productos de degradación inocuos y no persistan en el medio ambiente.
- 11: Ánalisis en tiempo real para la prevención de la contaminación:** Es necesario desarrollar más metodologías analíticas que permitan el seguimiento y control del proceso en tiempo real antes de la formación de sustancias peligrosas.
- 12: Química inherentemente más segura para la prevención de accidentes:** Las sustancias y la forma de una sustancia utilizada en un proceso químico deben elegirse para minimizar el potencial de accidentes químicos, incluidos liberaciones, explosiones e incendios.

# ÍNDICE

## Tabla De Contenido

<b>Resumen en español.....</b>	7
<b>Resumen en inglés.....</b>	8
<b>1.Introducción</b>	
1. Breve historia del descubrimiento de las Ciclodextrinas .....	10
2. Estructura y Propiedades Químicas de las Ciclodextrinas .....	11
3. Modificaciones de $\beta$ -Ciclodextrinas .....	12
4. Aplicaciones de las Ciclodextrinas .....	13
1. Prefacio .....	13
2. Aplicaciones médicas y farmacéuticas .....	14
3. Aplicaciones cosméticas .....	15
4. Síntesis orgánica y aplicaciones catalíticas .....	15
5. Líquidos Iónicos .....	17
6. Reacciones Click .....	18
7. Objetivos Específicos .....	20
<b>2.Síntesis de <math>\beta</math>-Ciclodextrina Modificada Iónica y No-Iónica</b>	
1. Síntesis de $\beta$ -Ciclodextrina Iónica Modificada .....	22
2. Síntesis de $\beta$ -Ciclodextrina Modificada No-Iónica .....	29
<b>3.Purificación Electroquímica de Compuestos No-iónicos</b>	
1. Introducción .....	37
2. Complejación de Cobre con $\beta$ -Ciclodextrinas .....	38
3. Voltamperometría de los reactantes y el sistema reactivo completo .....	41
4. Electrodeposición de Cobre .....	45
<b>4.Caracterización</b>	
1. Introducción .....	51
2. Instrumentación .....	52
3. Caracterización de compuestos iónicos .....	52
4. Caracterización de compuestos no-iónicos .....	56
<b>5.Aplicación &amp; Conclusión</b>	
1. Introducción .....	72
2. Encapsulación de Curcumina con compuestos no-iónicos y $\beta$ -Ciclodextrina nativa .....	73
3. Conclusiones .....	77
4. Futuro Objetivos .....	78

## **6.Anexo & Información Complementaria**

1. Resultados de Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energía .....	82
2. Fundamentos de Técnicas Aplicadas para la Caracterización y Aplicación de Productos Sintetizados .....	85

## **Resumen en español**

En la presente tesis se aborda un tema de particular interés en el estudio de las  $\beta$ -Ciclodextrinas modificadas (Mod $\beta$ -CDs) para ser aplicados como encapsuladores orgánicos en soluciones acuosas. Las CDs son compuestos benignos con el medio ambiente. Son oligosacáridos cíclicos que poseen una cavidad interna hidrofóbica mientras que su exterior es hidrofilico. Si bien la  $\beta$ -CD tienen una baja solubilidad en agua (1,85 g/100 mL) en comparación a la  $\alpha$ -CD (14,5 g/100 mL) y  $\gamma$ -CD (23,2 g/100 mL), pueden modificarse químicamente para mejorar su solubilidad o para alcanzar otras aplicaciones muy interesantes. Su interior hidrofóbico puede aprovecharse para encapsular una variedad de compuestos, desde productos farmacéuticos poco solubles en medios acuosos hasta contaminantes ambientales.

En esta investigación se pretende sintetizar, purificar y caracterizar Mod $\beta$ -CDs iónicas y no iónicas, y sus sistemas acuosos para aplicarlos en la encapsulación de compuestos de interés a través del análisis de la interacción huésped-receptor con moléculas pruebas, principalmente por técnicas de absorción Uv-Vis.

Los compuestos sintetizados y purificados se caracterizaron por Resonancia Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN), espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), y eventualmente, sus sistemas acuosos se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), experimentos de dispersión de luz dinámica (DLS), y microscopia de fuerza atómica (AFM).

En definitiva, los resultados demostraron que la solubilidad en agua de las Mod $\beta$ -CDs iónicas no aumentó como esperábamos debido al entrelazamiento de la cadena carbonada funcionalizada con moléculas de  $\beta$ -CD adyacentes. Afortunadamente, para las Mod $\beta$ -CDs no iónicas cuales se obtuvieron mediante la reacción click catalizada por cobre, se observó un aumento exitoso de su solubilidad en agua. Más importante aún, se investigó y empleó un proceso de purificación electroquímica para eliminar los residuos de cobre de las reacciones click catalizadas por cobre, resultando novedoso el hecho de que nunca se había aplicado electro-purificación para este tipo de compuestos y además, esta técnica dio buenos resultados. Esto es de particular importancia en el caso que estos productos se utilizaran con fines medicinales, ya que la citotoxicidad del cobre no es un problema menor.

En cuanto a la aplicación de las Mod $\beta$ -CDs no iónicas, se analizó la capacidad de encapsulación con la curcumina (Cur) como molécula prueba, y se compararon frente a la  $\beta$ -CD nativa, observando un mayor poder de encapsulación para las Mod $\beta$ -CD no iónicos.

## **Resumen en inglés**

This thesis addresses a topic of particular interest in the study of modified  $\beta$ -Cyclodextrins (Mod $\beta$ -CDs) for their use as organic encapsulates in aqueous solutions. CDs are environmentally benign compounds. They are cyclic oligosaccharides that possess a hydrophobic internal cavity while their exterior is hydrophilic. Although  $\beta$ -CDs have low solubility in water (1,85 g/100 mL) compared to  $\alpha$ -CD (14,5 g/100 mL) and  $\gamma$ -CD (23,2 g/100 mL), they can be chemically modified to improve their solubility or to achieve other very interesting applications. Their hydrophobic interior can be used to encapsulate a variety of compounds, from pharmaceuticals with poor soluble properties in aqueous media to environmental pollutants.

This research aims to synthesize, purify and characterize ionic and non-ionic Mod $\beta$ -CDs and their aqueous systems to apply them in the encapsulation of compounds of interest through the analysis of the host-receptor interaction with test molecules, mainly by UV-Vis absorption techniques.

The synthesized and purified compounds were characterized by nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H-NMR}$ ) and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, and their aqueous systems were characterized by scanning electron microscopy (SEM), dynamic light scattering (DLS) experiments, and atomic force microscopy (AFM).

Ultimately, the results demonstrated that the aqueous solubility of the ionic Mod $\beta$ -CDs did not increase as expected due to the entanglement of the functionalized carbon chain with adjacent  $\beta$ -CD molecules. Fortunately, the non-ionic Mod $\beta$ -CDs obtained from copper catalyzed click reactions, successfully increased their aqueous solubility. More importantly, an electrochemical purification process was investigated and employed to remove copper residues from copper catalyzed click reactions. This was novel in that electropurification had never been applied to this type of compound before, and furthermore, this technique yielded good results. This is particularly important if these products were to be used medicinally, as copper cytotoxicity is a significant issue.

Regarding the application of non-ionic Mod $\beta$ -CDs, the encapsulation capacity was analyzed with curcumin (Cur) as a probe molecule, and compared to native  $\beta$ -CD, observing a greater encapsulation power for non-ionic Mod $\beta$ -CDs.

# **INTRODUCCIÓN**

## **(1)**

## 1.1: Breve historia del descubrimiento de las Ciclodextrinas

La aparición de las primeras Ciclodextrinas (CD) (llamadas *celusina* en aquel momento) fue observada por el farmacéutico y químico francés Antoine Villiers en 1891. Durante experimentos sobre la degradación y reducción de carbohidratos bajo la acción de la fermentación, notó cristales no esperados con propiedades peculiares que resultaron ser CDs.<sup>1</sup> Estas dextrinas cristalinas se descubrieron a partir de la digestión del almidón de papa con *Bacillus amylobacter*. A principios de los 1900s, el bacteriólogo y químico austriaco Franz Schardinger reconoció las CDs.<sup>2</sup> Schardinger descubrió un microorganismo extremadamente resistente al calor que era capaz de digerir el almidón y formar subproductos cristalinos,<sup>3</sup> los cuales eran increíblemente similares a las *celusinas* descubiertas por Villier. Cuando analizó estas moléculas mediante un ensayo de yodo, pudo diferenciar entre dos tipos de *krystallisierte dextrins*, denominada A y B. Mediante esta prueba, Schardinger descubrió que la formación de las dos dextrinas cristalizadas dependía del tipo de cepa bacteriana utilizada para digerir la fuente de almidón, y también observó la diferencia en las interacciones de las cepas entre las distintas muestras de almidón. Hoy en día se reconoce la enzima que está involucrada en la ciclización interna durante la degradación enzimática del almidón por ciclodextrina glicosiltransferasa (CGTasa).<sup>4</sup> Entonces, ¿cuándo surgió el término CD? No fue hasta 1949, creado por el químico alemán Friedrich Cramer, quien lo incluyó en su tesis doctoral titulada *Die Cyclodextrine aus Stärke*.<sup>5</sup> Para Cramer, este nombre implicaba oligosacáridos cíclicos compuestos por 6, 7 u 8 unidades de D-glucosa unidas por un enlace  $\alpha$ -(1-4), denominados  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CDs, respectivamente. Esta es una simple descripción de al menos 100 años de investigación, entre 1891 y 2000, sobre el descubrimiento y la denominación de las CDs. En las siguientes secciones, analizaremos con más detalle sus estructuras químicas, su capacidad para encapsular compuestos, las modificaciones químicas estudiadas y sus cambios fisicoquímicos, así como su amplio uso en la sociedad actual.

<sup>1</sup> Villiers A 1891 Sur la transformation de la fécale en dextrine par le ferment butyrique. Chimie Organique – Compte Rendus des Séances de l’Académie des Sciences (France) Février, CXII, pp 435–437

<sup>2</sup> Crini, G., Fourmentin, S., & Lichtfouse, E. (2020a). The history of cyclodextrins. In *Environmental chemistry for a sustainable world*.

<sup>3</sup> Schardinger F (1903a) Über thermophile bakterien aus verschiedenen speisen und milch, sowieüber einige umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen nährlösungen, darunter krystallisierte polysaccharide (dextrine) aus stärke. Zeitschrift für Untersuchung von Nahrungs- und Genussmittel 6:865–880

<sup>4</sup> K.N. Rajput, K.C. Patel, U.B. Trivedi, “ $\beta$ -Cyclodextrin Production by Cyclodextrin Glucanotransferase from an Alkaliphile Microbacterium *Terrae KNR 9* using Different Starch Substrates” Biotechnol. Res. Int. 2016, 2016, 2034359

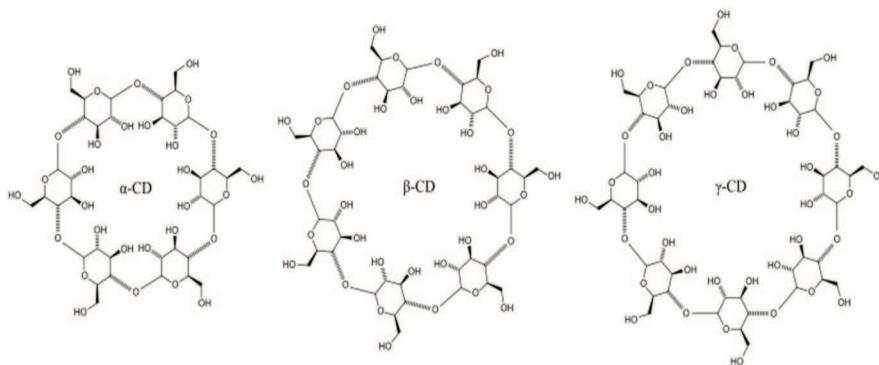
<sup>5</sup> Cramer F (1949) Die cyclodextrine aus Stärke. Dissertation, Heidelberg

## 1.2: Estructura y Propiedades Química de las Ciclodextrinas

La estructura química de las CDs, como se mencionó anteriormente, consiste en oligosacáridos cíclicos compuestos por 6, 7 u 8 unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1-4). Las estructuras de estos compuestos se pueden observar en la **Figura 1.1**. Una de sus principales características atractivas es que poseen una cavidad hidrofóbica capaz de formar una amplia gama de complejos de inclusión con moléculas huésped gracias a su forma toroidal.<sup>6</sup> Mantienen un exterior hidrófilo que les confiere *cierta* solubilidad en agua. Si bien cada una de estas CDs es capaz de formar complejos de inclusión, el diámetro de la cavidad varía según el número de unidades de glucosa que componen la estructura. En la **Tabla 1.1** se pueden observar importantes propiedades químicas y físicas. En este estudio, decidimos investigar la  $\beta$ -CD debido a su limitada solubilidad en agua (1,85 g/100 mL) comparado la  $\alpha$ -CD (14,5 g/100 mL) y  $\gamma$ -CD (23,2 g/100 mL), y además por el diámetro de su cavidad toroidal. Por ejemplo, muchos compuestos pueden caber en la  $\beta$ -CD, pero estas moléculas no pueden entrar en la  $\alpha$ -CD o muchos compuestos que pueden entrar en  $\gamma$ -CD pueden fácilmente desalojarse y no realmente quedar incluidos. En la **Tabla 1.1**, observamos que la  $\beta$ -CD presenta la menor solubilidad en agua de las tres y un tamaño de cavidad bastante adecuado. Existen dos tipos de hidroxilos presentes en estos compuestos: un hidroxilo primario, orientado hacia el borde más estrecho, e hidroxilos secundarios, orientados hacia el borde más ancho de la estructura del toroide. No es sorprendente que estos hidroxilos puedan modificarse químicamente para producir una amplia gama de compuestos, algunos de los cuales mejoran y confieren mayores capacidades que el compuesto original. Con respecto a la  $\beta$ -CD, existen 21 grupos hidroxilo que pueden modificarse químicamente para producir un compuesto altamente funcionalizado. Otra característica importante son los valores de pKa de estos compuestos. Dado que sus pKa son bastante altos, pueden sufrir hidrólisis en concentraciones ácidas que producen oligosacáridos lineales.

---

<sup>6</sup> Loftsson, T., & Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(10), 1017–1025.

**Figura 1.1** Estructuras químicas de CDs.**Tabla 1.1:** Propiedades físicas de las CDs.<sup>7</sup>

	Unidades de Glucosa	Dimensiones de Cavidad Diámetro (Å)	Profundidad (Å)	Solubilidad en Agua (g/100 mL)	Masa Molecular (g/mol)	pKa en Agua
α-CD	6	4,5	6,7	14,5	972	12,1-13,5 <sup>8</sup>
β-CD	7	7	7	1,85	1135	12,1-13,5 <sup>8</sup>
γ-CD	8	8,5	7	23,2	1297	12,1-13,5 <sup>8</sup>

### 1.3: Modificaciones de β-CD

Como lo informó Szejtli,<sup>9-10</sup> muchas de las β-CD modificadas son más solubles en agua que las CD nativas. Las modificaciones de las β-CD originales generalmente buscan convertirlas en derivados amorfos no cristalizables, de modo que permanezcan en altas concentraciones en soluciones acuosas y sean física y microbiológicamente estables.<sup>8</sup> Los ejemplos incluyen derivados metilados, β-CD 2-hidroxipropilados, β-CD acetilados y sulfatados.<sup>8,9</sup> Estas modificaciones alteran la red estable de enlaces de hidrógeno alrededor del borde de la CD, lo que a su vez mejora su solubilidad en agua.<sup>8,9</sup> Detallando los ejemplos incluidos previamente, los derivados metilados introducen sustituyentes metilo en el compuesto β-CD nativo, lo que mejora drásticamente su solubilidad en agua. Un detalle interesante investigado es que la solubilidad en agua aumenta hasta que el número de grupos metilo alcanza 13-14, y luego disminuye cuando la metilación se acerca a 21 metóxidos por molécula de β-

<sup>7</sup> M. L. Bender und M. Komiyama: Cyclodextrin Chemistry. 96 Seiten, 14 Abb., 37 Tab. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1978. Preis: 44,— DM. *Nahrung/Food*, 25(7), 701–702.

<sup>8</sup> Saokham, P.; Muankaew, C.; Jansook, P.; Loftsson, T. Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes. *Molecules* **2018**, *23*, 1161

<sup>9</sup> S. Lajos, J. Szejtli, "Highly Soluble Cyclodextrin Derivatives: Chemistry, Properties, and Trends in Development." *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *36*, 17

<sup>10</sup> J. Szejtli, *Cyclodextrin Technology*, Springer Netherlands

CD.<sup>8</sup> Este fenómeno es comprensible, ya que cuando todos los hidroxilos se transforman en grupos metóxido, estos son significativamente menos polares que los hidroxilos presentes, lo que hace que el exterior sea más hidrófobo. Estudios sistemáticos realizados han demostrado que la  $\beta$ -CD metilada más viable farmacéuticamente disponible es el producto metilado aleatoriamente (RM $\beta$ CD), producido por Wacker Chemie, donde este compuesto tiene un grado promedio de metilación de 1,8 por unidad de glucosa.<sup>11</sup> Para las CDs con hidroxipropilo, esta es una reacción simple con  $\beta$ -CD y óxido de propileno en soluciones acuosas alcalinas que da como resultado la sustitución de grupos hidroxilo por grupos 2-hidroxipropilo.<sup>12</sup> El único problema con estas reacciones es que un mayor grado de sustitución puede conducir a la formación de cadenas laterales de óxido de hidroxipropileno (isopropileno) oligomérico.<sup>8</sup> Como ocurre con muchas reacciones, la reacción en sí no es difícil; sin embargo, la purificación del producto deseado requiere más trabajo. El hidroxipropil- $\beta$ -CD (HP $\beta$ CD), desarrollado comercialmente, se comercializa bajo los nombres Moleculesol<sup>TM</sup> y Encapsin<sup>TM</sup>. Una formulación basada en este vehículo, llamada Sproanol<sup>TM</sup> de Janssen, ha sido aprobada por la FDA.<sup>13</sup>

## 1.4 Aplicaciones de las Ciclodextrinas

### 1.4.1: Prefacio

En esta sección, analizaremos la amplia gama de aplicaciones de las  $\beta$ -CD, tanto nativas como modificadas. Los CDs siguen atrayendo la atención de investigadores de todo el mundo gracias a su capacidad de encapsulación y a sus propiedades como agentes complejantes y transportadores de diferentes sustancias. Todo esto las convierte en candidatos prometedores para aplicaciones tecnológicas en diversas industrias.<sup>14</sup> Estas industrias incluyen la medicina,<sup>15</sup> farmacéuticos,<sup>15</sup> cosméticos,<sup>16</sup> comida,<sup>17</sup> y las industrias textiles.<sup>18</sup> Además, en procesos relacionados con la

<sup>11</sup> M. Aman, H. Reuscher, T. Wimmer, R. Hirsenkorn, Rational [37] J. Pitha, J. Pitha, Amorphous water-soluble derivatives of design of cyclodextrin derivatives: benefits that pay off in cyclodextrins. Non-toxic dissolution enhancing excipients, J. applications, 209th ACS National Meeting, Anaheim CA, Pharm. Sci. 94 (1985) 987–990.1995.

<sup>12</sup> J. Pitha, L. Szabo, H. Fales, Reaction of cyclodextrins with propylene oxide or with glycidol: Analysis of Product Distribution, Carbohydr. Res. 168 (1987) 191–198.

<sup>13</sup> J. Szejtli (Ed.), Cyclodextrin News, Vol. 11, No. 2. Cyclolab, Budapest, 1997

<sup>14</sup> Esteso, M. A., & Romero, C. M. (2024). Cyclodextrins: Properties and applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4547.

<sup>15</sup> Popielec, A., & Loftsson, T. (2017). Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 531(2), 532–542.

<sup>16</sup> Dubey, S. K., Dey, A., Singhvi, G., Pandey, M. M., Singh, V., & Kesharwani, P. (2022). Emerging trends of nanotechnology in advanced cosmetics. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*, 214, 112440.

<sup>17</sup> Tian, B., Xiao, D., Hei, T., Ping, R., Hua, S., & Liu, J. (2020). The application and prospects of cyclodextrin inclusion complexes and polymers in the food industry: a review. *Polymer International*, 69(7), 597–603.

<sup>18</sup> Bezerra, F. M., Lis, M. J., Firmino, H. B., Da Silva, J. G. D., De Cassia Siqueira Curto Valle, R., Valle, J. a. B., Scacchetti, F. a. P., & Tessaro, A. L. (2020). The role of B-Cyclodextrin in the Textile Industry—Review. *Molecules*, 25(16), 3624.

biotecnología, la agricultura y la remediación ambiental, estos compuestos pueden utilizarse en sistemas de liberación controlada para mejorar la solubilidad y la biodisponibilidad de sustancias poco solubles en agua y como catalizadores de numerosas reacciones.<sup>19</sup> Todo lo cual se discutirá en detalle más adelante.

#### **1.4.2 Aplicaciones médicas y farmacéuticas**

Para empezar, muchos químicos farmacéuticos han observado las capacidades aparentemente infinitas de la  $\beta$ -CDs para formar complejos de inclusión o asociación con una gran cantidad de fármacos. Por ejemplo, un caso puntual es la inclusión de antibióticos  $\beta$ -lactámicos que son protegidos de la hidrólisis por las CDs. Estos antibióticos incluyen penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos, que son un anillo  $\beta$ -lactámico de cuatro miembros. En general, las lactamas y las amidas son relativamente estables, pero debido a la tensión estructural del anillo de cuatro miembros, se hidrolizan fácilmente en soluciones acuosas, lo que resulta en la pérdida completa de la actividad antibacteriana. Cuando estos compuestos se incorporan a la  $\beta$ -CD, tienden a proteger el anillo  $\beta$ -lactámico de la degradación hidrolítica en condiciones ácidas.<sup>20</sup> Además, se sabe que las CDs pueden estabilizar productos farmacéuticos que sufren degradación oxidativa. Como en el estudio donde una mezcla de trimetoprima y sulfametoazol (utilizados para tratar infecciones en las vías urinarias y respiratorias superiores) se encapsuló en HP $\beta$ CD. Al encapsularse, estos complejos aumentaron drásticamente sus vidas medias en un orden de 11 y 4,2 para el sulfametoazol y la trimetoprima, respectivamente.<sup>21</sup> También se investigó la fotoestabilidad de fármacos dermatológicos. La complejación con  $\beta$ -CD de la tretinoína (utilizada para tratar trastornos cutáneos como el acné vulgar y la psoriasis) disminuyó su fotodegradación tras la exposición a la luz UV y visible.<sup>22</sup> La lista continúa con el uso de CD para crear complejos de inclusión de diversos productos farmacéuticos que los protegen de la degradación, mejorando su estabilidad y su eficacia, lo que ilustra la importancia que tienen estos compuestos cíclicos en la industria farmacéutica.

---

<sup>19</sup> Bai, C., Tian, B., Zhao, T., Huang, Q., & Wang, Z. (2017). Cyclodextrin-Catalyzed Organic synthesis: Reactions, mechanisms, and applications. *Molecules*, 22(9), 1475.

<sup>20</sup> Aki, H., Niiya, T., Iwase, Y., Goto, M., & Kimura, T. (2004). Mechanism for the inhibition of the acid degradation of ampicillin by 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 77(2), 423–435.

<sup>21</sup> Pourmokhtar, M., & Jacobson, G. A. (2005). Enhanced stability of sulfamethoxazole and trimethoprim against oxidation using hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *PubMed*, 60(11), 837–839.

<sup>22</sup> Caddeo, C., Manconi, M., Valenti, D., Pini, E., & Sinico, C. (2007). Photostability and solubility improvement of  $\beta$ -cyclodextrin-included tretinoin. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 59(3–4), 293–300.

### 1.4.3 Aplicaciones cosméticas

No es de extrañar que las CDs también se utilicen en la industria cosmética. Al reticularse, pueden formar una estructura llamada nanoesponjas, que son sistemas nanotecnológicos avanzados para la administración de compuestos activos. Las nanoesponjas CD (CD-NS) se sintetizan mediante la reacción de la CD nativa con reticulantes como dialdehídos, epiclorhidrina, cloruros de diacilo y epóxidos, entre otros.<sup>23</sup> Estos CD-NS exhiben eficiencias extremadamente altas para acomodar moléculas poco solubles mediante la formación de complejos de inclusión y no inclusión.<sup>24-25</sup> Estas propiedades de las CD-NS pueden aprovecharse en cosmética, ya que los compuestos activos se estabilizan y protegen de la oxidación, la evaporación y la fotodegradación. Al complejear los activos en cosméticos con estas CD-NS, estos presentan menos efectos secundarios, mayor permeabilidad, mayor biodisponibilidad y facilitan una liberación controlada del compuesto activo.<sup>16</sup> Un grupo de investigación realizó un estudio donde encapsuló gamma-orizanol en CD-NS. Gamma-orizanol es una mezcla de ácidos ferúlico utilizada en protectores solares; sin embargo, es bastante inestable y fácilmente susceptible a la fotodegradación. Por lo tanto, se probó si la incorporación en CD-NS promovía la protección contra la degradación, y se observó un resultado bastante satisfactorio. Para profundizar en el estudio de esta complejación, se realizaron estudios de permeación y acumulación *in vitro* en piel porcina. Los hallazgos sugirieron un alto nivel de acumulación de gamma-orizanol en la piel con el tiempo, lo que implica que la complejación de CD- NS con los ácidos ferúlicos aumentó su absorción cutánea debido a su capacidad para aumentar su solubilidad. Esta, como se mencionó previamente, es una de las propiedades que las CDs pueden conferir a los compuestos hidrofóbicos.

### 1.4.5 Síntesis orgánica y aplicaciones catalíticas

Además de ser agentes capaces de encapsular diversas moléculas huésped y formar estructuras complejas mediante métodos de reticulación o agregación, las CDs también pueden utilizarse como

---

<sup>23</sup> Sherje, A. P., Dravyakar, B. R., Kadam, D., & Jadhav, M. (2017). Cyclodextrin-based nanosplices: A critical review. *Carbohydrate Polymers*, 173, 37–49.

<sup>24</sup> Trotta, F., & Cavalli, R. (2009). Characterization and applications of new Hyper-Cross-Linked cyclodextrins. *Composite Interfaces*, 16(1), 39–48.

<sup>25</sup> Cavalli, R., Trotta, F., & Tumiatti, W. (2006). Cyclodextrin-based nanosplices for drug delivery. *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, 56(1–2), 209–213.

catalizadores en la síntesis orgánica. Estas mismas CDs pueden funcionalizarse con metales, que experimentan otras reacciones catalíticas, o bien ser catalizadores en su forma nativa formando complejos de inclusión que catalizan varias reacciones.

Para comenzar, nos centramos en una reacción de oxidación simple. Las CDs nativas como catalizadores supramoleculares tuvieron el efecto de una velocidad de reacción acelerada en la oxidación del cinamaldehido con hipoclorito de sodio.<sup>26</sup> Cuando la  $\beta$ -CD y cinamaldehido se mezclan, forman un complejo de inclusión 1:1 en agua, como consecuencia la velocidad de oxidación nucleófila del aldehído aumenta que en ausencia del catalizador ( $\beta$ -CD). Otro grupo investigó la reacción de oxidación de alcoholes a aldehídos en condiciones suaves. Demostraron que, debido a la capacidad de formar complejos de inclusión con las CDs la solución de reacción resultó homogénea, y favoreció el progreso de la reacción química.<sup>27</sup> Adicionalmente, se preparó un electrodo de carbono vítreo modificado utilizando un compuesto de óxido de grafeno y  $\beta$ -CD llamado  $\beta$ -CD-SO<sub>3</sub>H<sup>28</sup> para utilizarlo como sensor electroquímico. Este sensor pudo catalizar la reacción de oxidación de la cadaverina a 5-aminopentanal debido a que la  $\beta$ -CD podía alojar la cadaverina y promover su transferencia de electrones. Estos complejos también proporcionaban una mayor superficie electroactiva, lo que favoreció esta reacción. Este sensor se utilizó en muestras de peces para determinar la cadaverina y demostró una buena repetibilidad de las mediciones, así como estabilidad. Se han estudiado los diferentes usos de las  $\beta$ -CD, en la síntesis orgánica en todos los aspectos desde reacciones de reducción convencionales,<sup>29</sup> reacciones de adición,<sup>30</sup> y sustitución.<sup>31</sup> Los datos obtenidos demuestran la belleza de este compuesto y requieren estudios más profundos para aprovechar todos sus beneficios y usos potenciales.

<sup>26</sup> Chen, H.Y.; Ji, H.B.  $\beta$ -cyclodextrin promoted oxidation of cinnamaldehyde to natural benzaldehyde in water. Chin. J. Chem. Eng. **2011**, 19, 972–977.

<sup>27</sup> Ji, H.B.; Shi, D.P.; Shao, M.; Li, Z.; Wang, L.F. Transition metal free and substrate-selective oxidation of alcohols using water as an only solvent in the presence of  $\beta$ -cyclodextrin. Tetrahedron Lett. **2005**, 46, 2517–2520. <sup>28</sup> Saghafpouroush, L.; Hasanzadeh, M.; Shadjou, N.  $\beta$ -cyclodextrin/graphene oxide grafted sulfonic acid: Application for electro-oxidation and determination of cadaverine in fish samples. J. Electroanal. Chem. **2014**, 714–715, 79–84

<sup>29</sup> Pospíšil, L.; Sokolová, R.; Hromadová, M.; Giannarelli, S.; Fuoco, R.; Colombini, M.P. Inclusion complex of fungicide vinclozoline and  $\beta$ -cyclodextrin: The influence of host-guest interaction on the reduction mechanism. J. Electroanal. Chem. **2001**, 517, 28–36.

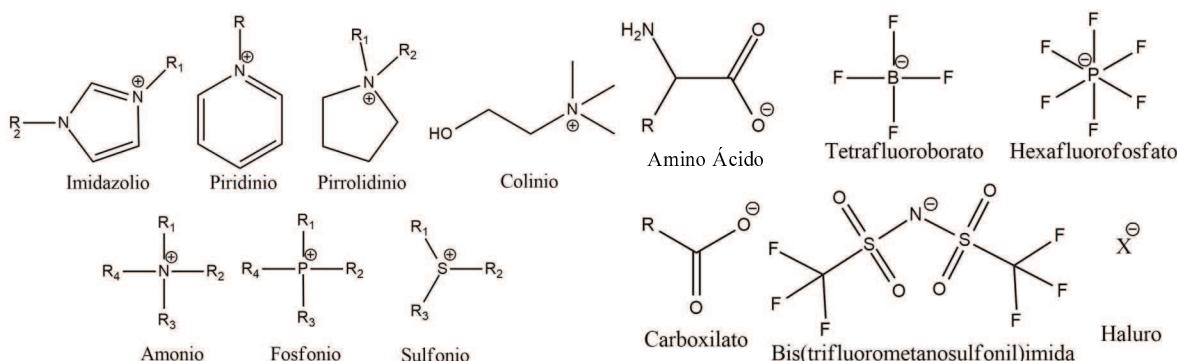
<sup>30</sup> Krishnaveni, N.S.; Surendra, K.; Rao, K.R. Study of the Michael addition of  $\beta$ -cyclodextrin-thiol complexes to conjugated alkenes in water. Chem. Commun. **2005**, 36, 669–671.

<sup>31</sup> Kiasat, A.R.; Nazari, S. Magnetic nanoparticles grafted with  $\beta$ -cyclodextrin-polyurethane polymer as a novel nanomagnetic polymer brush catalyst for nucleophilic substitution reactions of benzyl halides in water. J. Mol. Catal. A Chem. **2012**, 365, 80–86.

## 1.5 Líquidos Iónicos

Dejando atrás las CDs, nos adentramos en el mundo de los líquidos iónicos (LIs). Los LIs se definen normalmente como compuestos constituidos completamente por iones donde el catión o anión es de naturaleza orgánica. Estos compuestos presentan un punto de fusión inferior a 100 °C.

El primer LI informado en la literatura fue el nitrato de etilamonio, descrito por Paul Walden en 1914.<sup>32</sup> Los LIs se dividen comúnmente en varios tipos, incluyendo LIs a temperatura ambiente (room temperature ionic liquids), LIs específicos para cada tarea (task-specific ionic liquids), y LIs poliiónicos (poly(ionic) ionic liquids). Lo que hace a los LIs atractivos es su capacidad de ser "diseñados" según la elección del catión y el anión, que les confieren diferentes propiedades que pueden realizar diversas tareas. La **Figura 1.2** ilustra los cationes y aniones comunes utilizados en la formación de líquidos iónicos.<sup>33</sup>



**Figura 1.2:** Estructuras de cationes comunes (izquierda) y estructuras de aniones comunes (derecha).

Estos materiales se consideran nuevos solventes más benignos debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas, como no inflamabilidad, conductividad, baja presión de vapor, reciclabilidad y estabilidad térmica.<sup>34,35,36,37</sup> En un principio, la idea de modificar a la β-CD con un líquido iónico consistió en la posibilidad de desarrollar un nuevo material que permitiera una mayor solubilidad en agua que la molécula nativa de β-CD a través la formación de micelas.

<sup>32</sup> Lei, Z., Chen, B., Koo, Y., & MacFarlane, D. R. (2017). Introduction: Ionic liquids. *Chemical Reviews*, 117(10), 6633–6635.

<sup>33</sup> Cruz, C., & Ciach, A. (2021). Phase transitions and electrochemical properties of Ionic Liquids and Ionic Liquid—Solvent mixtures. *Molecules*, 26(12), 3668.

<sup>34</sup> A. Mohammad, Inamuddin, Green Solvents II: Properties and applications of ionic liquids, 2012.

<sup>35</sup> J.F. Brennecke, E.J. Maginn, Ionic liquids: Innovative fluids for chemical processing, *AIChE J* 47 (2001) 2384–2389.

<sup>36</sup> F. Jutz, J.M. Andanson, A. Baiker, Ionic liquids and dense carbon dioxide: A beneficial biphasic system for catalysis, *Chem. Rev.* 111 (2011) 322– 353.

<sup>37</sup> L. Qin, X.H. Wang, Surface adsorption and thermodynamic properties of mixed system of ionic liquid surfactants with cetyltrimethyl ammonium bromide, *RSC Adv.* 7 (2017) 51426–51435.

Una micela es un agregado de moléculas de surfactante dispersas en un líquido, donde las colas hidrofóbicas se agrupan en un núcleo hidrofóbico para minimizar las interacciones con el agua, mientras que, las regiones más polares o cargadas se encuentran en el exterior del agregado micelar y en contacto con la solución acuosa. Estas estructuras son particularmente relevantes para alojar fármacos o enzimas insolubles en agua, además de ser biocompatibles (en algunos casos).<sup>38</sup>

## 1.6 Reacciones Click

Es importante dedicar tiempo a explicar en profundidad qué son las reacciones clic, dado que se han empleado en esta investigación y han dado lugar a productos con cualidades muy atractivas. En primer lugar, el término "reacciones click" fue acuñado en 2001 por Sharpless et al.<sup>39</sup>

*"La reacción debe ser modular, de amplio alcance, con rendimientos muy altos, generar únicamente subproductos inofensivos que puedan eliminarse mediante métodos no cromatográficos y ser estereoespecífica (pero no necesariamente enantioselectiva). Las características requeridas del proceso incluyen condiciones de reacción sencillas (idealmente, el proceso debe ser insensible al oxígeno y al agua), materiales de partida y reactivos fácilmente disponibles, el uso de disolventes inocuos (como el agua) o de fácil eliminación, y un aislamiento sencillo del producto. La purificación, si es necesaria, debe realizarse mediante métodos no cromatográficos, como la cristalización o la destilación, y el producto debe ser estable en condiciones fisiológicas."*

Algunos de los tipos más comunes de reacciones que son “de resorte” o de alta afinidad para reaccionar, según la definición de Sharpless, son los siguientes:

- Cicloadiciones de especies insaturadas, especialmente reacciones de cicloadición 1,3-dipolar, pero también la familia de reacciones de Diels-Alder.
- Química de sustitución nucleófila, en particular reacciones de apertura de anillo de electrófilos heterocíclicos tensados, como epóxidos, aziridinas, iones aziridinio e cationes episulfonilo.
- Química del carbonilo de tipo no aldólico, como la formación de ureas, tioureas, heterociclos aromáticos, éteres de oxima, hidrazonas y amidas.

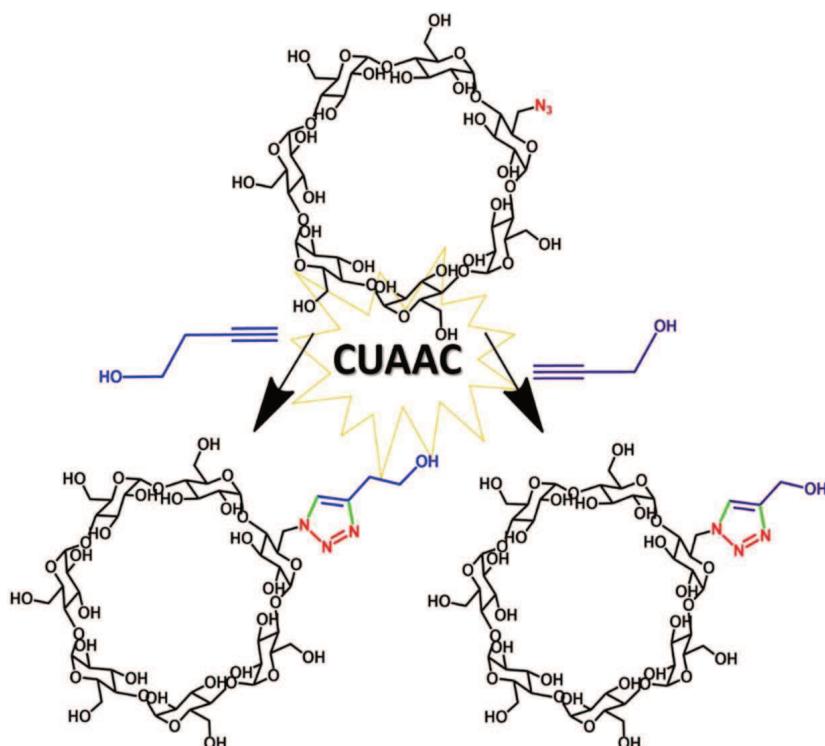
---

<sup>38</sup> Goyal, A. K., Garg, T., Bhandari, S., & Rath, G. (2017). Advancement in pulmonary drug delivery systems for treatment of tuberculosis. In *Elsevier eBooks* (pp. 669–695).

<sup>39</sup> Kolb, H. C., Finn, M. G., & Sharpless, K. B. (2001). Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(11), 2004–2021.

- Adiciones a enlaces múltiples carbono-carbono, especialmente casos oxidativos como epoxidación, dihidroxilación, aziridinación y adición de haluro de sulfenilo, y también adiciones de Michael.

Este tipo de reacciones ha ganado un reconocimiento notable en los últimos años, no solo por su reconocimiento con un Premio Nobel de Química, debido a su utilidad en la química sintética y por sus rápidas velocidades de reacción, pero también porque esta reacción ha allanado el camino para obtener una multitud de nuevos compuestos que potencialmente pueden usarse como sensores, productos farmacéuticos y compuestos biológicos que pueden ocurrir dentro de los organismos vivos sin alterar la química normal de la célula. En esta investigación, empleamos reacciones click, como se muestra en la **Figura 1.3**, para determinar si estas reacciones eran adecuadas para trabajar en la modificación de la  $\beta$ -CD. Uno de los factores más desafiantes fue la purificación del compuesto, ya que empleamos reacciones click catalizadas por cobre (Copper-catalyzed azide alkyne cycloaddition CuAAC). Afortunadamente, pudimos purificar los productos a partir de niveles traza de cobre utilizando una técnica de purificación electroquímica que fue aplicada anteriormente a otro tipo de compuestos, pero por primera vez a los sintetizados aquí.



**Figura 1.3:** Reacción Click empleada en esta investigación.

**Con estas ideas en mente, esta investigación se centró en los siguientes puntos:**

### **1.7 Objetivos específicos**

Sobre la síntesis de  $\beta$ -CDs químicamente modificadas: Mod $\beta$ -CDs

- Sintetizar y purificar los precursores necesarios para la posterior preparación de las: Mod $\beta$ -CDs iónicas y no iónicas, buscando condiciones que se enfoquen en proceso más sustentables.
- Optimizar la síntesis de los Mod $\beta$ -CDs catiónicas.
- Puesta a punto de la técnica para la síntesis de Mod $\beta$ -CDs (Mod $\beta$ -CDs@C16im[X]) con contraiones [X] = yoduro y tosilato.
- Sintetizar y purificar Mod $\beta$ -CDs catiónicas Mod $\beta$ -CDs@16im[X].
- Sintetizar y purificar las Mod $\beta$ -CDs no iónicas Mod $\beta$ -CDs con anillo de triazol del tipo Mod $\beta$ -CDs@CnN<sub>3</sub>OH mediante reacciones click.

### **Sobre la caracterización de Mod $\beta$ -CDs**

- Caracterizar las Mod $\beta$ -CDs por espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H-RMN), Espectroscopia ultravioleta y visible (UV-Vis) y por espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).
- Determinar punto de fusión, solubilidad en agua, concentración de agregación critica (CAC) constante de complejacion con curcumina.
- Determinar el tamaño y forma de los agregados por microscopía electrónica de barrido (SEM), experimentos de dispersión de luz dinámica (DLS), y microscopía de fuerza atómica (AFM).

### **Sobre la aplicación de las Mod $\beta$ -CDs**

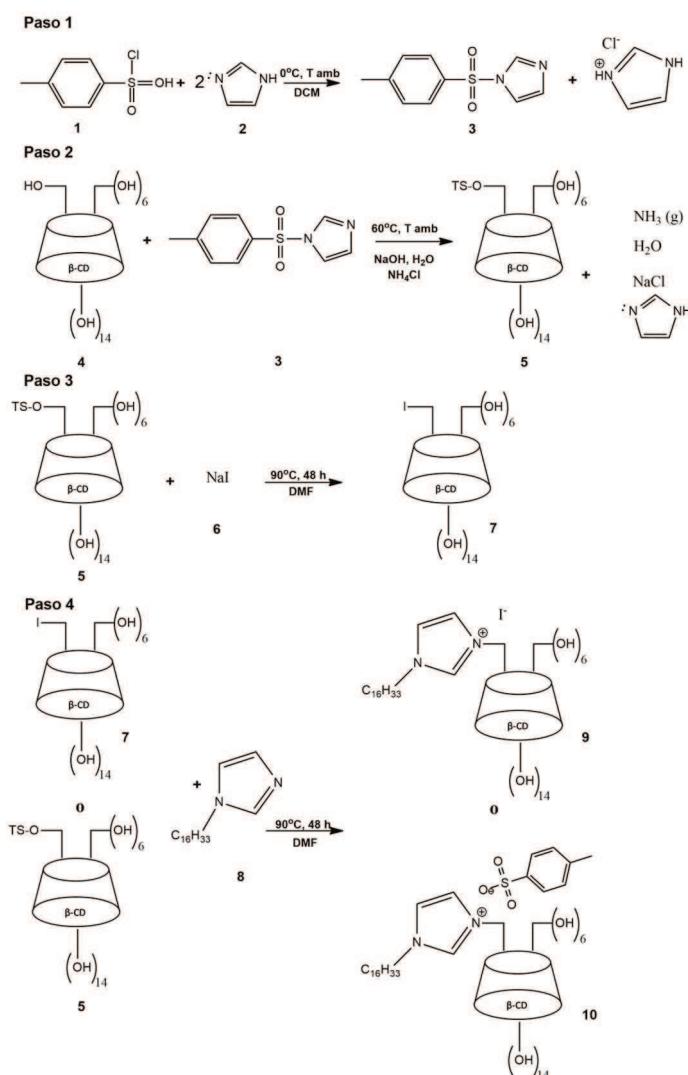
- Analizar la interacción huésped-receptor de las Mod $\beta$ -CDs con moléculas pruebas (X) (principios activos PA-X) por técnicas de absorción UV-Vis de Mod $\beta$ -CDs-PA-X.

# **SÍNTESIS DE $\beta$ -CD MODIFICADA IÓNICA Y NO-IÓNICA**

## **(2)**

## Sección 1: Síntesis de $\beta$ -CD Iónica Modificada

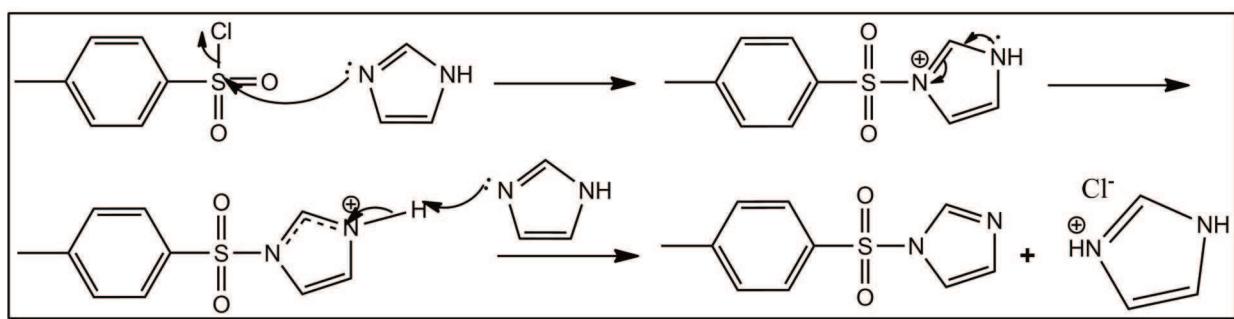
En la primera parte del desarrollo experimental de este trabajo, se comenzó con la preparación de  $\beta$ -CDs iónicas modificadas como continuación de trabajos previos de nuestro grupo y con el objetivo de adquirir la destreza y el entrenamiento requerido en este tipo de síntesis. En este sentido, se prepararon dos tipos de  $\beta$ -CDs iónicos modificadas, el yoduro de mono-6 desoxi-6-(3-hexadecylimidazolio)- $\beta$ -CD [**Mod- $\beta$ CDs@C16HIm][I<sup>-</sup>]** y el tosilato de mono- desoxi-6-(3- hexadecylimidazolio)- $\beta$ -CD [**Mod- $\beta$ CDs@C16HIm][Tos<sup>-</sup>]**. Ambas basadas en el catión imidazólico funcionalizado con una cadena alquílica de 16 carbonos, con dos contraiones diferentes: yoduro y tosilato. **El Esquema 2.1** muestra los pasos seguidos para obtener los productos deseados.



**Esquema 2.1:** Esquema de reacción para la obtención de  $\beta$ -CDs iónicas [**Mod- $\beta$ CDs@C16HIm][I<sup>-</sup>]** y [**Mod- $\beta$ CDs@C16HIm][Tos<sup>-</sup>]**

## 1. Obtención de 1-(*p*-Toluenesulfonil) imidazol (3)<sup>1</sup>

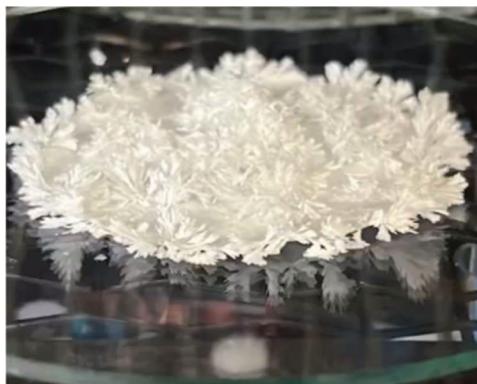
La primera reacción, el 1-(*p*-toluenosulfonil) imidazol se obtiene mediante una reacción adición-eliminación. El mecanismo de esta reacción se puede ver en la **Figura 2.1**. El nitrógeno con doble enlace del imidazol ataca al grupo sulfonilo del cloruro de *p*-toluenosulfonil, donde el grupo cloruro se libera. Esto crea un catión en el nitrógeno, donde es estabilizado por los pares electrónicos solitarios presentes en el grupo -NH por resonancia. Esto crea un hidrógeno altamente ácido presente que es extraído por el exceso de imidazol en la solución. Este catión imidazolio es un sólido que se filtra de la solución mientras el producto se solubiliza en el disolvente.



**Figura 2.1:** Mecanismo de reacción propuesta para la tosilación de imidazol.

En un balón de fondo redondo de dos bocas con agitación magnética, se disolvieron 2,8636 g de cloruro de *p*-toluenosulfonilo **1** (Merk 98%) en 12 mL de DCM (Cicarelli 99,5%), la mezcla de reacción se enfrió en baño de hielo y con atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se añadió gota a gota una solución de 2,2843 g de imidazol **2** (Merk 99%) en 12 mL de DCM. La mezcla de reacción se agitó continuamente hasta llegar a temperatura ambiente y se mantuvo durante 2 horas más en atmósfera inerte. Luego, la solución se filtró en un lecho de celite (Sintorgan 545) y se lavó con 2 mL de DCM. La solución filtrada se concentró en rotavapor y el producto **3** se precipitó con 7 mL de hexano (Cicarelli 98,5%), la solución se almacenó en el freezer durante 48 horas para ayudar a la cristalización. El precipitado se filtró al vacío y se lavó con 10 mL de acetato de etilo frío (Anedra 99,5%). Luego se secó en bomba, obteniendo un sólido blanco con un rendimiento del 67% (**Figura 2.2**).

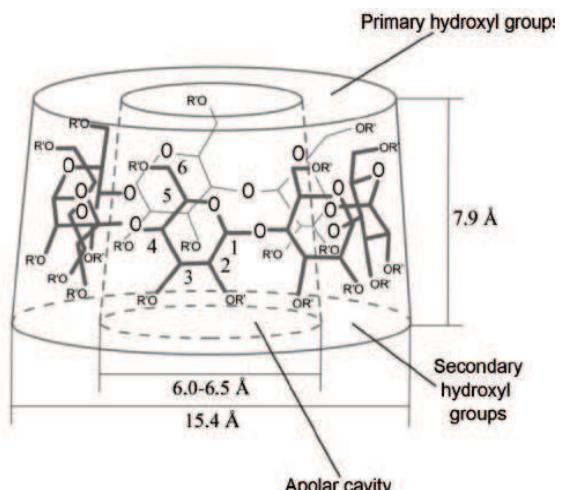
<sup>1</sup> 6a-*p*-toluenesulfonyl- $\beta$ -cyclodextrin. (2000). Organic Syntheses, 77, 225.



**Figura 2.2.** Imagen correspondiente a 1-(*p*-Toluenesulfonil) imidazol (**3**)

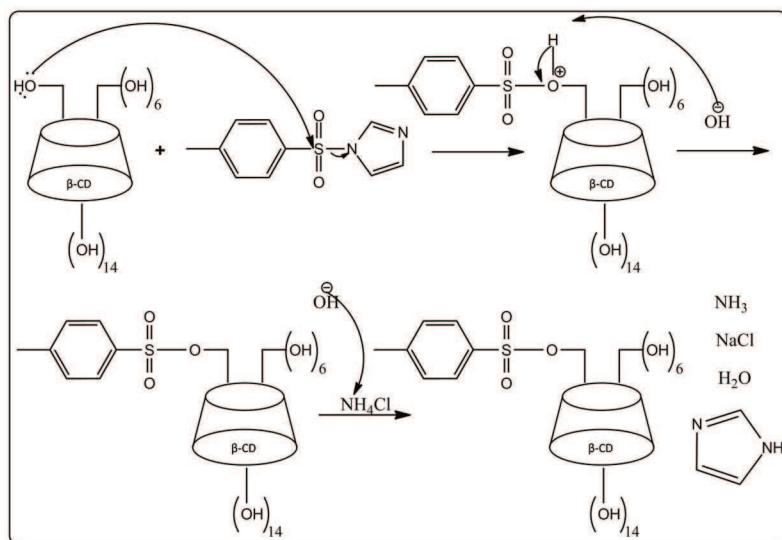
## 2. Obtención del 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD (**5**)<sup>1</sup>

En la segunda reacción, realizamos la tosilación de la  $\beta$ -CD. Esto se debe a que esta reacción favorece la monosustitución de la  $\beta$ -CD, donde la tosilación ocurre en el grupo hidroxilo primario, en el carbón 6 ubicado en el extremo más estrecho de la CD. Las ubicaciones de dichos hidroxilos se pueden observar en la **Figura 2.3**<sup>2</sup>. En general se favorece la monosustitución por impedimento estérico. Esto fue demostrado por el grupo en estudios anteriores con espectrometría de masas y  $^1\text{H}$ -RMN. Sin embargo, si hiciéramos reaccionar el cloruro de toluenosulfonilo directamente con la  $\beta$ -CD podría ocurrir en mayor proporción la di y la tri sustitución de la  $\beta$ -CD, por lo que esta reacción es fundamental para asegurar favorecer la formación del producto monosustituido. El mecanismo de la etapa 2 se puede ver en la **Figura 2.4**.



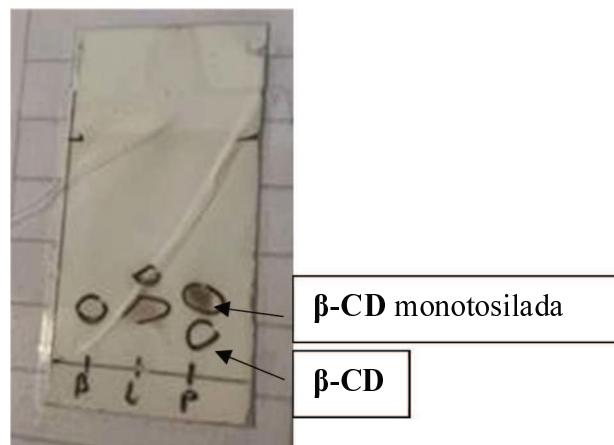
**Figura 2.3:** Estructura de  $\beta$ -CD<sup>2</sup>

<sup>2</sup> De Miranda, J. C., Martins, T. E. A., Veiga, F., & Ferraz, H. G. (2011). Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 665–681. License: CC BY-NC 4.0



**Figura 2.4:** Mecanismo de reacción propuesto para la tosilación de  $\beta$ -CD

Para la obtención de 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD **4**, se disolvieron 5,03 g de  $\beta$ -CD **4** (Sigma Aldrich 97%) en 100 mL de agua destilada en un matraz de fondo redondo con agitación magnética, y se llevó a temperatura de 60°C. La  $\beta$ -CD se disolvió por completo al alcanzar los 60°C, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente con la agitación y se agregaron 1,4775 g de imidazol tosilado **3** finamente triturado al reactor. Después de 2 horas de agitación, se añadió una solución de 2,25 g hidróxido de sodio (Cicarelli 97%) disuelto en 7 mL de agua destilada por goteo durante 20 minutos. La solución se agitó durante 10 minutos más y se filtró para eliminar el imidazol tosilado sin reaccionar. Es importante que no supere los 10 minutos porque se pueden hidrolizar el imidazol tosilado sin reaccionar y quedar en el crudo de reacción. Se agregaron 6,0 g de cloruro de amonio (Cicarelli 99,5%) a la solución filtrada para detener la reacción. El producto **5** precipitó inmediatamente después de disolver todo el cloruro de amonio. El precipitado obtenido se filtró y se secó en estufa. Para eliminar la  $\beta$ -CD sin reaccionar, el producto se lavó tres veces con 10 mL de agua destilada fría. El producto precipitado se sometió a una TLC (sistema de solvente en cuba: 0,5 mL n-butanol, 0,4 mL etanol, 0,2 mL agua destilada), una vez hecha la corrida, la placa se reveló sumergiendo la misma en una solución de ácido sulfúrico al 5% en etanol. Luego se secó y se calentó en placa calefactora hasta la aparición de las manchas (**Figura 2.5**). Es importante resaltar la presencia de  $\beta$ -CD sin reaccionar después de los lavados. Se obtuvo el producto blanco con un rendimiento del 33% (**Figura 2.6**).



**Figura 2.5:** Imagen de TLC correspondiente a  $\beta$ -CD (B izquierda) líquido remanente después de filtración (L centro) y producto 5 (P derecho).



**Figura 2.6:** Imagen de reactor.

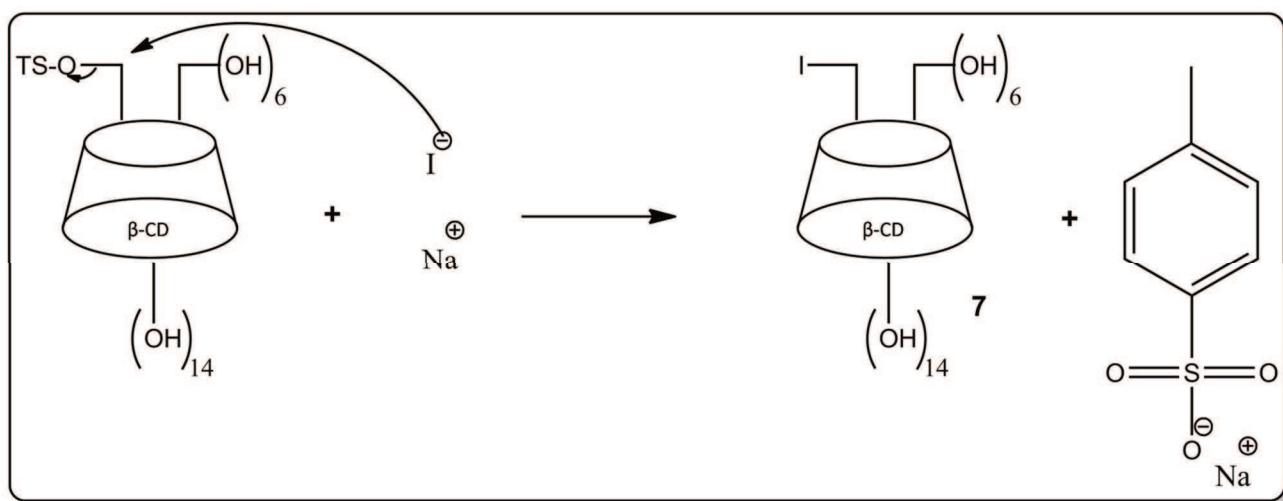
### 3. Obtención del Mono-6-Iodo-6-deoxi- $\beta$ -CD (7)<sup>3</sup>

En la tercera reacción, introducimos el grupo yoduro en la  $\beta$ -CD vía una reacción  $SN_2$ . Este paso es fundamental en la obtención del material iónico basado en CD modificada, ya que aquí es donde se selecciona el contraión. La introducción del yoduro es una reacción  $SN_2$ , donde el yoduro es un nucleófilo excepcional y ataca el carbono alfa unido al oxígeno del tosilato, lo que desplaza el

---

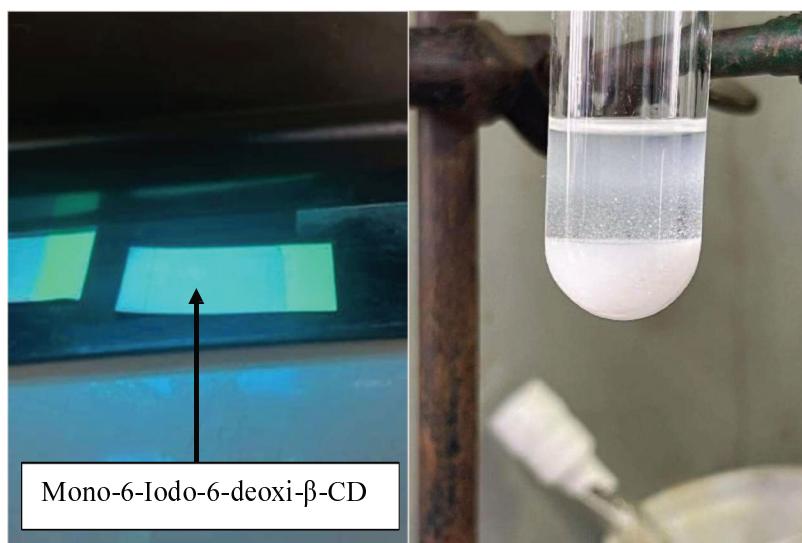
<sup>3</sup> Mahlambi, M. M., Malefetse, T. J., Mamba, B. B., & Krause, R. W. (2009).  $\beta$ -Cyclodextrin-ionic liquid polyurethanes for the removal of organic pollutants and heavy metals from water: synthesis and characterization. *Journal of Polymer Research*, 17(4), 589–600.

tosilato y el yoduro se une al carbono. El mecanismo de reacción propuesto de este proceso se puede ver en la **Figura 2.7**.



**Figura 2.7:** Mecanismo de reacción propuesto para la yodación del mono-tosil  $\beta$ -CD.

Para llevar a cabo esta etapa, se disolvió la 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD **5** (0,6014 g) con dimetilformamida (DMF) (10 mL, Cicarelli 99,8%) en un matraz de fondo redondo de dos bocas equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera de nitrógeno. Una vez que el reactivo se disolvió por completo, se añadió NaI **6** (0,6884 g, 10 equivalentes molares, Cicarelli 99%) a la solución. La reacción se calentó a 90°C y se agitó vigorosamente durante 48 horas hasta que se consumió completamente la 6-Mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y para detener la reacción y se agregó acetato de etilo para precipitar el producto **7** (10 mL). A continuación, el producto se lavó con acetato de etilo tres veces (3 mL c/u). Después de los lavados aún quedaba NaI sin reaccionar, por lo que el precipitado se disolvió en agua destilada (3 mL) y se precipitó con una mezcla de acetato de etilo y acetona 50:50 (3 mL). Finalmente, el producto se lavó tres veces con la mezcla 50:50 (3 mL). El producto obtenido fue un sólido blanco con un matiz amarillo, alcanzando un rendimiento del 30% (**Figura 2.8**). Es importante destacar que el producto se puede observar directamente en el UV (**Figura 2.8**) no requiere tratamiento de ácido sulfúrico para revelar.

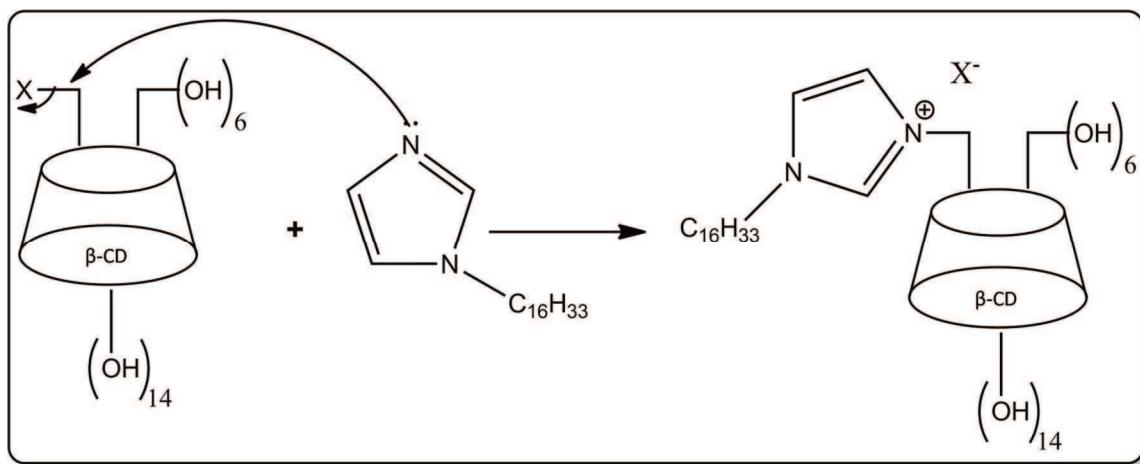


**Figura 2.8:** Izquierda: Placa TLC ilustrando presencia de Mono-6-Iodo-6-deoxi- $\beta$ -CD

Derecha: Producto precipitado en acetato de etilo y acetona (50:50)

#### 4. Obtención de [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[I^-]$ (9) o [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[Tos^-]^2$ (10)

En la reacción final para obtener los materiales iónicos, las [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[I^-]$  y [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[Tos^-]$  consisten nuevamente en una  $SN_2$ , por lo que se utiliza DMF para favorecerla, dado que ambos reactivos son altamente solubles en este medio. Los pares solitarios del nitrógeno atacan el carbono alfa, desplazando el grupo saliente (en este caso, el anión) y generando el catión imidazolio. El mecanismo genérico de reacción se muestra en la **Figura 2.9**.

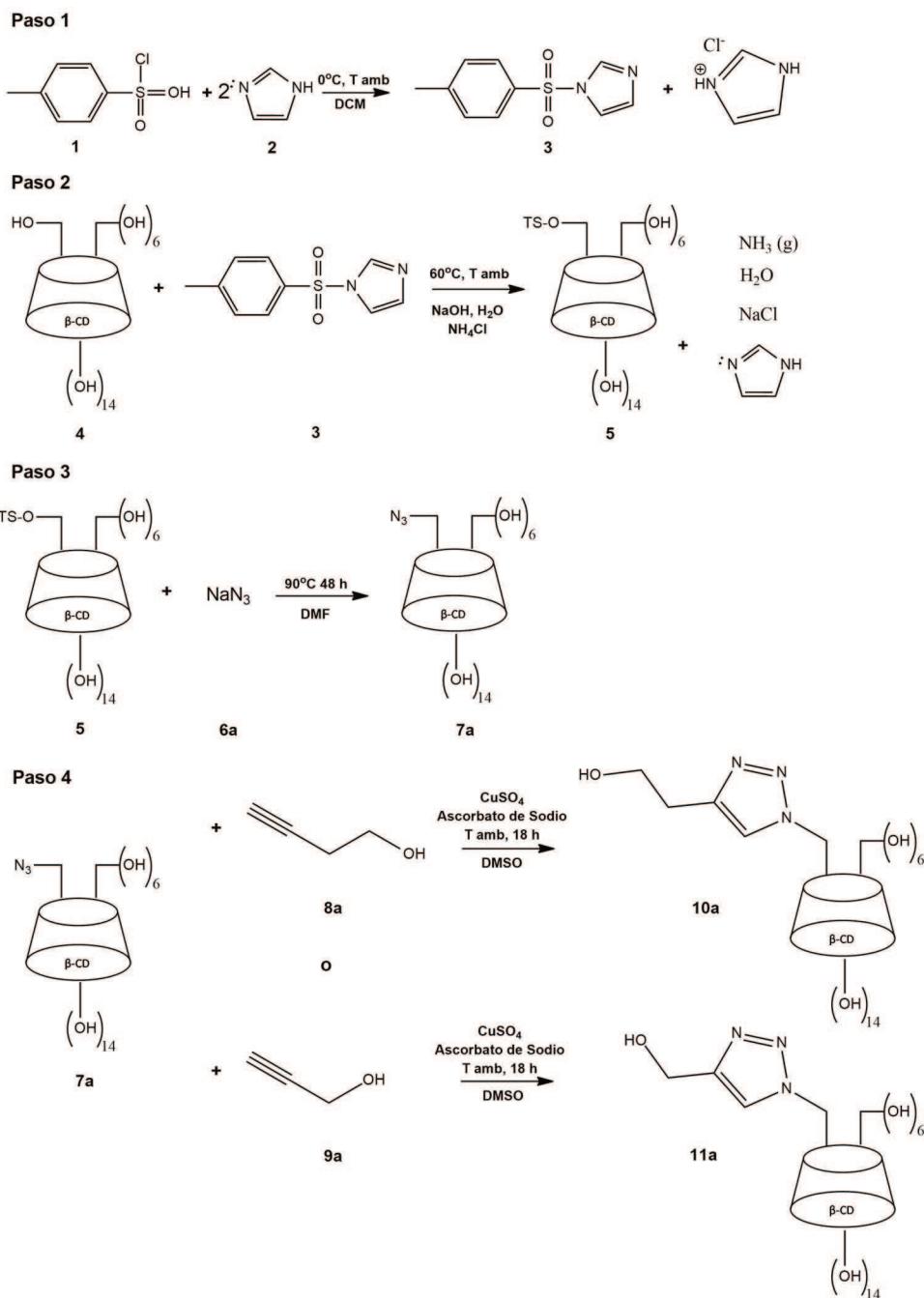


**Figura 2.9:** Mecanismo de reacción propuesto genérico para la síntesis de  $\beta$ -CD iónica modificada.

Para desarrollar la parte experimental se disolvió mono-6-yodo-6-desoxi- $\beta$ -CD **7** o 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD **5** (0,2058 g) con DMF (1 mL) en un matraz de fondo redondo de 2 bocas equipado con una barra de agitación magnética y bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente se añadió gota a gota una solución de hexadecylimidazol **8** (0,4682 g, 10 equivalentes molares) disuelta en DMF (4 mL). A continuación, la solución se calentó a 90°C y se hizo reaccionar durante 48 horas. El reactor se enfrió a temperatura ambiente para finalizar la reacción, y luego se añadió acetato de etilo (5 mL) para precipitar el producto. El producto final **9** se lavó tres veces con acetato de etilo (3 mL) en ultrasonido. El producto obtenido fue un polvo blanco con un rendimiento del 15 %. El bajo rendimiento de estas reacciones podría explicarse por el hecho de que la larga cadena de carbono del imidazol es muy hidrofóbica y podría alojarse en la cavidad de la  $\beta$ -CD antes de reaccionar, esto se detallará adelante cuando se realiza la caracterización por  $^1\text{H}$ -RMN y modelado computacional.

## Sección 2: Síntesis de $\beta$ -CD Modificada No-Iónica

A continuación, se detalla la síntesis realizada para obtener el producto 1-(6-desoxi- $\beta$ -CD)-4-(2-hidroxietil)-1,2,3-triazol (**Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**) y 1-(6-desoxi- $\beta$ -CD)-4-(hidroximetil)-1,2,3-triazol (**Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH**) los cuales son productos obtenidos *no-iónicos*. Las reacciones 1, 2, y 4 fueron modificadas para lograr minimizar la cantidad de solventes orgánicos utilizados y así generar menos cantidad de desechos tóxicos y/o contaminantes. Las reacciones llevadas a cabo para obtener los productos deseados se pueden ver en el **Esquema 2.2**.

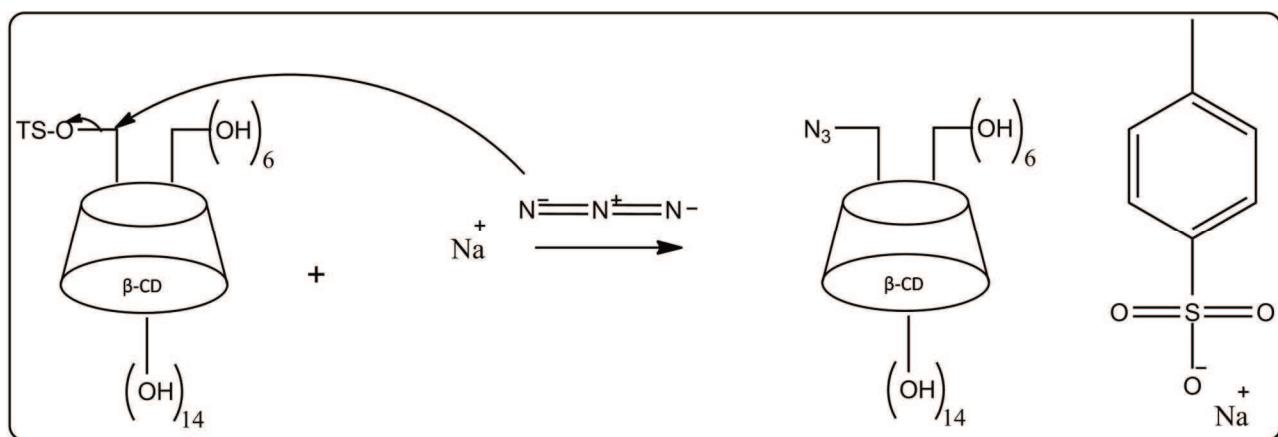


**Esquema 2.2:** Esquema de reacción para obtener **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** y **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH**.

Desarrollo experimental: Para la obtención de los productos *no-iónicos* las primeras dos etapas 1 y 2 fueron detalladas anteriormente para la obtención de 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD (**5**). Consecuentemente, se detallarán a continuación las etapas a partir del paso 3.

### 3. Azidación de 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD (7a)<sup>4</sup>

En la tercera reacción (Paso 3), se realiza otra reacción SN<sub>2</sub>, pero aquí el grupo tosilo se reemplaza por un grupo azida. Este grupo es fundamental para la reacción clic con los alquinos correspondientes. El disolvente elegido fue DMF, un disolvente polar aprótico que disolvió fácilmente la 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD. Sin embargo, la azida sódica no se disolvió por sí sola en este disolvente, por lo que fue necesario introducir cantidades catalíticas de yodo potásico para disolver esta sal mediante el efecto de "ión no común". La temperatura de la reacción no puede superar los 95 °C, ya que la  $\beta$ -CD se descompone y la reacción no es exitosa. El *p*-toluenosulfonato de sodio se elimina como impureza cuando con lavados del agua ya que este compuesto es soluble en agua. El mecanismo de dicha reacción se puede observar en la **Figura 2.10**.

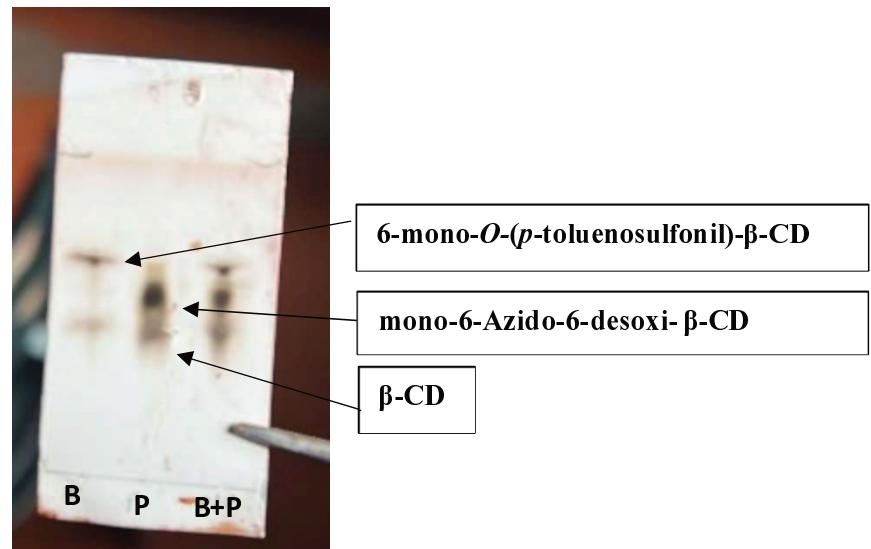


**Figura 2.10:** Mecanismo de reacción propuesto para la monoazidación de  $\beta$ -CD.

En un balón de fondo redondo se disolvieron 2,06 g de 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD **5** y 0,325 g de azida de sodio **6a**, utilizando 0,09 g de yoduro de potasio en 8 mL DMF. La reacción fue agitada por 48 horas a una temperatura de 80°C. La reacción se chequeo por TLC hasta la desaparición del compuesto **5**. Al finalizar la reacción, el crudo de reacción se destilo al vacío para remover el DMF, el residuo se lavó y recristalizo con una mezcla de agua:acetona (1:1) y luego los solventes fueron evaporados. Se obtuvo un sólido blanco como producto soluble en agua **7a**. Con un rendimiento de 80%. La **Figura 2.12** muestra la imagen del reactor y la **Figura 2.11** de la TLC correspondiente al crudo de reacción (sistema de solvente en cuba: 0,5 mL n-butanol, 0,4 mL etanol, 0,2 mL agua destilada)

<sup>4</sup> Sorroza-Martínez, K., González-Méndez, I., Martínez-Serrano, R. D., Solano, J. D., Ruiu, A., Illescas, J., Zhu, X. X., & Rivera, E. (2020). Efficient modification of PAMAM G1 dendrimer surface with  $\beta$ -cyclodextrin units by CuAAC: impact on the water solubility and cytotoxicity. *RSC Advances*, 10(43), 25557–25566.

y sistema de revelado con ácido sulfúrico en etanol y calentamiento, detallado anteriormente.



**Figura 2.11:** TLC correspondiente a material de partida 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD (**B izquierda**) producto final mono-6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -CD (**P centro**) y material de partida **5** y producto final **7a** sembrado juntos (**B+P derecha**)



**Figura 2.12:** Imagen de reactor para la azidación de 6-mono-*O*-(*p*-toluenosulfonil)- $\beta$ -CD.

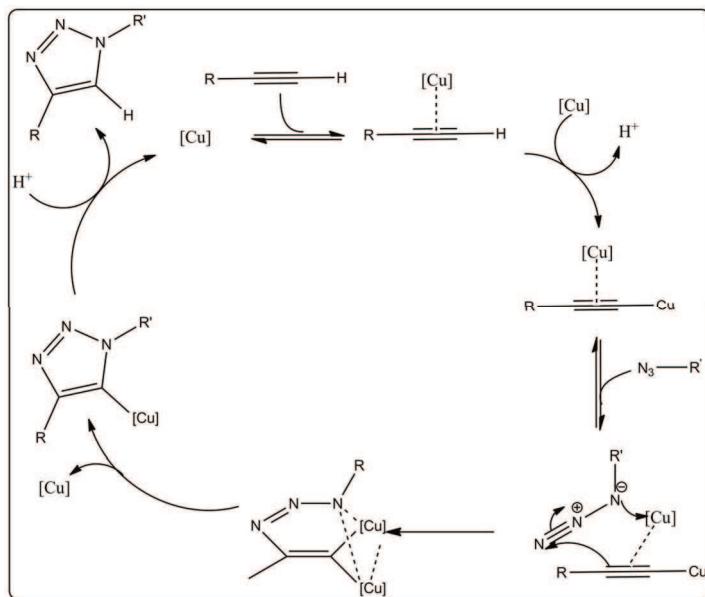
#### 4. Procedimiento para sintetizar Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH o Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH<sup>5</sup>

En la cuarta y última reacción para obtener los compuestos no iónicos, se realiza la reacción click entre la mono-6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -CD y los respectivos alquinos. En nuestro caso, optamos por utilizar alquinos de cadena corta funcionalizados con un alcohol primario para evitar que los sustituyentes de la cadena larga del precursor formen “nudos atómicos” por encapsulamiento de los mismos dentro la cavidad de la  $\beta$ -CD, y consecuentemente disminuya el rendimiento de la reacción. Por lo tanto, los alquinos de cadena corta funcionalizados con alcoholes optimizan su asociación con el agua y aumentaría la solubilidad de la  $\beta$ -CD. La unión de los alquinos con la azida presente en la  $\beta$ -CD se hizo a través de la reacción click, el mecanismo general de la reacción general se puede ver en la **Figura 2.13.**

Cuando estudiamos el mecanismo de reacción para CuAAC observamos primeramente la reducción de sales de Cu (II) a Cu(I) que es la especie activa que entra en el ciclo catalítico esto se puede observar físicamente por un cambio de color de la solución de azul a amarillo. La reducción en esta investigación se llevó a cabo mediante la adición de ascorbato de sodio. Una característica importante de este mecanismo es que dos átomos de cobre están involucrados en el proceso,<sup>6</sup> y luego sigue un proceso paso a paso.<sup>6</sup> (1) El complejo de coordinación azida con dos átomos de cobre produce el primer enlace C-N en un metalociclo de seis miembros, seguido de (2) la formación de un enlace C- N intramolecular que produce el intermedio triazol-Cu(I) y disocia uno de los dos cobres. En el paso final vemos una transferencia de protones que permite la regeneración del complejo alquinil Cu(I) y la liberación del producto 1,4-triazol.

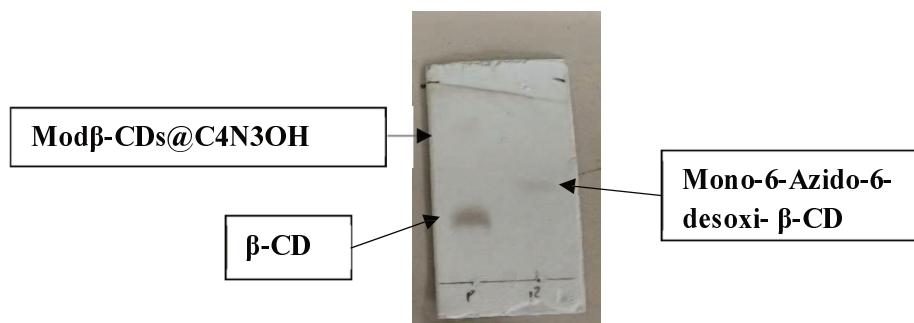
<sup>5</sup> Mourer, M., Hapiot, F., Tilloy, S., Monflier, E., & Menuel, S. (2008). Easily accessible mono- and polytopic B-Cyclodextrin hosts by Click chemistry. *European Journal of Organic Chemistry*, 2008(34), 5723–5730.

<sup>6</sup> Héron, J., & Balcells, D. (2022). Concerted cycloaddition mechanism in the CuAAC reaction catalyzed by 1,8-Naphthyridine dicopper complexes. *ACS Catalysis*, 12(8), 4744–4753.



**Figura 2.13** Mecanismo de reacción genérico para la cicloadición catalizada por cobre (CuAAC)<sup>6</sup>

En la experiencia se disolvieron en un balón de fondo redondo 0,3 g de **7a** en 4 mL de DMSO con 0,044 g de sulfato de cobre pentahidratado y 30  $\mu$ L de 3-butin-1-ol **8a** o 2-propin-1-ol **9a**. Luego se agregaron gota a gota 0,168 g de ascorbato de sodio disueltos en 1 mL de agua a la solución de DMSO. Aquí se observó un cambio de azul/verde a amarillo, lo que indica la reducción de Cu(II) a Cu(I). El tiempo de reacción fue de 18 horas a temperatura ambiente, luego el producto final se precipitó agregando 20 mL de acetona **Figura 2.15**. El mismo se sometió a una TLC para corroborar la ausencia de material de partida **Figura 2.14** (sistema de solvente de cuba: 0,5 mL n-butanol, 0,4 mL etanol, 0,4 mL agua destilada) El sólido obtenido presentó el aspecto de un polvo blanco con tonos azules indicando la remanencia de Cu(II) y resultó ser soluble en agua **10a** o **11a** (ver **Esquema 2.2**). El polvo resultante se sometió a purificación por electroquímica para remover las trazas de cobre. El rendimiento final fue de 45%.



**Figura 2.14:** TLC correspondiente a producto final **9a** (P izquierda) y material de partida **7a** (R derecha).



**Figura 2.15:** Producto final 9 precipitado en acetona.

# **PURIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE COMPUESTOS *NO-IÓNICOS***

## **(3)**

## Sección 1: Introducción

Uno de los inconvenientes que la reacción click del tipo CuAAC presentan es la eliminación del catalizador. Vestigios de sal de Cu(I) / Cu(II) utilizada como catalizador puede acomplejarse en el medio de reacción complicando su eliminación y, por ende, el producto de reacción podría estar contaminado con esta sal.<sup>1</sup> No obstante, es de suma importancia purificar el producto de trazas de cobre si el uso final de la molécula está destinado al consumo humano, como en productos alimenticios o aplicaciones relacionadas con la salud. Esto se debe a que los altos niveles de cobre en el cuerpo humano pueden provocar toxicidad por cobre, que incluye síntomas como la patogénesis de trastornos hepáticos, cambios en trastornos neurodegenerativos, entre otros.<sup>2</sup> Normalmente, los residuos metálicos se pueden eliminar utilizando disolventes orgánicos polares o específicos, agentes quelantes de metales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), éteres corona o diálisis.<sup>3</sup> Sin embargo, estas técnicas de purificación son insuficientes cuando los residuos metálicos (iones Cu(II) en este caso) presentan alta complejación o afinidad con el compuesto de interés, lo que impide el uso de estos métodos.<sup>1</sup> En esta investigación, se empleó una técnica electroquímica simple para purificar el producto sintetizado mediante electrodeposición de Cu. Dado que el Cu(I) / Cu(II) es fácilmente separado por electrodeposición (cronoamperometría) se investigó el uso potencial de la electroquímica para purificar el producto obtenido por reacciones clic (CuAAC). Esta técnica permite la electroreducción del catión metálico cuando se aplica un potencial constante. En esta dirección en primer lugar se aplicó la técnica voltamperométrica (voltametría cíclica, CV) a los reactantes y a todo el sistema reactivo.

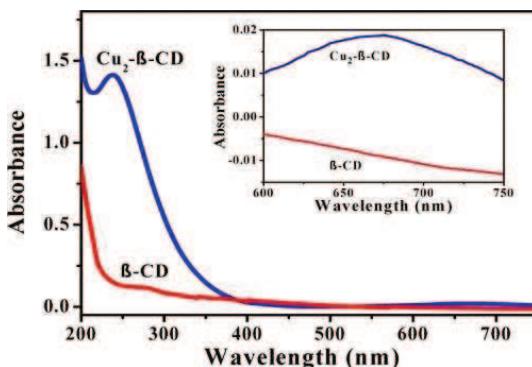
<sup>1</sup> Jasinski, N., Lauer, A., Stals, P. J. M., Behrens, S., Essig, S., Walther, A., Goldmann, A. S., & Barner-Kowollik, C. (2015). Cleaning the Click: A Simple Electrochemical Avenue for Copper Removal from Strongly Coordinating Macromolecules. *ACS Macro Letters*, 4(3), 298–301.

<sup>2</sup> Gaetke, L. M., Chow-Johnson, H. S., & Chow, C. K. (2014). Copper: toxicological relevance and mechanisms. *Archives of Toxicology*, 88(11), 1929–1938.

<sup>3</sup> Usluer, Ö., Abbas, M., Wantz, G., Vignau, L., Hirsch, L., Grana, E., Brochon, C., Cloutet, E., & Hadzioannou, G. (2014). Metal residues in semiconducting polymers: Impact on the performance of organic electronic devices. *ACS Macro Letters*, 3(11), 1134–1138.

## Sección 2: Complejación de Cu con $\beta$ -CD

En la publicación correspondiente a la referencia 4,<sup>4</sup> el complejo  $\beta$ -CD-Cu se sintetizó mediante el método descrito por Matsui et al,<sup>5</sup> donde se agregaron 15 mL de solución de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,04 M a una solución de 10 mL que contenía NaOH 0,5 M y  $\beta$ -CD 0,02 M, y se formó inmediatamente un precipitado azul ( $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ). La solución se agitó a temperatura ambiente (25°C) durante 1 hora y luego se filtró para eliminar el precipitado de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . A este filtrado se le agregaron 200 mL de etanol hasta observar una suspensión de color azul claro y se filtró después de 24 horas de reposo. El sólido azul obtenido ( $\text{Cu}_2\text{-}\beta\text{-CD}$ ) se lavó con etanol y agua desionizada, respectivamente, y luego se secó a temperatura ambiente. Para obtener los espectros UV/Vis se disolvió el sólido  $\text{Cu}_2\text{-}\beta\text{-CD}$  en agua a una concentración de 0,7 mM. En estas condiciones se observan dos picos característicos de Cu(II) a 247 y 674 nm. Este espectro se compara con una solución acuosa de 0,1 mM  $\beta$ -CD (**Figura 3.1<sup>4</sup>**)



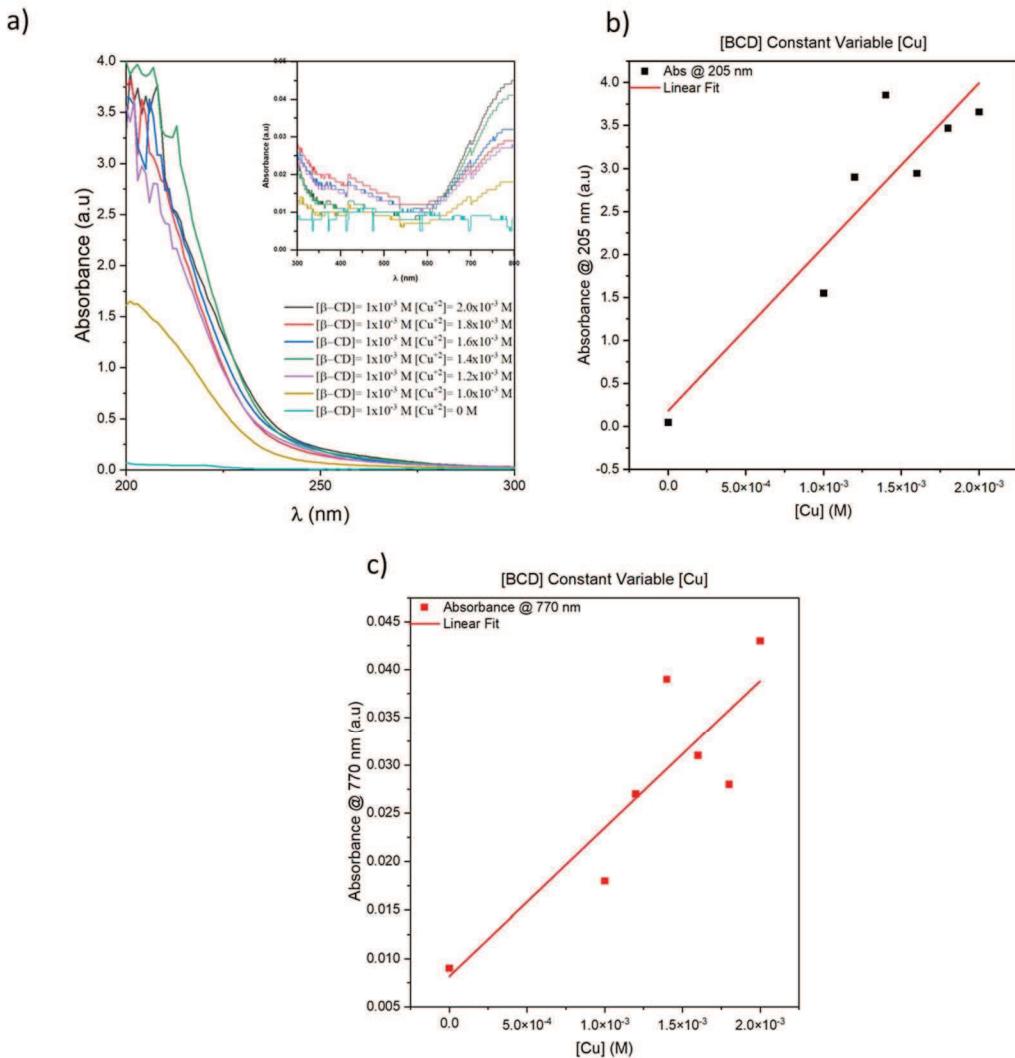
**Figura 3.1:** Espectro UV de la complejación de Cu y  $\beta$ -CD.

En nuestra experiencia se elaboraron dos soluciones madres en agua, una de  $1 \times 10^{-2}$  M  $\beta$ -CD y otra de Cobre, se tomaron alícuotas de estas dos soluciones madre y se obtuvieron los espectros UV- Vis correspondientes en agua. La **Figura 3.2** presenta los espectros UV-Vis realizados a

<sup>4</sup> Tao, Y., Gu, X., Deng, L., Qin, Y., Xue, H., & Kong, Y. (2015). Chiral recognition of D-Tryptophan by confining High-Energy water molecules inside the cavity of Copper-Modified B-Cyclodextrin. *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(15), 8183–8190.

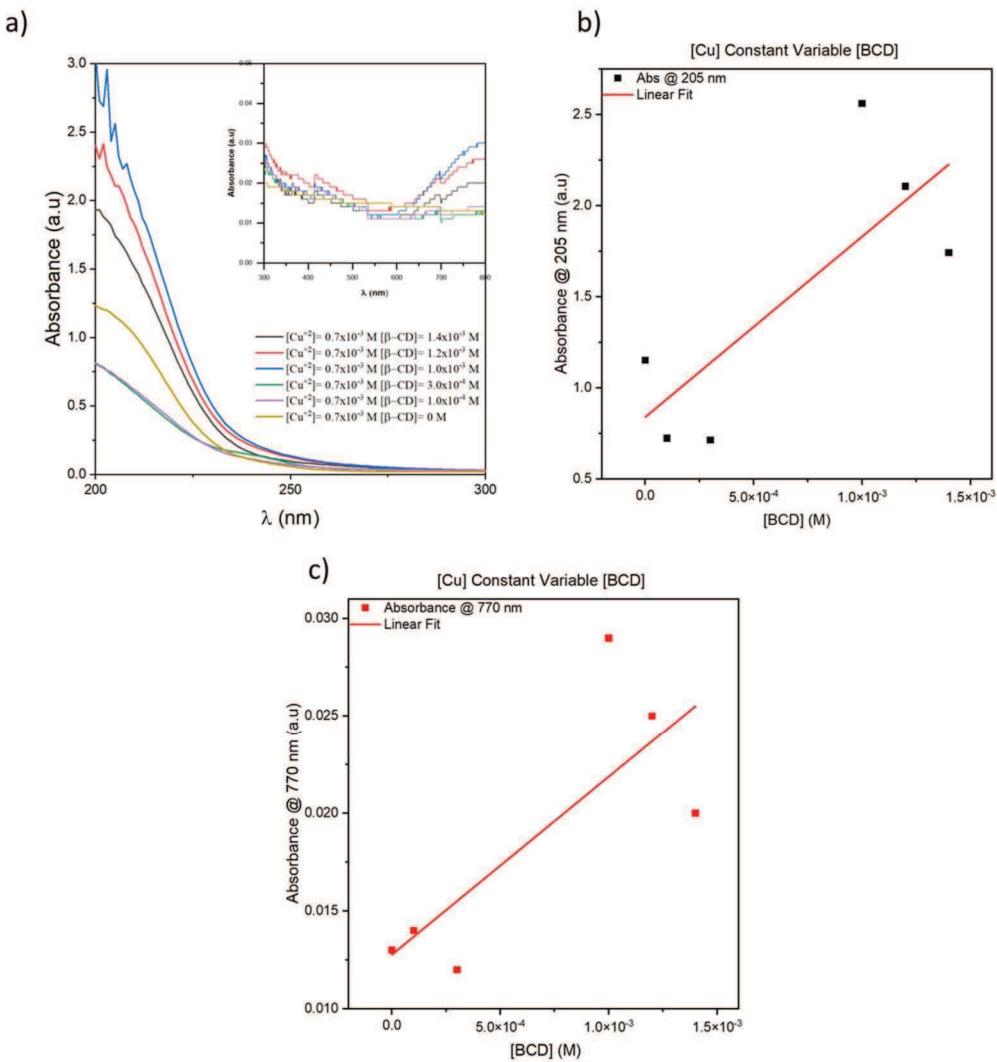
<sup>5</sup> Matsui, Y., Kurita, T., Yagi, M., Okayama, T., Mochida, K., & Date, Y. (1975). The Formation and Structure of Copper(II) Complexes with Cyclodextrins in an Alkaline Solution. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 48(7), 2187–2191.

una concentración de  $\beta$ -CD constante ( $10^{-3}$ M) y variando la concentración de Cu(II) desde  $0-2 \times 10^{-3}$  M. Como se observa en la **Figura 3.2**. aparece un pico a longitudes de onda mayores a 600 nm de baja abs y la zona 200-220 es una zona muy poco sensible por lo que no podemos afirmar la formación de un complejo de inclusión.



**Figura 3.2:** a) Espectros UV-Vis de  $\beta$ -CD en concentración constante con concentraciones variables de cobre b) Gráfica de absorción a 205 nm vs. concentración Cu y c) Gráfica de absorción a 770 nm contra vs. concentración Cu.

La **Figura 3.3**, muestra los espectros UV-Vis correspondiente a la experiencia desarrollada a concentración de Cu(II) constante ( $7 \times 10^{-4}$  M) y concentraciones variables de  $\beta$ -CD ( $0-1.4 \times 10^{-3}$  M)



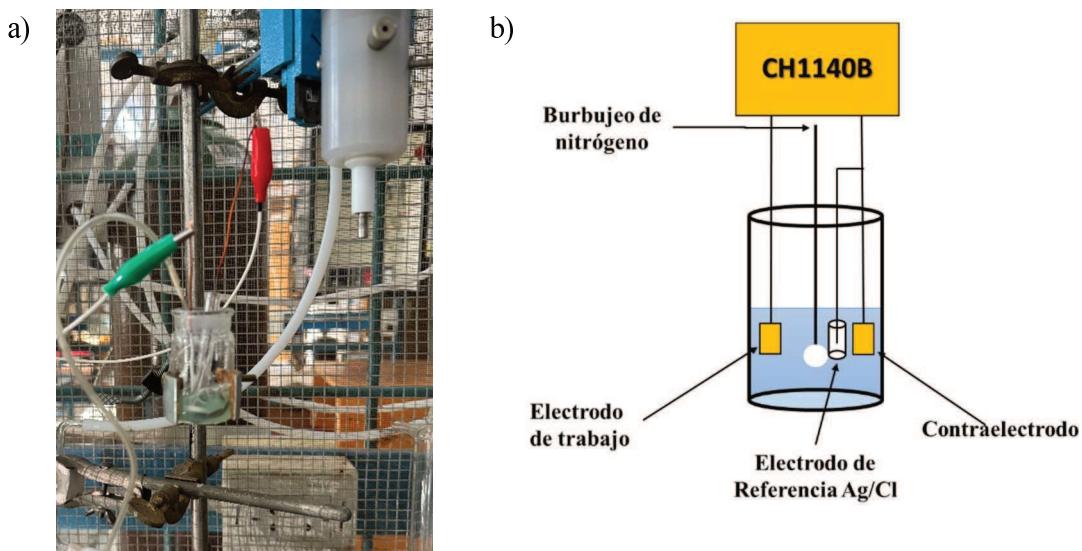
**Figura 3.3:** a) Espectros UV-Vis de cobre en concentración constante con distintas concentraciones de  $\beta$ -CD b) Gráfica de absorción a 205 nm vs. Concentración de  $\beta$ -CD y c) Gráfica de absorción a 770 nm vs. Concentración de  $\beta$ -CD variable.

Se puede observar el Cu(II) absorbe en la zona de 200-220 nm además se nota una mayor separación entre respuestas (es decir es más notable la diferencia entre las concentraciones analizadas). Tener en cuenta que mayores concentraciones  $\beta$ -CD saturan la señal a bajos valores de longitud de onda. En la Figura 3.2b y 3.2c de Abs vs variación de la concentración de  $\beta$ -CD con una concentración de Cu(II) constante se observa en general, un aumento de la respuesta medida con el aumento en la concentración de  $\beta$ -CD. Esto es coincidente con lo observado también en la Figura 3.3b y 3.3c.

Es importante notar que la concentración del reactor a la cual se realizan las reacciones la señal en la zona de 200-220 nm está saturada. Podría suponerse, teniendo en cuenta las concentraciones utilizadas en el reactor y el tiempo de reacción (18 h), que cuando la reacción finaliza posiblemente parte del Cu(II) sin reaccionar este acomplejado con la  $\beta$ -CD y otra parte del Cu(II) se encuentre libre. Por estas razones fueron claves verificar si realmente los precursores que utilizamos en la reacción podrían sostenerse sin degradación o cambios químicos cuando aplicábamos un potencial al sistema.

### **Sección 3: Voltámetro de los reactantes y el sistema reactivo completo.**

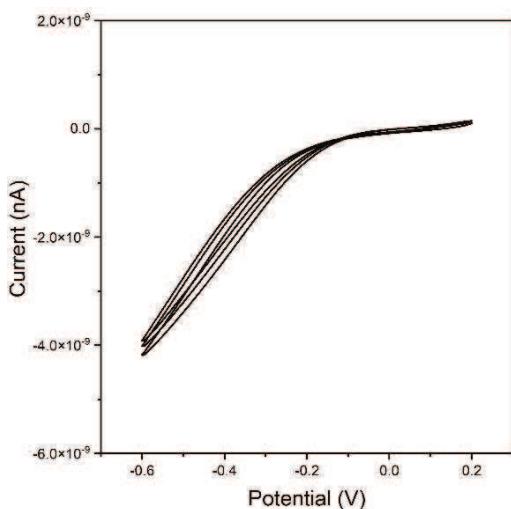
En esta sección, se evaluó el comportamiento electroquímico de las especies presentes cuando se varía el potencial aplicado antes de llevar a cabo la electrodeposición. Ambas técnicas fueron supervisadas por el **Dr. José Fernández**. La **Figura 3.4** muestra la celda utilizada para las experiencias.



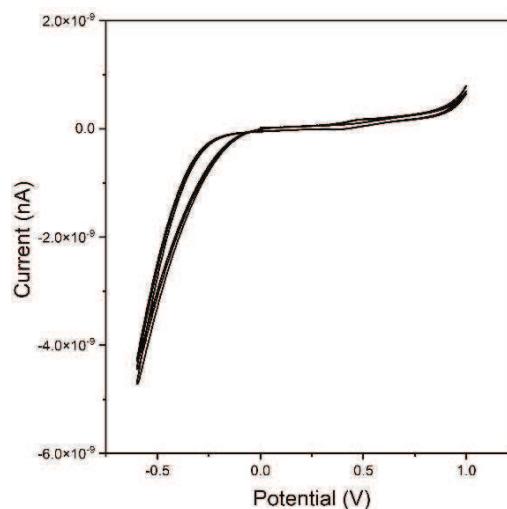
**Figura 3.4.** a) Foto de la celda electroquímica, b) Bosquejo de la celda electroquímica.

En las experiencias se analizó la estabilidad electroquímica de los reactivos individuales en soluciones acuosas mediante voltametría cíclica (CV) en un microelectrodo de disco de oro de 25  $\mu\text{m}$  de diámetro para determinar si se producirían degradaciones o reacciones indeseadas junto con la electroreducción de Cu(II). En estos experimentos se utilizó una celda típica de tres electrodos con un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un contraelectrodo de hilo de oro. Los CVs medidos en soluciones acuosas

de  $\beta$ -CD nativo y de 3-butin-1-ol se muestran en la **Figura 3.5-3.6**. En estos CV no se detectan procesos evidentes que indiquen reacciones de reducción u oxidación de la macromolécula  $\beta$ -CD o en el 3-butin-1-ol. Se puede observar que tanto la  $\beta$ -CD como el alcohol no presentan doble capa electroquímica en el rango de potencial aplicado, lo cual es indicativo de su inactividad, no presentando procesos de transferencia de electrones (oxidación y reducción) a los potenciales electroquímicos aplicados (-0.6-0.2 y -0.5-1.0 V respectivamente). Esto indicaría que una vez finalizada la reacción CuAAC, si alguno de estos reactantes se encontrara como impureza, no interferiría en el proceso de electrodeposición del  $Cu^0$ .

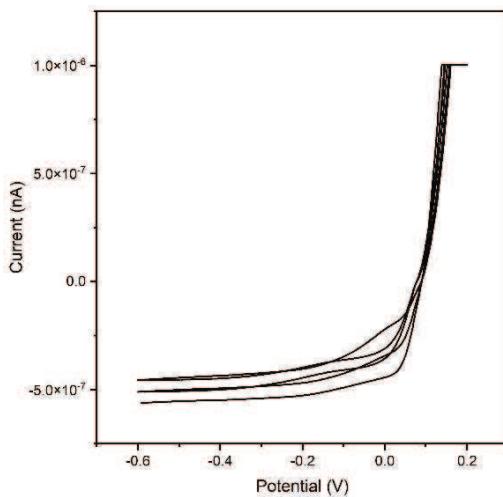


**Figura 3.5:** Voltagrama de  $\beta$ -CD (26 mM) en agua.



**Figura 3.6:** Voltagrama de 3-butin-1-ol (37,5 mM) disuelto en agua.

La **Figura 3.7** muestra el voltágrafo correspondiente a la reducción de Cu(II). Se preparó una solución 22 mM de CuSO<sub>4</sub> (0,044 gr en 8 mL). Los voltágrafos muestran los ciclos correspondientes a potenciales -0.6-0.2 V correspondientes a la reducción de Cu(II), adicionalmente se verificó la electrodeposición de Cu<sup>0</sup> sobre el electrodo (cátodo) utilizando un microscopio óptico metalográfico marca Nikon modelo Optiphot, con objetivos para magnificaciones de 50x, 100x, 200x y 400x (**Figura 3.8**).



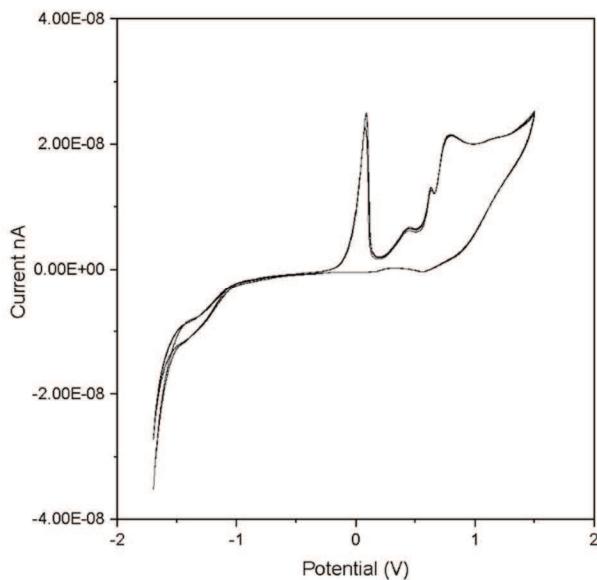
**Figura 3.7:** Voltágrafo de cobre disuelto en agua.



**Figura 3.8.** Imagen de microscopio, cobre (0) electrodepositado sobre microcátodo de oro.

Para completar el análisis se llevó a cabo la CV de todo el sistema de reacción, considerado esto como tiempo cero es decir sin agregado de ascorbato de sodio. La experiencia se diseñó teniendo en cuenta

ol) disuelto en 4 mL de DMSO y 1 mL de agua (M1). La **Figura 3.9** presenta el CV correspondiente para un rango de oxidación de -1.6 V a 1.6 V.



**Figura 3.9:** Voltagramma de Cobre β-CD y 3-butin-1-ol disuelto en DMSO.

Se puede observar la aparición de múltiples picos, unas de las razones podrían ser que el solvente DMSO presente una alta resistividad haciendo que la cinética de los procesos sea más lenta. Adicionalmente estos picos podrían atribuirse a procesos diferentes que sufren las especies en solución en presencia de DMSO. Estos picos pueden causar confusión a la hora de interpretar la técnica electrodeposición.

Finalmente, después del análisis de todos los procesos involucrados concluimos que sería conveniente trabajar con el producto de la reacción CuAAC **Modβ-CDs@C4N3OH** o **Modβ- CDs@C3N3OH** disuelto en agua como solvente. El procedimiento que se siguió es el siguiente: una vez finalizada la reacción se agrega 2 mL de acetona para precipitar el producto por cada mL del crudo de reacción (se dividió el crudo de reacción en 5 tubos para aumentar la eficiencia de la operación, cada tubo se lavó 2 veces con de 2 mL de acetona cada uno) se extrae el sobrenadante con pipeta pasteur obteniendo así **Modβ-CDs** junto con el catalizador de cobre. Esta muestra será designada como M2, la cual fue monitoreada por SEM/EDS para luego comparar los resultados del producto una vez purificado.

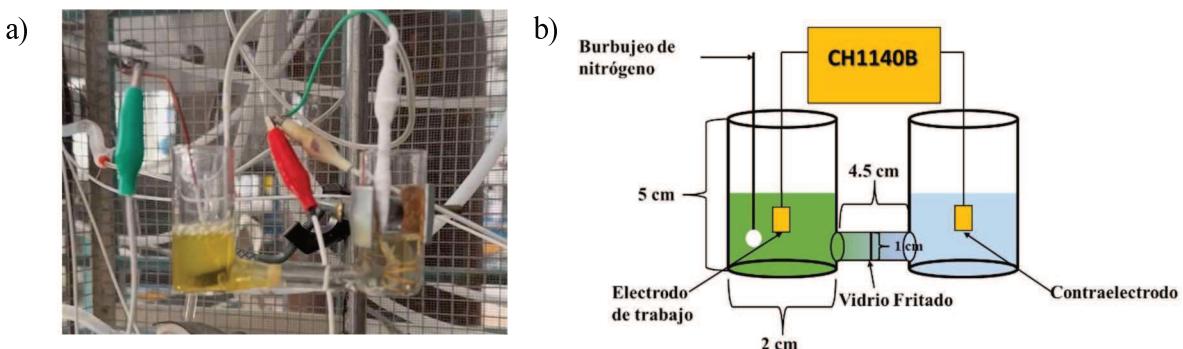
## Sección 4: *Electrodepositión de Cu*

El proceso de electrodeposición de Cu se llevó a cabo aplicando un potencial constante de -10 V. Cabe aclarar que la reacción CuAAC es catalizada por el Cu(I), por lo que la función del ascorbato de sodio es reducir el Cu(II) a Cu(I). Una vez finalizada la reacción se obtiene un sólido impuro de color azul/verde indicativo de la presencia de sulfato de Cu(II) pentahidratado (**Figura 3.10**).



**Figura 3.10.** Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH disuelto en agua.

Para evitar que los procesos de óxido-reducción se interfieran entre sí, y con el afán de obtener una mejor reproducibilidad de los resultados se diseñó una celda utilizando un electrolito soporte con el electrodo de referencia (**Figura 3.11**).



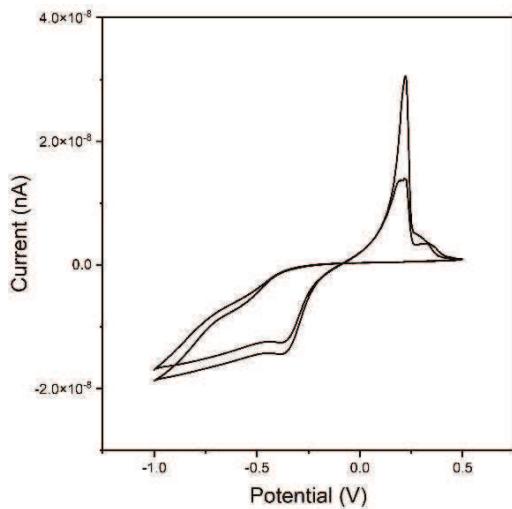
**Figura 3.11.** a) Foto de la celda diseñada para compartimentar el cátodo y ánodo, b) Bosquejo de la celda diseñada

Este dispositivo presenta compartimentos separados para el cátodo y el ánodo, conectados por un tabique con una membrana de vidrio micro-porosa que permita la circulación de corriente e impide de forma inmediata, el paso de especies entre compartimentos. Esto fue necesario para evitar reacciones indeseadas en el ánodo que podrían conducir a la degradación del producto final. Tanto el ánodo como el cátodo eran alambres de oro enrollados (área geométrica del cátodo = 6 cm<sup>2</sup>). La celda se llenó con 10 mL de una solución acuosa que contenía 0,2 g de Mod-β-CD impura (**Modβ- CDs@C4N3OH** o **Modβ-CDs@C3N3OH**) en el compartimento del cátodo, y con agua pura en el compartimento del ánodo. Es importante notar que no se agregó ningún electrolito de soporte a la solución anódica, para evitar mayores contaminaciones de los productos en el cátodo. La solución catódica se agitó permanentemente mediante burbujeo vigoroso de nitrógeno para mejorar el transporte de masa de los reactantes hacia la superficie del electrodo por convección forzada. La ventaja de este tipo de dispositivos es que no interfieren los procesos de oxidación y reducción en la purificación por electrodeposición.

El cátodo se polarizó a -10 V con respecto al ánodo y se dejó reposar durante 8-10 horas. Se requirió un voltaje alto debido a la significativa caída óhmica entre el ánodo y el cátodo, particularmente en el compartimento anódico (que contenía agua pura poco conductora). Bajo estas condiciones, la densidad de corriente fue del orden de 0,5 mA cm<sup>-2</sup>, que es relativamente pequeña. Dicha corriente fue causada principalmente por la electroreducción de agua a hidrógeno a baja velocidad (no se observaron burbujas de gas evolucionadas significando que fue mínimo la producción de hidrógenos). Solo una fracción de esta corriente provino de la electroreducción de Cu(II), que fue visible cuando el cátodo de oro se volvió de un color cobre/marrón brillante. El cátodo se limpió cada hora sumergiéndolo en una solución de piraña (ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno en una proporción de 3:1) durante 1 minuto y enjuagándolo con agua destilada. Durante el proceso de purificación, la solución de Mod-β-CD comenzó a cambiar de verde a incolora. La purificación se detuvo al no observarse más cobre depositado en el cátodo.

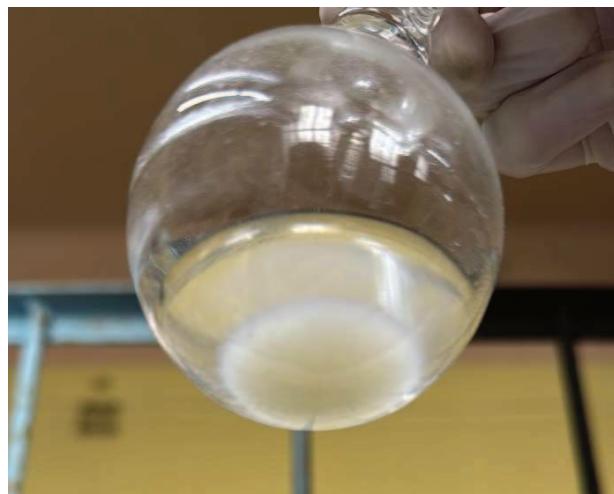
El CV de **Modβ-CDs@C4N3OH** impuro (M2) con trazas de cobre se puede observar en la **Figura 3.12** adquirido en soluciones acuosas, donde la electroreducción de Cu(II) a Cu metálico se evidencia como una corriente limitante catódica y la electrooxidación del Cu depositado se detecta

anódicamente como un pico de decapado de cobre. Esto nos afirmó que efectivamente se puede utilizar la electrodeposición como método de purificación ya que no se degradó el producto final.



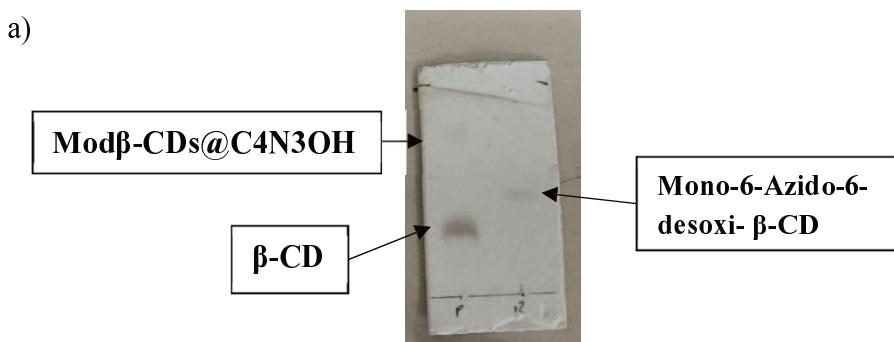
**Figura 3.12:** Voltograma de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH (M2)** impuro con cobre.

La solución purificada se retiró cuidadosamente de la celda, se evaporó en un rotavapor y se precipitó añadiendo 3 mL de acetona. Es importante destacar una diferencia entre ambos productos obtenidos. En el caso de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**, el producto final fue un sólido blanco fácilmente separable por filtración, mientras que en el caso de **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH (Figura 3.13)**, el sólido fue mucho más higroscópico y se hidrató fácilmente con la humedad ambiental por lo que se dificulta su filtración con papel de filtro, consecuentemente se realizó la precipitación nuevamente con acetona.

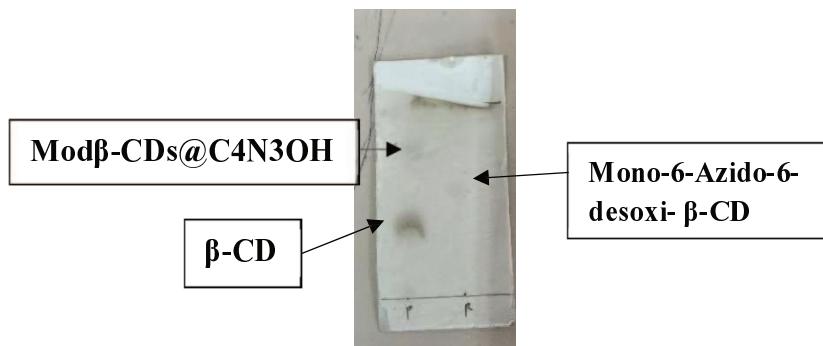


**Figura 3.13.** Imagen de **Mod $\beta$ -CDs@C<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OH** precipitado con acetona.

Una vez finalizada la electrodeposición del Cu<sup>0</sup> en el electrodo y a modo de comprobar que el proceso electroquímico no haya alterado el producto, se realizó un análisis preliminar por cromatografía en capa delgada (TLC). Se corrieron muestras de producto antes y después de aplicado el potencial para la purificación final. Las placas cromatográficas se indican en la **Figura 3.14** y corresponden a: a) **Mod $\beta$ -CDs@C<sub>4</sub>N<sub>3</sub>OH** antes la electropurificación (M2) y b) **Mod $\beta$ - CDs@C<sub>4</sub>N<sub>3</sub>OH** luego de electropurificación. Ambas placas no muestran diferencias considerables, por lo que se trataría del mismo compuesto y en principio no fue afectado por el potencial aplicado (esto será corroborado en la caracterización del sólido en el siguiente capítulo).



b)



**Figura 3.14.** Imágenes correspondientes a las Placas TLC realizadas, a) **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** antes de electropurificación. b) **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** luego de electropurificación.

Para cada TLC, la P corresponde al producto **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** mientras R corresponde a la Mono-6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -CD (reactivo de la etapa previa de síntesis). En las TLC, en el revelado de la siembra del producto P, se observó la aparición de un compuesto con el menor Rf de 0,42 el cual se atribuye a la  $\beta$ -CDs nativa sin reaccionar debido a que en placas anteriores se sembró y tiene un Rf similar. La mancha con el mayor Rf de 0,86 se le atribuye posiblemente al producto, el cual se caracterizará posteriormente. Como se observa no hay presencia del reactivo “R” (Mono-6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -CD de la etapa previa de síntesis) con Rf de 0,55 en la siembra de P, indicando que la reacción transcurrió exitosamente.

En el siguiente capítulo se describirá en detalle el análisis elemental realizado para verificar la cantidad de cobre eliminado utilizando rayos X de energía dispersiva (EDS) y espectroscopía de absorción atómica de llama (FAAS). Además, se va encarar la caracterización de los cuatro compuestos sintetizados.

# **CARACTERIZACIÓN (4)**

## Sección 1: Introducción

La caracterización y confirmación de los productos sintetizados son esenciales en la síntesis orgánica. Como se vio en el capítulo 2, para obtener los productos finales fue necesaria una serie de reacciones y purificaciones. No es sorprendente que en cada paso exista la posibilidad de que la cromatografía en capa delgada no detecte las impurezas traza presentes en la muestra, por lo que es necesario el uso de instrumentación para determinar con precisión si lo sintetizado es realmente lo deseado y el grado de pureza. Como se describió en la introducción, las  $\beta$ -CD pueden formar compuestos supramoleculares, por lo que la presencia de impurezas, ya sean residuos metálicos o compuestos orgánicos, puede afectar considerablemente sus propiedades fisicoquímicas. La caracterización y confirmación de los productos *no-iónicos* **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** y **Mod $\beta$ - CDs@C3N3OH** se llevó a cabo utilizando diversas técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear (RMN)  $^1\text{H}$ , espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), y punto de fusión. Así como la caracterización física del compuesto mediante pruebas de solubilidad en diversos solventes, determinación de la concentración de agregación crítica (CAC) y constantes de agregación mediante sondas moleculares (curcumina en nuestro caso). La información se utilizó en conjunto para caracterizar y comprender completamente el comportamiento de estos compuestos, ya que se observaron cambios físicos previsible no solo en el producto sólido sino también en su comportamiento en soluciones acuosas.

Particularmente, para los productos *iónicos* **[Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[\text{I}^-]$**  y **[Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[\text{Tos}^-]$**  solamente fue posible la caracterización por  $^1\text{H}$ -RMN, debido a la baja solubilidad en varios solventes orgánicos como resultado de la funcionalización con la cadena carbonada larga. Estos productos iónicos no mostraron los resultados esperados, dieron bajos rendimientos de reacción y la organización de estas moléculas en solución acuosa no provocó un aumento en la solubilidad en agua como buscábamos.

## Sección 2: *Instrumentación*

Los espectros de RMN se adquirieron con un Brucker de 300 MHz, los espectros de FT-IR con un espectrofotómetro Shimadzu IR Tracer y los espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) con un espectrofotómetro UV-1800 UV/Visible Shimadzu. Los experimentos electroquímicos se realizaron con un potenciómetro CH Instruments CH1140B. Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) se adquirieron con un microscopio PhenomWorld modelo PROX a 15 kV, equipado con un detector de electrones retrodispersados y un espectrofotómetro de rayos X de energía dispersiva (EDS) para el análisis elemental cualitativo y semicuantitativo. Los datos de dispersión dinámica de luz (DLS) se adquirieron con Malvern ZETASIZER NANO ZS. Los espectros de espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS) se adquirieron con un Perkin Elmer Analyst 200. Las imágenes de microscopía de fuerza atómica se adquirieron con un microscopio de sonda de barrido Agilent Modelo 5400. Finalmente, las determinaciones del punto de fusión se realizaron con un instrumento Electrothermal Modelo 9100.

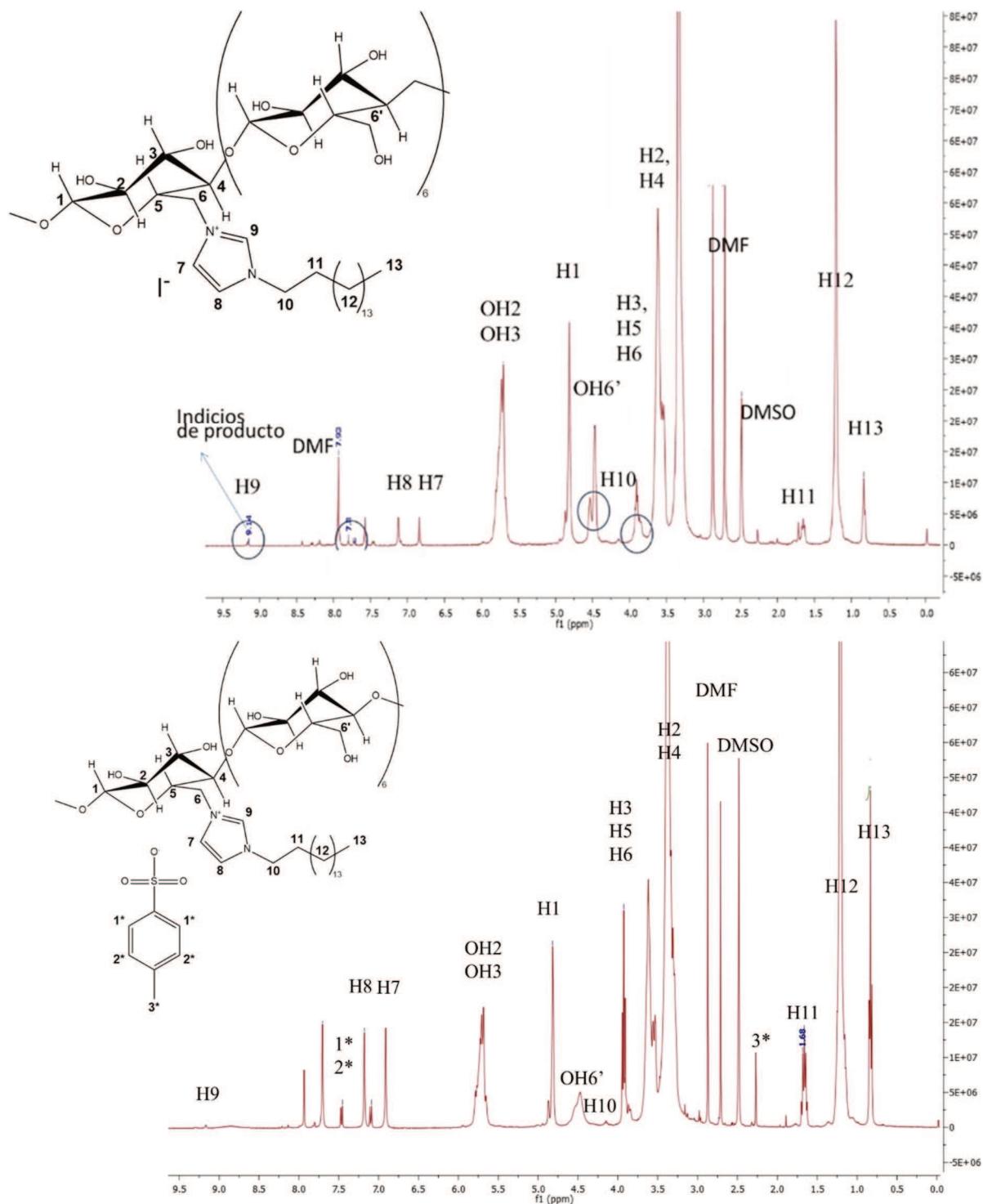
## Sección 3: *Caracterización de compuestos iónicos*

Para comenzar se realiza el análisis del espectro  $^1\text{H}$ -RMN obtenido en un Brucker 300 Ultrashield RMN ubicado en el Parque Tecnológico del Litoral CONICET los cuales se pueden ver en la **Figura 4.1a** y **4.1b** respectivamente. Los desplazamientos químicos de cada hidrógeno e hidroxilo se pueden ver en la **Tabla 4.1**, además se encuentran 1\*, 2\* y 3\* lo cual corresponden a los hidrógenos del grupo tosilo. Estos desplazamientos se compararon con análisis de RMN previos realizados en el grupo, así como con valores teóricos modelados en Chemdraw Ultra y de desplazamientos químicos de referencia de compuestos orgánicos.<sup>1,2</sup>

---

<sup>1</sup>Onaindia, M. (2024). Caracterización de nuevos surfactantes iónicos sobre la base estructural del catión 1-alquilimidazolio. Análisis de su comportamiento sobre principios activos de interés farmacológico [Phd Dissertation]. Facultad de Ingeniería Química – UNL.

<sup>2</sup>Field, L. D., Li, H. L., & Magill, A. M. (2015). Organic Structures from 2D NMR Spectra. John Wiley & Sons.



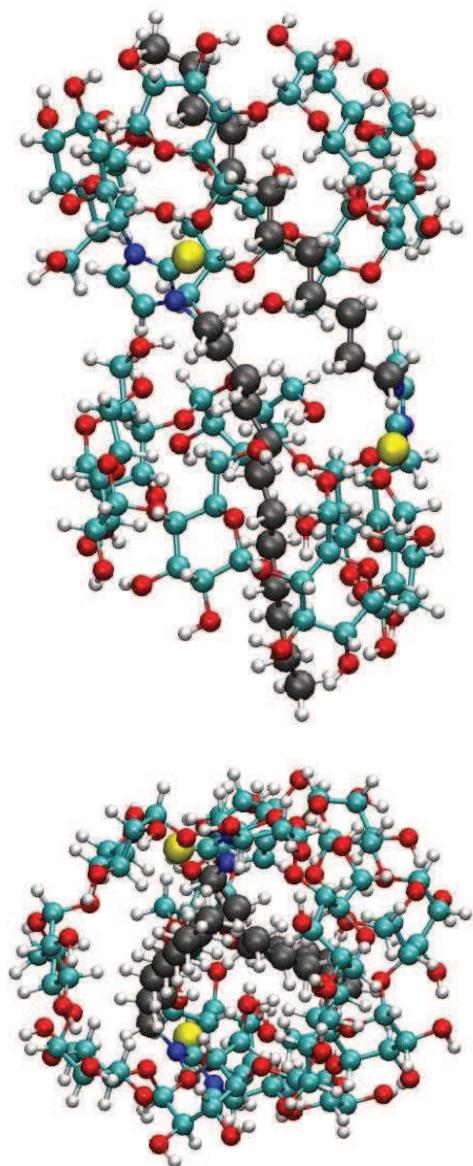
**Figura 4.1:** Espectros obtenidos de RMN para a)  $[\text{Mod-}\beta\text{CDs}@\text{C16HIm}]\text{[I}^-\text{]}$  y b)  $[\text{Mod-}\beta\text{CDs}@\text{C16HIm}]\text{[Tos}^-\text{]}$  en  $\text{DMSO}-d_6$

**Tabla 4.1:** Señales de  $^1\text{H}$ -RMN obtenidos para a) [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[\text{I}^-]$  y b) [Mod- $\beta$ CDs@C16HIm] $[\text{Tos}^-]$

Nombre a)	Desplazamiento $\delta$ (ppm)	Nombre b)	Desplazamiento $\delta$ (ppm)
<b>H1</b>	4.81	<b>H1</b>	4.81
<b>H2</b>	3.57	<b>H2</b>	3.57
<b>H3</b>	3.57	<b>H3</b>	3.57
<b>H4</b>	3.57	<b>H4</b>	3.57
<b>H5</b>	3.57	<b>H5</b>	3.57
<b>H6</b>	3.57	<b>H6</b>	3.57
<b>OH-2,3</b>	5.70	<b>OH-2,3</b>	5.70
<b>OH6'</b>	4.49	<b>OH6'</b>	4.49
<b>H7</b>	7.82	<b>H7</b>	7.82
<b>H8</b>	7.82	<b>H8</b>	7.82
<b>H9</b>	9.14	<b>H9</b>	9.14
<b>H10</b>	4.15	<b>H10</b>	4.15
<b>H11</b>	1.68	<b>H11</b>	1.68
<b>H12</b>	1.24	<b>H12</b>	1.24
<b>H13</b>	0.86	<b>H13</b>	0.86
		<b>1*</b>	7.07
		<b>2*</b>	7.07
		<b>3*</b>	0.86

La falta de reactividad entre el imidazol funcionalizado y las respectivas Mod $\beta$ -CD funcionalizadas puede deberse a dos razones principales observadas a través de modelado molecular computacional.

La primera es que, la larga cadena alquílica no polar puede insertarse dentro de la cavidad de la CD incluso antes de reaccionar. Esto produce un porcentaje de rendimiento de producto bajo y también explicaría por qué podemos ver precursores aún en el espectro de RMN. La segunda razón por la que esta reacción no dio buenos rendimientos es porque una vez se han formado los compuestos iónicos, es posible que la cadena carbonada interactúe con la cavidad de otras Mod $\beta$ -CDs formando lo que llamamos "nudos atómicos". Estas estructuras fueron modeladas computacionalmente por la **Dra. Paola Quaino** y el **Dr. Juan Pablo Sánchez** y se pueden ver en la **Figura 4.2**. En el modelado computacional los productos fueron modelados en solución acuosa, y nos permitió comprender que, aun siendo un compuesto iónico, no se favorece la organización de sistemas en micelas, seguramente porque, en estos casos los compuestos se auto encapsulan, o la cavidad hidrofóbica está tomada por el imidazol funcionalizado. También es importante notar por qué el pico del hidrógeno del imidazolio



**Figura 4.2:** Modelado computacional de producto iónico.

(H9) es difícil de observar en el RMN. Esto podría deberse a que este hidrógeno está oculto en la cavidad hidrofóbica de la  $\beta$ -CD, lo que dificulta su observación mediante RMN. Adicionalmente, este hidrógeno (H9) es menos ácido debido a la presencia de la larga cadena de alcanos, cual es

donante de electrones y haría que el hidrógeno sea mucho más básico por lo tanto que la acidez del hidrógeno H9 no influyería en la observación del mismo en el RMN.<sup>3</sup>

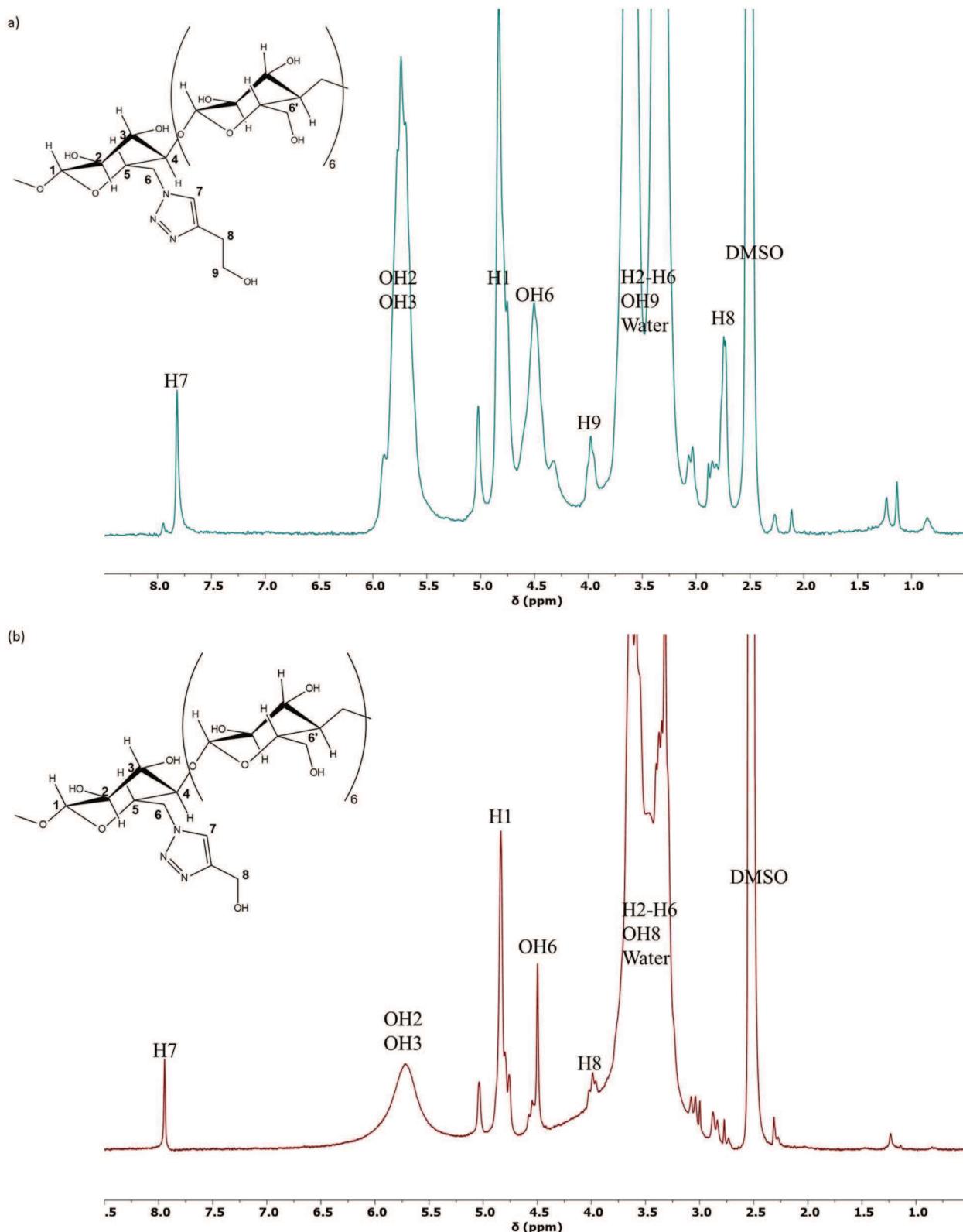
Finalmente, se decidió no seguir trabajando con estos productos debido a su limitada solubilidad en agua. Se probó su solubilidad en diversos disolventes orgánicos como diclorometano, clorofromo, acetona, eter sulfúrico, hexano, metanol, etanol y el único capaz de solubilizar estos compuestos fue el dimetilsulfóxido. Estos dos productos no cumplieron con los criterios que teníamos en mente, por lo que nuestra investigación se centró más en los productos no iónicos, que afortunadamente arrojaron resultados más prometedores.

## Sección 4: *Caracterización de compuestos no-iónicos*

La **Figura 4.3** muestra los espectros de <sup>1</sup>H-RMN experimentales adquiridos de los productos *no-iónicos*. Aquí puede observarse lo siguiente, el protón distintivo del triazol se puede ubicar en  $\delta=7.9$  ppm<sup>4</sup> para **Modβ-CDs@C4N3OH** y  $\delta=8.0$  ppm para **Modβ-CDs@C3N3OH**. Esta pequeña diferencia en el desplazamiento químico se debe a que el protón del triazol está más desprotegido por el alcohol en **Modβ-CDs@C3N3OH**, mientras que el carbono adicional en **Modβ-CDs@C4N3OH** reduce la capacidad de desprotección del alcohol lo que verifica que la reacción clic fue exitosa y que el triazol se formó con el 3-butin-1-ol o el 2-propin-1-ol. Otro pico importante para observar es el que se ubica en  $\delta=4.5$  ppm, este pico está asociado al protón del grupo OH no modificado de la β-CD nativa ( $\text{OH}_6^+$ ). Integrando el pico ubicado en  $\delta=7.9$  y  $\delta=4.81$  ppm se puede calcular el grado de sustitución (DS). El valor calculado de DS para **Modβ-CDs@C4N3OH** fue 0,6 mientras para **Modβ-CDs@C3N3OH** fue 0,8. Estos valores tienen coherencia ya que en esta investigación queríamos obtener un producto mono sustituido, un DS igual a 1 sería una mono sustitución completa mientras los valores inferiores a 1 indicaría la presencia de la β-CD nativa (como observamos en los TLC) En la **Tabla 4.2** se puede observar las asignaciones de cada pico de los espectros adquiridos, estos se compararon con análisis de RMN previos realizados en el grupo, así como con valores teóricos modelados en Chemdraw Ultra y de desplazamientos químicos de referencia de compuestos orgánicos.<sup>1,2</sup>

<sup>3</sup> Das, S., Sinha, S., Roychopatra, G., De, G. C., & Giri, S. (2022). Ligand effect on the stability, reactivity, and acidity of imidazolium systems. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 36(12).

<sup>4</sup> Tungala, K., Adhikary, P., & Krishnamoorthi, S. (2013). Trimerization of β-cyclodextrin through the click reaction. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 295–298.



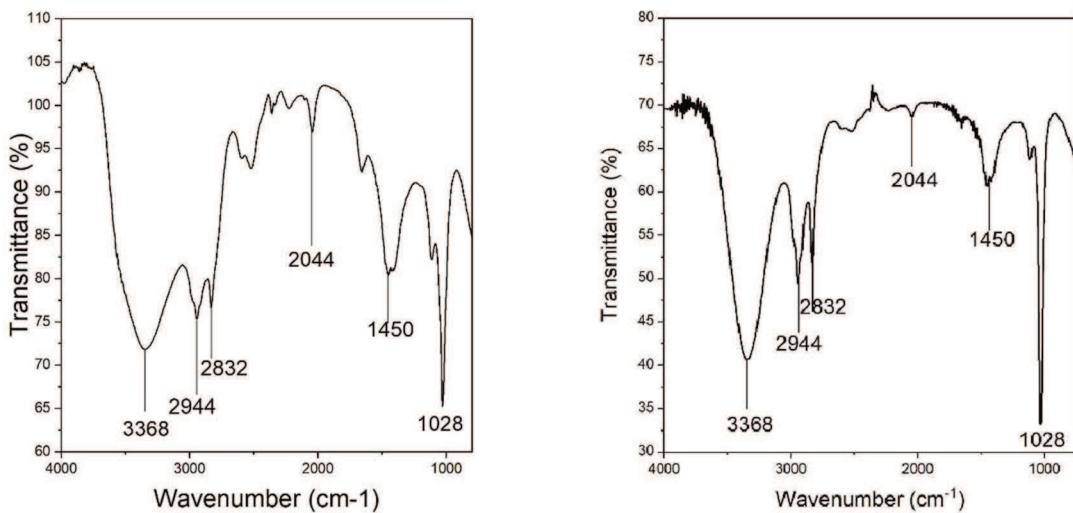
**Figura 4.3:** Espectro experimental  $^1\text{H}$  RMN de a)  $\text{Mod}\beta\text{-CDs}@\text{C4N3OH}$  y b)  $\text{Mod}\beta\text{-CDs}@\text{C3N3OH}$  en  $\text{DMSO}-d_6$

**Tabla 4.2:** Señales de  $^1\text{H}$ -RMN obtenidos para a) Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH y b) Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH

Nombre	Desplazamiento	Nombre	Desplazamiento
a)	$\delta$ (ppm)	b)	$\delta$ (ppm)
<b>H1</b>	4.81	<b>H1</b>	4.81
<b>H2</b>	3.57	<b>H2</b>	3.57
<b>H3</b>	3.57	<b>H3</b>	3.57
<b>H4</b>	3.57	<b>H4</b>	3.57
<b>H5</b>	3.57	<b>H5</b>	3.57
<b>H6</b>	3.57	<b>H6</b>	3.57
<b>OH6'</b>	4.49	<b>OH6'</b>	4.49
<b>OH-2,3</b>	5.70	<b>OH-2,3</b>	5.70
<b>H7</b>	7.82	<b>H7</b>	7.94
<b>H8</b>	2.72	<b>H8</b>	3.97
<b>H9</b>	3.97		

#### 4.1: Caracterización por FT-IR

Los productos fueron caracterizados por FT-IR. Los espectros de dicho análisis se pueden observar en la **Figura 4.4**. Los picos asignados pueden observarse en la **Tabla 4.1**



**Figura 4.4:** Espectro FT-IR de Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH (izquierda) y Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH (derecha)

**Tabla 4.1:** Asignaciones de Pico FT-IR.

Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	Assignment
1028	C-H Stretching
1450	C-O Stretching
2044	N=N-N Stretching
2832	C-H Stretching
2944	C-H Stretching
3368	O-H Stretching

Según la bibliografía consultada,<sup>2</sup> nuevamente el pico distintivo del triazol formado se puede observar en  $2044 \text{ cm}^{-1}$ , el cual se atribuye al estiramiento N=N-N, el resto de los picos pueden estar asociados a las interacciones de las moléculas en la estructura  $\beta$ -CD.<sup>2</sup>

#### 4.2: Determinación de Punto de Fusión

El punto de fusión se determinó utilizando un detector de punto de fusión Electrotérmico Modelo: 9100 y la **Tabla 4.2** resume los resultados obtenidos.

**Tabla 4.2:** Puntos de Fusión de precursores y producto final.

Compuesto	Punto de Fusion
<b>Mod<math>\beta</math>-CDs@C4N3OH</b>	<b>160-170 °C</b>
<b>Mod<math>\beta</math>-CDs@C3N3OH</b>	<b>180-190 °C</b>
$\beta$ -CD	267,5–269,3°C <sup>5</sup>
$\beta$ -CD Mono Tosyl	160-162 °C <sup>6</sup>
$\beta$ -CD Mono Azide	205 °C <sup>7</sup>

Como era de esperar, la temperatura de fusión es mucho menor que la de la molécula de  $\beta$ -CD nativa debido a una asimetría mucho mayor en la estructura molecular de las **Mod $\beta$ -CDs**. Esto, a su vez, altera las fuerzas intramoleculares presentes en el compuesto, especialmente los enlaces de hidrógeno, y reduce el punto de fusión. Esta asimetría del compuesto también se ilustra mediante las estructuras amorfas observadas en las imágenes de SEM (las cuales se presentan más adelante). Al comparar ambos productos, se supone que **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** presenta un punto de fusión más alto que el de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** porque este compuesto es más "simétrico" (al tener un carbono menos) y, por lo tanto, las moléculas se compactan más fácilmente entre sí, lo que aumenta el punto de fusión. El carbono adicional en **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** lo hace más asimétrico, lo que conduce a un empaquetamiento más desfavorable entre sí y reduce el punto de fusión. Además, el rango de 10 °C para ambos productos se puede dar por la presencia de  $\beta$ -CD nativa sin reaccionar lo cual causa el ensanchamiento del rango del punto de fusión.

#### 4.3: Caracterización por SEM/EDS y FAAS

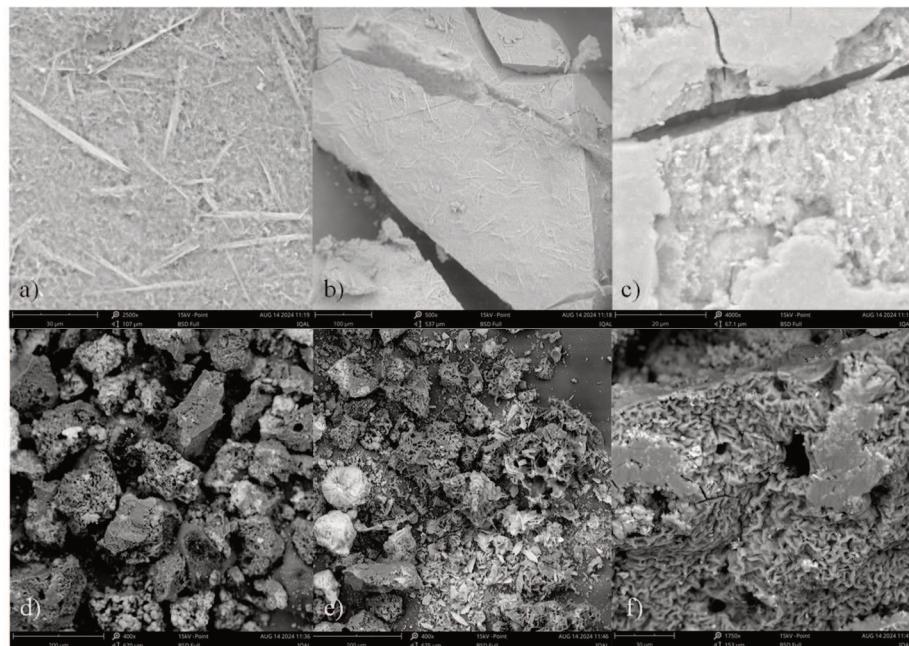
Los **Mod $\beta$ -CDs** (antes (M2) y después de la eliminación del cobre (M3)) se observaron mediante SEM y se analizaron mediante EDS. El material en polvo se dispersó con una espátula sobre una cinta adhesiva de grafito de doble cara adherida a un extremo de la aguja del SEM. Las **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** no purificadas se precipitaron fácilmente con Acetona como un sólido poroso

<sup>5</sup> Thurein, S. M., Lertsuphotvanit, N., & Phaeachamud, T. (2018). Physicochemical properties of  $\beta$ -cyclodextrin solutions and precipitates prepared from injectable vehicles. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(5), 438–449.

<sup>6</sup> Tripodo, G., Wischke, C., Neffe, A. T., & Lendlein, A. (2013). Efficient synthesis of pure monotosylated beta-cyclodextrin and its dimers. *Carbohydrate Research*, 381, 59–63.

<sup>7</sup> Bonnet, V., Duval, R., Tran, V., & Rabiller, C. (2003). Mono-N-glycosidation of  $\beta$ -Cyclodextrin – Synthesis of 6-( $\beta$ -Cyclodextrinylamino)-6- deoxy-D-galactosides and of N-(6-Deoxy- $\beta$ -cyclodextrinyl)galacto-azepane. *European Journal of Organic Chemistry*, 2003(24), 4810–4818.

aglomerado. Las **Figuras 4.5a-c** ilustran micrografías de SEM de electrones retro dispersados, adquiridas antes de realizar la purificación electroquímica de las **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** precipitadas. Considerando que las **Mod $\beta$ -CDs** están compuestas por elementos ligeros, el alto brillo y contraste de estas imágenes es sorprendente, probablemente causado por la presencia de cantidades importantes de cobre, así como de ascorbato de sodio y/o sulfato de sodio residuales. De hecho, estos elementos pueden detectarse claramente mediante EDS, como se muestra en la **Figura S1-a** de la información complementaria anexada. Por otro lado, las **Figuras 4.5d-f** ilustran las micrografías de SEM de las **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** después de la purificación electroquímica.

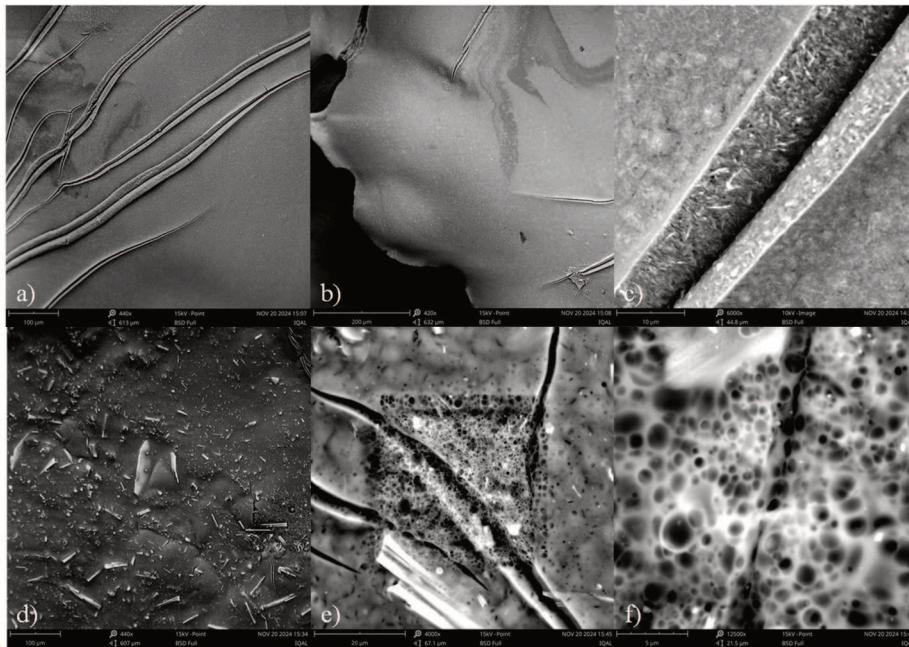


**Figura 4.5: (a-c)** Imágenes SEM de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH impuro**

**(d-f)** Imágenes SEM de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH purificado**

En estas imágenes se observa un aspecto “menos brillante” con respecto a las imágenes de la muestra no purificada, lo que indica una mayor proporción de elementos más ligeros debido a una eliminación eficiente del cobre (como también se verifica en el espectro EDS que se muestra en la **Figura S1-b** de la información complementaria). También se pueden detectar trazas de cristales blancos, probablemente asociados con ascorbato de sodio o sulfato de sodio residuales. Al igual que en la muestra no purificada, este producto se precipitó fácilmente de la solución acuosa con acetona debido a su baja hidrofilia.

Por otro lado, el comportamiento durante el proceso de precipitación con acetona de los **Mod $\beta$ -**



**Figura 4.6: (a-c)** Imágenes SEM de **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH impuro**

**(d-f)** Imágenes SEM de **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH purificado**

**CDs@C3N3OH** no purificados y purificados fue bastante diferente al del **Mod $\beta$ - CDs@C4N3OH**, lo que ilustra una hidrofilicidad mucho mayor. Este comportamiento fue aún más intrigante porque la única diferencia entre estos dos compuestos es un carbono. Sin embargo, este hecho conduce una diferencia importante en sus propiedades física. Además, al observar las imágenes de SEM de los **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** antes y después de la purificación, se observan diferencias notables. Para comenzar, las **Figuras 4.6a-c** ilustran imágenes de SEM de **Mod $\beta$ - CDs@C3N3OH** antes de la purificación electroquímica. Este material formó una película continua sobre el porta muestras, que presentó algunas grietas o cortes, probablemente causados por la contracción de la película debido a la pérdida de agua fuertemente retenida bajo alto vacío. Dentro de estas grietas, se puede ver que la película está compuesta por una aglomeración de partículas. El material mantuvo su integridad bajo el bombardeo de electrones, lo que podría estar asociado con la presencia de cobre. Como se puede ver en los análisis EDS, **Figura S2-a** de la información complementaria anexada, la fracción de cobre detectada osciló entre 20 y 40 % en peso. De manera similar, en las **Figuras 4.6d-f**, después de la purificación, el **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** también formó una película continua con grietas, pero a

diferencia de la muestra no purificada, la película se degradó rápidamente bajo la exposición al haz de electrones, dejando una estructura porosa. La alta sensibilidad a los electrones en esta muestra purificada, en comparación con la no purificada, seguramente se debe al menor contenido de cobre. Esto fue confirmado por el análisis EDS visto en la **Figura. S2-b**, que mostró que no se detectó cobre, lo que indica una concentración por debajo del límite de detección de la técnica (del orden de 0,1 % en peso). Este resultado es muy prometedor ya que demuestra que la purificación electroquímica se puede emplear con éxito para eliminar el cobre restante de los Mod $\beta$ -CD sin degradar el producto.

Para determinar si existía cobre residual en concentraciones inferiores al límite de detección de EDS, el producto purificado se analizó mediante FAAS. Las concentraciones de trazas de cobre resultantes para cada producto se pueden ver en la **Tabla 4.3**, junto con una comparación con los valores publicados de un compuesto diferente purificado mediante un método de electrodeposición similar. Es evidente que el método de purificación electroquímica fue eficaz para ambas **Mod $\beta$ - CD**.

**Table 4.3:** Resultados para la determinación del cobre remanente luego del procedimiento de purificación electroquímica.

	Muestras	Masa inicial de cobre (wt.%)	Concentración (g/L)	Voltaje (V)	Tiempo (h)	Cobre Remanente (wt.%)	Cobre Removido (wt.%)
Valores determinados	<b>Mod<math>\beta</math>-CDs@C4N3OH</b>	0,74	20.0	10	8	0,150	80
Valores determinados	<b>Mod<math>\beta</math>-CDs@C3N3OH</b>	0,74	20.0	10	10	0,090	88
Valores Reportados <sup>8</sup>	P3*A	2,895	9.0	9	5.5	1,726	40,4
Valores Reportados	P3*G7 <sup>a</sup>	2,895	18.1	12	24	0,060	97,9

<sup>a</sup> Esta muestra se seleccionó de la referencia debido a que la concentración estudiada fue muy similar a la estudiada en nuestro caso. El compuesto de referencia es un polímero estrella de metacrilato de metil éter de trietilenglicol (TEGMA) con grupos terminales 2-ureido-4H-pirimidona (UPy). P3\*A y P3\*G denotan diferentes condiciones de purificación electroquímica para el mismo polímero estrella funcionalizado inicial.

<sup>8</sup> Jasinski, N., Lauer, A., Stals, P. J. M., Behrens, S., Essig, S., Walther, A., Goldmann, A. S., & Barner-Kowollik, C. (2015b). Cleaning the Click: A Simple Electrochemical Avenue for Copper Removal from Strongly Coordinating Macromolecules. ACS Macro Letters, 4(3), 298–301.

Una característica importante es que a medida que el tiempo de electro purificación aumentó de 8 a 10 h, hubo un aumento en la pureza del producto deseado, favoreciendo aún más el uso de esta sencilla técnica de purificación para eliminar el cobre no deseado.

#### **4.4: Determinación de Tamaño de Partícula/Agregado por Dispersión dinámica de la luz (DLS)**

Los datos de DLS se adquirieron con un láser de 633 nm. Cada medición consistió en 5 series de 10 segundos de duración. Se prepararon soluciones acuosas de Mod $\beta$ -CD en cubetas de plástico desechables, dejándolas estabilizar durante un tiempo de equilibrio de 60 segundos. Las muestras se analizaron inmediatamente después de ser preparadas y 72 h después de su preparación. Esto se realizó para analizar posibles cambios con el tiempo en los agregados formados. Las concentraciones analizadas fueron  $1 \times 10^{-2}$  M y  $1 \times 10^{-3}$  M disuelto en agua.

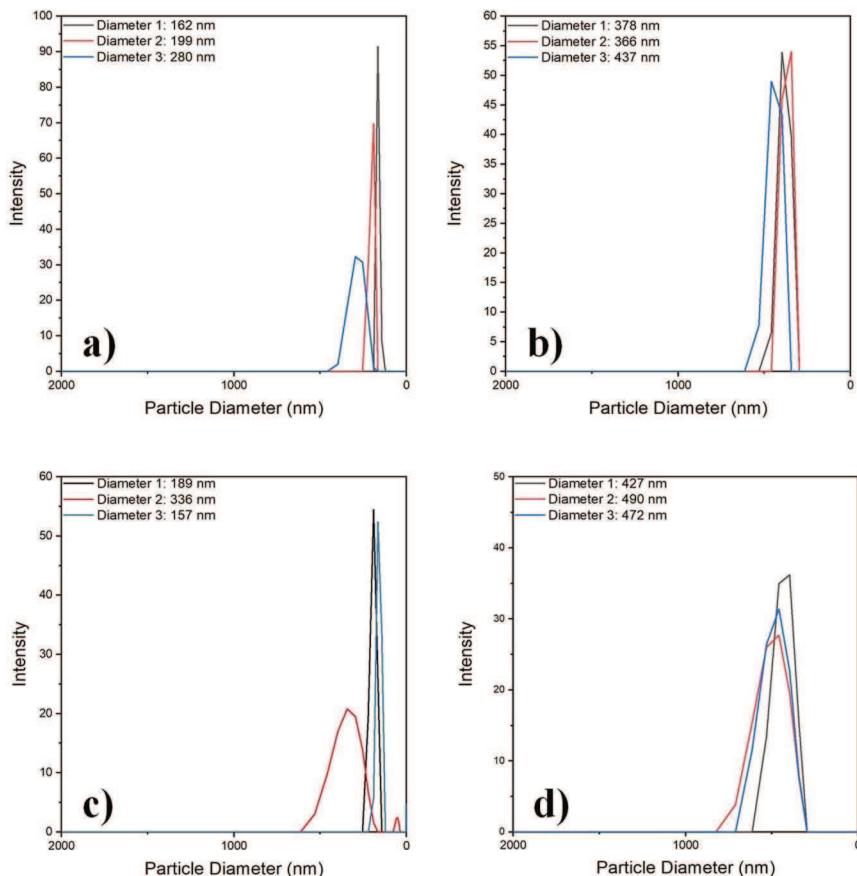
La capacidad de estos dos Mod $\beta$ -CD para formar estructuras autoensambladas en agua a diferentes concentraciones ( $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  M) se analizó primero mediante DLS. Se ha descrito que el tamaño de partícula de los agregados de CD está fuertemente correlacionado con la concentración.<sup>9,10</sup> Varios autores observaron un fenómeno similar para los CD modificados, cuyo tamaño de agregado aumentó al aumentar la concentración.<sup>8</sup> En este trabajo se observa un efecto similar tanto con los **Mod $\beta$ -CD@C4N3OH (Figuras 4.7a-b)** como con los **Mod $\beta$ -CD@C3N3OH (Figuras 4.8a-b)**. Es importante destacar que no todos los  $\beta$ -CD modificados pueden formar agregados. Un ejemplo de ello es el derivado trimetil  $\beta$ -CD, donde la agregación mediante enlaces de hidrógeno no es posible y solo se ha detectado la estructura monomérica.<sup>11</sup> Además, como se puede ver en las **Figuras 4.7c-d y 4.8c-d**, a medida que pasa el tiempo (72 h) se observa un aumento en el tamaño del agregado, aunque no muy significativo, lo que sugiere que este fenómeno es dinámico. Esta débil dependencia del tiempo es importante para un mayor control del tamaño del agregado. Además, un detalle importante es el índice de polidispersidad (PDI) variable observada en todos los casos; estos agregados no son completamente homogéneos, ya que el PDI varió entre 0,3 y 1. Esto debería estudiarse más a fondo si en un futuro estos agregados se utilizan como excipientes.

<sup>9</sup> Thi, T., DO, Van Hooghten, R., & Van Den Mooter, G. (2017b). A study of the aggregation of cyclodextrins: Determination of the critical aggregation concentration, size of aggregates and thermodynamics using isodesmic and K2-K models. *International Journal of Pharmaceutics*, 521(1–2), 318–326.

<sup>10</sup> He, Y., Fu, P., Shen, X., & Gao, H. (2007). Cyclodextrin-based aggregates and characterization by microscopy. *Micron*, 39(5), 495–516.

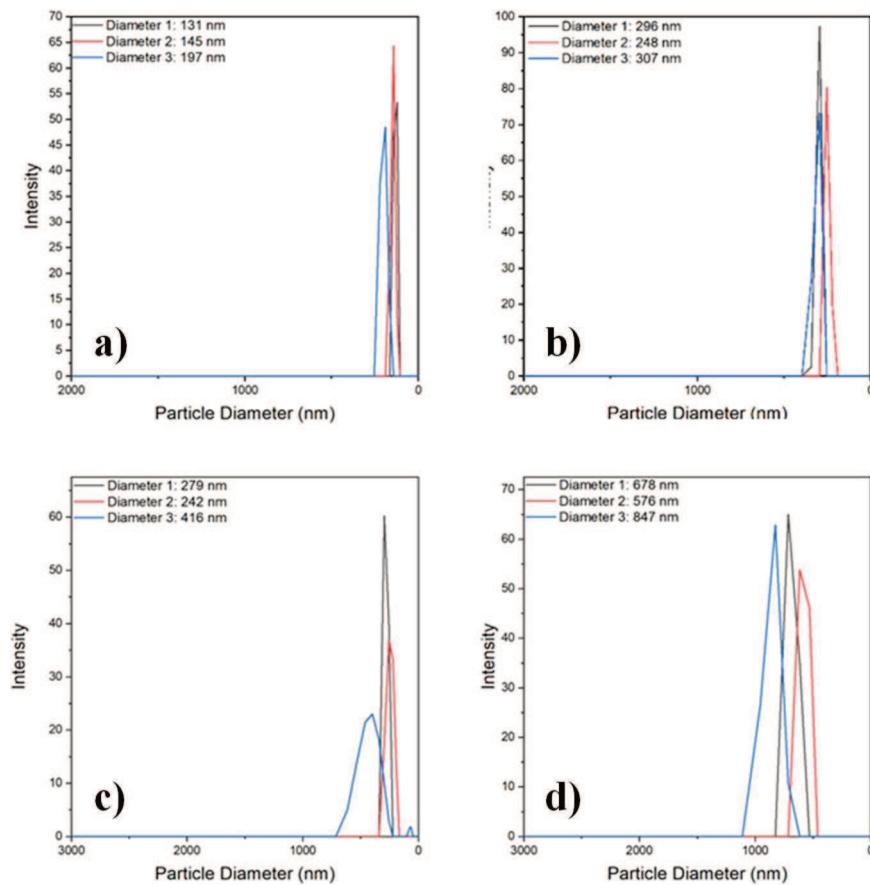
<sup>11</sup> Coleman, A.W., Nicolis, I., 1992. Aggregation of cyclodextrin: an explanation of the abnormal solubility of beta-cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena Molecular Recognition Chemistry*, 13, 139–143.

farmacéuticos, ya que se requiere un contenedor estable y uniforme para aplicaciones medicinales. Sin embargo, el hecho de que formen agregados a concentraciones tan bajas podría ser favorable si pudieran utilizarse para remediar aguas contaminadas o para su uso como micro reactores en solución.<sup>12</sup>



**Figura 4.7:** Gráficas de intensidad vs. Diámetro de partícula en nanómetros (nm) obtenidas por DLS para **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** a)  $1 \times 10^{-3}$  M a 0 h b)  $1 \times 10^{-2}$  M a 0 h c)  $1 \times 10^{-3}$  M a 72 h d)  $1 \times 10^{-2}$  M a 72 h.

<sup>12</sup> Payamifar, S., Abdouss, M., & Marjani, A. P. (2024). Recent advances in  $\beta$ -cyclodextrin-based catalyst systems for the synthesis of heterocyclic compounds via multicomponent reactions (MCRs). *Arabian Journal of Chemistry*, 17(10), 105967.



**Figure 4.8:** Gráficas de intensidad vs. Diámetro de partícula en nanómetros (nm) obtenidas por DLS para **Mod $\beta$ - CDs@C3N3OH** a)  $1 \times 10^{-3}$  M at 0 h b)  $1 \times 10^{-2}$  M at 0 h c)  $1 \times 10^{-3}$  M at 72 h d)  $1 \times 10^{-2}$  M at 72 h.

Los resultados obtenidos de tamaño de partícula para los sistemas acuoso de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** y **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** se detallan en la **Tabla 4.4 y 4.5** respectivamente.

**Tabla 4.4:** Tamaño de partícula para **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**

<b>Mod<math>\beta</math>-CDs@C4N3OH</b>	<b><math>10^{-3}</math> 0 h</b>	<b><math>10^{-3}</math> 72 h</b>	<b><math>10^{-2}</math> 0 h</b>	<b><math>10^{-2}</math> 72 h</b>
Medición 1 (nm)	162	189	376	427
Medición 2 (nm)	199	336	366	490
Medición 3 (nm)	280	157	437	472

**Tabla 4.5:** Tamaño de partícula para **Modβ-CDs@C3N3OH**

<b>Modβ-CDs@C3N3OH</b>	<b>10<sup>-3</sup> 0 h</b>	<b>10<sup>-3</sup> 72 h</b>	<b>10<sup>-2</sup> 0 h</b>	<b>10<sup>-2</sup> 72 h</b>
Medición 1 (nm)	131	279	296	678
Medición 2 (nm)	145	242	248	576
Medición 3 (nm)	197	416	307	847

Cuando estudiamos los tamaños de los agregados formados en solución acuosa tanto para **Modβ-CDs@C4N3OH** como para **Modβ-CDs@C3N3OH** observamos que su tamaño oscila entre 150- 700 nm, en este rango de tamaño no estamos hablando de micelas ya que tienen un tamaño de aproximadamente 10-100 nm.<sup>13</sup> Por lo tanto, los tamaños de estos agregados deben clasificarse como **n nanopartículas**, que varían de 100 a 1000 nm. Este hallazgo también tiene sentido, ya que no existe una cadena larga de alkanos que sea hidrófoba con otro lado cargado o polar que tenga mayor preferencia para interactuar con la solución acuosa, esto se ve principalmente en la formación de micelas en soluciones acuosas. La interacción de las **Modβ-CD** para crear estas nanopartículas probablemente se deba a la capacidad de enlace de hidrógeno presente entre cada molécula. Lo fascinante son las formas esféricas observadas en las imágenes de AFM. Cabría esperar estructuras ramificadas o cadenas largas; sin embargo, estos agregados son esféricos, lo cual fue un hallazgo interesante.

#### 4.4: Análisis AFM de agregados soportados

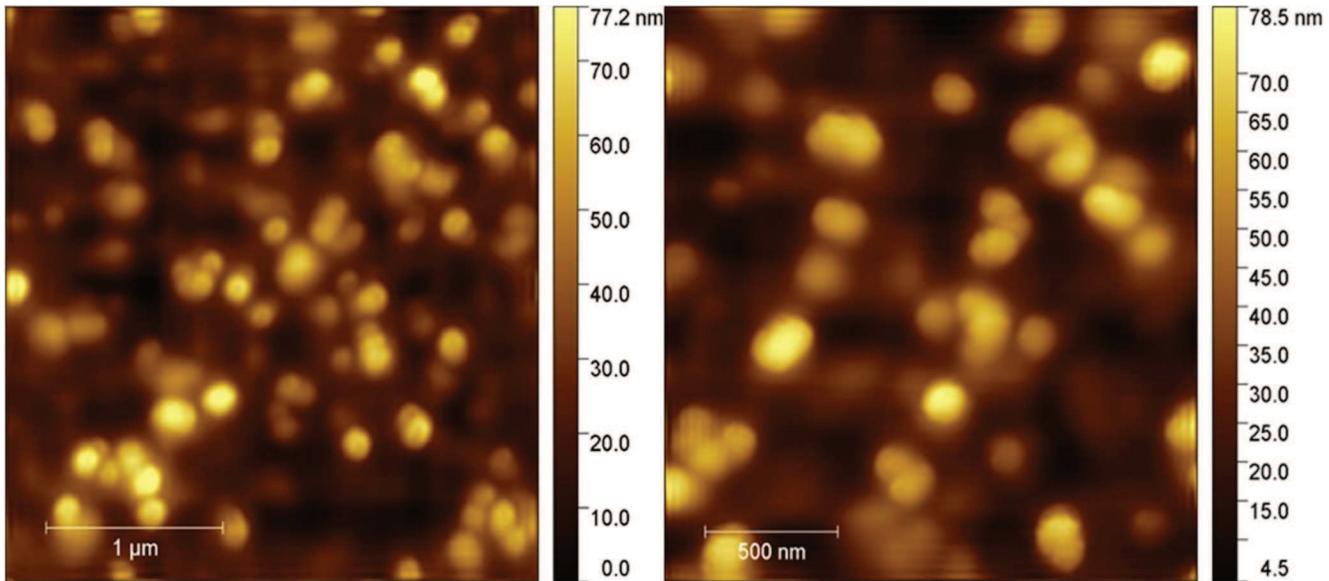
Para complementar la información adquirida a partir de las imágenes obtenidas por DLS, también se llevó a cabo una espectroscopia de fuerza atómica (AFM) para determinar la forma y tamaño del sistema agregado. En este análisis se utilizó un AFM Agilent 5400. Las imágenes AFM se adquirieron en modo Tapping® sin contacto en el aire. La muestra se preparó colocando 10 µL de solución acuosa ( $1 \times 10^{-3}$  M **Modβ-CDs@C4N3OH**) sobre un lecho de mica que previamente se había exfoliado con cinta adhesiva. Luego la muestra se secó en una estufa de vacío para analizar. Es importante tener en cuenta que esta solución se preparó una semana antes del análisis, por lo que la "mejor comparación" sería observar las mediciones de DLS a las 72 horas de preparación.

---

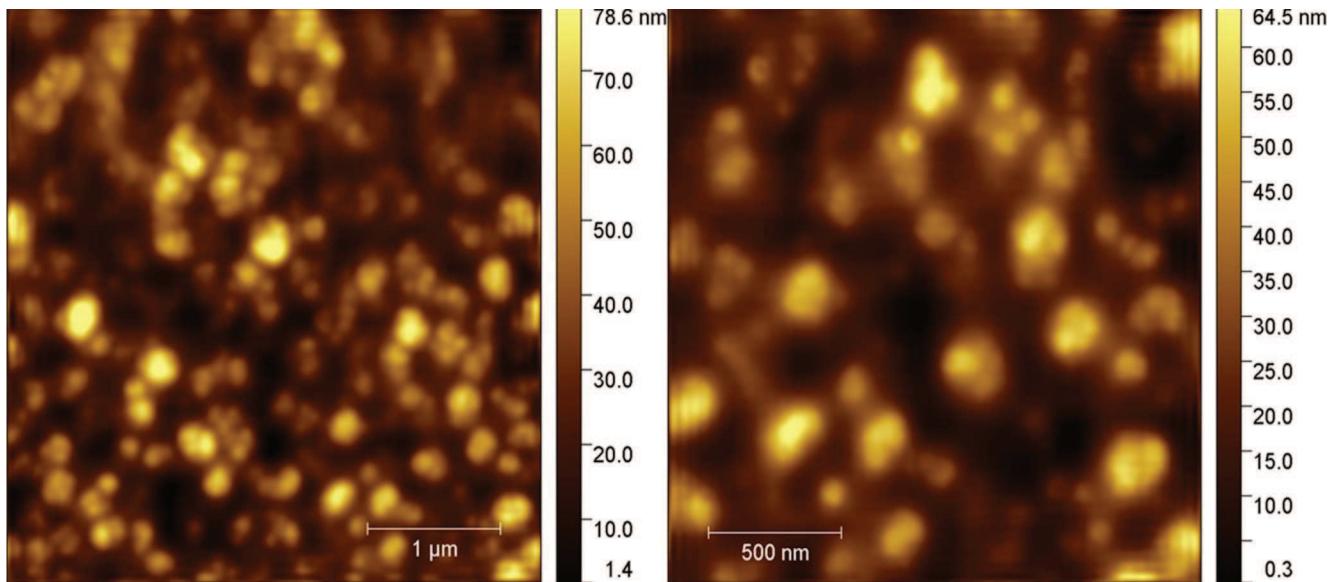
<sup>13</sup> Andronescu, E., & Grumezescu, A. M. (2017). *Nanostructures for drug delivery*. Elsevier.

Con resultados algo sorprendentes, el AFM detectó agregados esféricos, se observaron cómo hileras de esferas formadas por esferas más pequeñas (un tren de esferas unidas como un rosario). Los resultados indicarían que este compuesto presenta capacidades de autoensamblaje sin el uso de sonicación o filtración previa lo que indicaría una ventaja o resultado positivo en cuanto a la practicidad y rapidez en la preparación del sistema. En este sentido, estos sistemas podrían utilizarse para remediación de medios contaminados por su formación espontánea y al resultar agregados de gran tamaño podría encapsular o acomplejar una mayor cantidad de contaminantes. Adicionalmente, estos agregados podrían interactuar con moléculas que no se alojan dentro la cavidad de la CDs. pero si podrían interactuar en el agregado de gran tamaño que se forma. Como se puede ver en la **Figura 4.9** ( $1 \times 10^{-3}$  M **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** a 72 hs), los agregados varían en tamaño entre 150 y 300 nm, que es similar al tamaño detectado en el DLS (**Tabla 4.5**). Las imágenes son de la misma muestra, pero distintas amplificaciones. Como puede observarse en la **Figura 4.9a** se pueden observar varios aglomerados semi esféricas y cuando ampliamos la imagen en la **Figura 4.9b** podemos observar que los agregados están compuestos de esferas más chicas. De 2-3 unidades aproximadamente. Por otra parte, en la **Figura 4.10a** ( $1 \times 10^{-3}$  M **Mod $\beta$ - CDs@C4N3OH** a 72 hs) es posible detectar varios agregados esféricos, que en realidad están compuestos por esferas más pequeñas (50 – 100 nm de diámetro) de aproximadamente 3 unidades (como se aprecia mejor en la imagen ampliada que se muestra en la **Figura 4.10b**). Las diferencias obtenidas en las determinaciones de DLS y AFM podrían deberse a las condiciones en que se encuentra la muestra en el momento de realizar la medición por las distintas técnicas, para las mediciones por DLS la muestra se encuentra en solución acuosa y para AFM se realiza un proceso de secado previo a medir, por lo que el agua retenida se expulsa. Comparando los resultados de

los dos productos, los agregados de **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** parecen ser más esféricos y homogéneos, mientras que para **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** parece haber estructuras más ramificadas. De nuevo es importante reiterar la diferencia notable encontrada por solo un carbono de diferencia en la estructura química. No obstante, esto amplía el uso potencial de la



**Figura 4.9:** Imagenes AFM de **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH**



**Figura 4.10:** Imagenes AFM de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**

encapsulación porque no estamos limitados al tamaño de la cavidad de las  $\beta$ -CD, sino que ahora hay un agregado que es capaz de formar complejos de inclusión de moléculas mucho más grandes,

o inclusive solubilizar el soluto o interaccionar con él en regiones tanto polares como no polares de estos agregados. Como se mencionó anteriormente, es críticamente importante destacar que estos agregados se formaron de manera espontánea, sin la necesidad de utilizar un baño de ultrasonido o extrusión por poros para formar estos agregados esféricos. No es un dato menor porque se podría introducir otro compuesto que podría favorecer la homogeneidad de los agregados y así podría utilizarse como excipientes de farmacéuticos. Para investigar más a fondo estos agregados, como la polaridad, por ejemplo, sería útil utilizar sondas moleculares como Prodan<sup>14</sup> para determinar dónde se sitúa la molécula y si realmente interactúa con los agregados. Este análisis se puede realizar a través de cambios detectados en los espectros UV-Vis de la sonda utilizada, como, por ejemplo, cambios en la longitud de onda del espectro de la sonda con respecto a la variación de polaridad del medio. Sin embargo, sería de gran utilidad utilizar más que una sonda molecular para llegar a conclusiones más profundas y coherentes. Esta información sería útil para comprender mejor el comportamiento fisicoquímico de estos agregados, así como para comprender la ubicación de las moléculas dentro de ellos y, finalmente, para determinar si existen múltiples entornos dentro de ellos, es decir, si existe un núcleo dentro o entre ellos, si hay presencia o ausencia de agua u otro disolvente, etc.

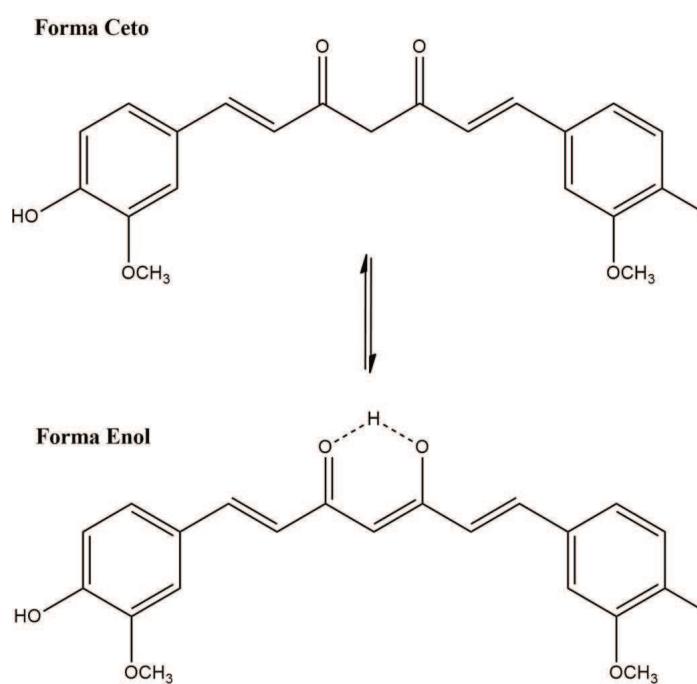
---

<sup>14</sup> Orellano, M. S., Chiappetta, D. A., Silber, J. J., Falcone, R. D., & Correa, N. M. (2021). Monitoring the microenvironment inside polymeric micelles using the fluorescence probe 6-propionyl-2-dimethylaminonaphthalene (PRODAN). *Journal of Molecular Liquids*, 343, 117552.

**APLICACIÓN  
&  
CONCLUSIÓN  
(5)**

## Sección 1: Introducción

Una vez realizada la síntesis y purificación de los compuestos, el enfoque se centró en investigar si las propiedades de estos compuestos modificados presentaban alguna diferencia con la  $\beta$ -CD nativa. Como se mencionó en el Capítulo 1, sabemos que la  $\beta$ -CD presenta una forma toroidal, pero con diámetros superiores e inferiores distintos, con una cavidad hidrofóbica interna que puede encapsular diversas moléculas huésped, compuestos farmacéuticos, e incluso ser una zona donde se producen micro reacciones.<sup>1</sup> Por lo tanto, en este capítulo analizamos los hallazgos obtenidos al realizar experimentos de encapsulación con curcumina (Cur), la misma presenta el nombre IUPAC de (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona. La estructura química de este compuesto se puede ver en la **Figura 5.1**. Además, este compuesto se encuentra en equilibrio ceto-enólico en solución, el cual se puede observar en el espectro de absorción del UV-Vis.<sup>2</sup> La forma enólica se encuentra alrededor de 425 nm mientras que en la forma keto se forma un hombro por 350 nm en solución acuosa.<sup>2</sup> La Cur se deriva de los rizomas de la planta *Curcuma Longa* Linn, la Cur también se ha utilizado con fines medicinales durante siglos.<sup>3</sup> La Cur es un compuesto aromático con dos núcleos bencénicos metoxifenólicos unidos por una cadena



**Figura 5.1:** Estructura química y equilibrio ceto-enol de la Cur.

<sup>1</sup> Payamifar, S., Abdouss, M., & Marjani, A. P. (2024b). Recent advances in  $\beta$ -cyclodextrin-based catalyst systems for the synthesis of heterocyclic compounds via multicomponent reactions (MCRs). *Arabian Journal of Chemistry*, 17(10), 105967.

<sup>2</sup> Kazakova, O., Lipkovska, N., & Barvinchenko, V. (2022). Keto-enol tautomerism of curcumin in the preparation of nanobiocomposites with fumed silica. *Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 277, 121287.

<sup>3</sup> Gupta SC, Kismali G, Aggarwal BB. Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *Biofactors*. 2013;39(1):2-13.

alquílica con dos grupos carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados, es una molécula que presenta absorción en el rango UV-Vis del espectro electromagnético y se seleccionó por su baja solubilidad en soluciones acuosas y por sus efectos beneficiosos al consumirla, como el apoyo en afecciones oxidativas e inflamatorias, síndromes metabólicos y tratamientos contra el cáncer, entre otros.<sup>4,5,6</sup> Sin embargo, estos efectos no se observan tan fácilmente al digerirse por sí sola debido a su baja biodisponibilidad. La incorporación de este compuesto en complejos como los complejos de inclusión puede aumentar la biodisponibilidad debido a su mayor solubilización, lo que se observa en muchos usos de CD modificados en escenarios medicinales y nutricionales.<sup>7,8</sup> La Cur utilizada en este estudio consta de un pool compuesto por 3 muestras adquiridas en comercios de la zona y alrededores de Santa Fe Capital, su preparación y las de las soluciones para este análisis fueron optimizadas en un trabajo previo del grupo presentado en una tesis de grado. El procedimiento experimental se detalla en la siguiente sección.

## **Sección 2: Encapsulación de Cur con compuestos no-iónicos y $\beta$ -CD nativa**

Una solución madre de Cur (0,015 g) en DMSO (5 mL), se agitó durante 20 minutos luego se dejó reposar/decantar y se trabajó con el sobrenadante. Es importante destacar que esta solución estaba turbia, y la curcumina estaba presente en condiciones de saturación ya que decantaba curcumina sólida en el matraz. Estar presente en estado de saturación implica que hay curcumina que está sin disolver en la solución, y esto es sumamente importante para explicar el aumento de absorbancia que se detalla a continuación. La preparación de las soluciones madres de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**, **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** y  **$\beta$ -CD** se realizó disolviendo los compuestos (0,006 g) en agua destilada (5 mL). Se añadió un volumen constante ( $10 \mu\text{L} \sim 3.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ) de la solución madre de curcumina a distintas concentraciones de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH**, **Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH** y  **$\beta$ -CD**. Aquí es importante notar el valor de concentración de la Cur utilizada porque de no ser suficientemente diluida en comparación a las concentraciones de los compuestos

<sup>4</sup> Zhang, W., Chen, C., Shi, H., Yang, M., Liu, Y., Ji, P., Chen, H., Tan, R. X., & Li, E. (2015b). Curcumin is a biologically active copper chelator with antitumor activity. *Phytomedicine*, 23(1), 1–8.

<sup>5</sup> Prabu, S., & Mohamad, S. (2019). Curcumin/beta-cyclodextrin inclusion complex as a new “turn-off” fluorescent sensor system for sensitive recognition of mercury ion. *Journal of Molecular Structure*, 1204, 127528.

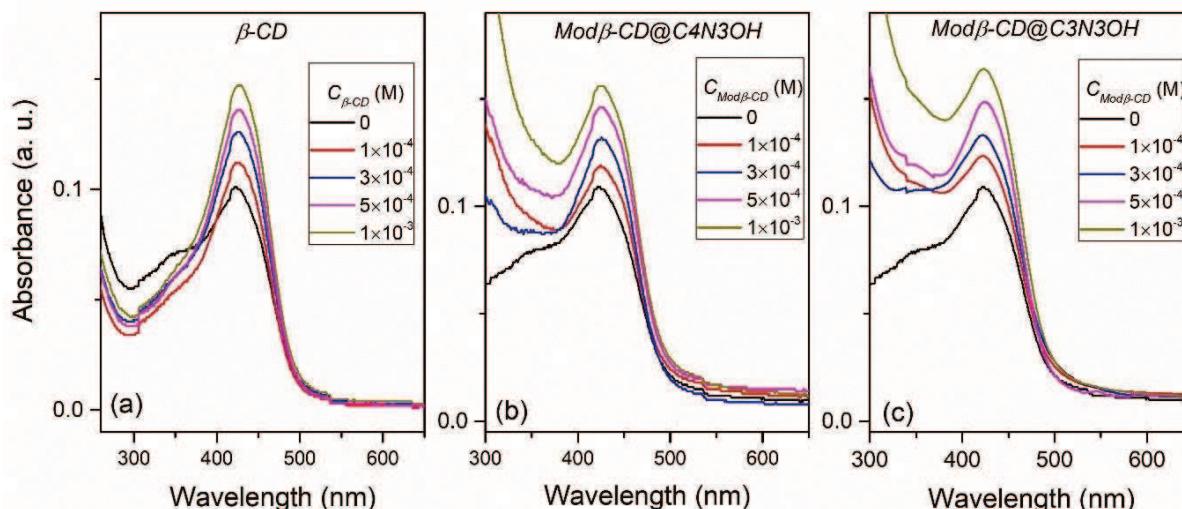
<sup>6</sup> Da Silva-Buzanello, R. A., Ferro, A. C., Bona, E., Cardozo-Filho, L., De Araújo, P. H. H., Leimann, F. V., & Gonçalves, O. H. (2014). Validation of an Ultraviolet-visible (UV-Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly(l-lactic acid) nanoparticles. *Food Chemistry*, 172, 99–104.

<sup>7</sup> Kali, G., Haddadzadegan, S., & Bernkop-Schnürch, A. (2023). Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. *Carbohydrate Polymers*, 324, 121500.

<sup>8</sup> J. Szejtli, “Medicinal Applications of Cyclodextrins” *Med. Res. Rev.* 1994, 14, 353.

utilizados no se podría realizar el análisis de encapsulamiento. Además, no se podría afirmar que el aumento de absorbancia como se ve en las siguientes figuras, se debe al encapsulamiento del Cur, o que interacciona de otra forma con la Cur disuelta en la solución acuosa.

En la **Figura 5.3**, se analizaron los espectros UV-Vis para la concentración constante de Cur a  $3.5 \times 10^{-6}$  M a distintas concentraciones de los compuestos en agua, cabe destacar que el porcentaje de DMSO en la solución final era 0.02%. Aquí puede apreciarse que aumenta la absorbancia para una  $\lambda=425$  nm con respecto al blanco de Cur.



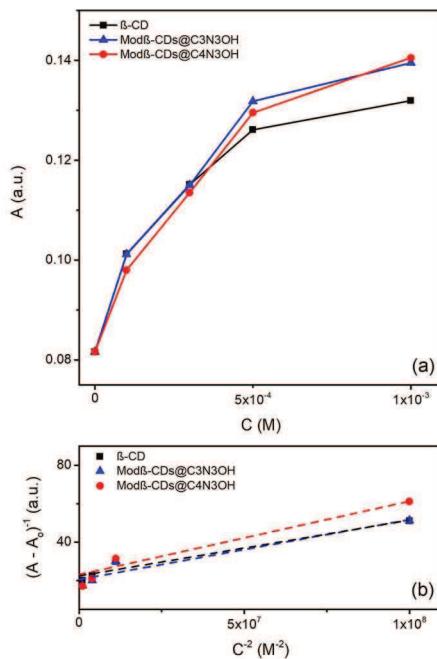
**Figura 5.3:** Espectros UV-Vis de encapsulación de Cur utilizando a)  $\beta$ -CD b)  $\text{Mod}\beta\text{-CDs@C4N3OH}$  y c)  $\text{Mod}\beta\text{-CDs@C3N3OH}$

Esto se debe al hecho de que la curcumina se encapsula o forma complejos con  $\beta$ -CD, y las  $\text{Mod}\beta$ -CDs lo que resulta en un aumento de la absorbancia. La **Figura 5.4a** analiza la absorbancia a 425 nm para cada compuesto. Para investigar más a fondo este fenómeno, se calculó la constante de asociación utilizando un gráfico recíproco doble típico (**Figura 5.4b** ilustra el modelo matemático para analizar la forma cual se encapsula la Cur y además de estas curvas se pude extraer la constante de asociación) utilizando la **ecuación 1**.<sup>9</sup>

<sup>9</sup> Tang, B., Ma, L., Wang, H., & Zhang, G. (2002). Study on the Supramolecular Interaction of Curcumin and  $\beta$ -cyclodextrin by Spectrophotometry and Its Analytical Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1355–1361.

$$\frac{1}{A-A_\infty} = \frac{1}{(A_\infty-A_0)KC_{CD}^2} + \frac{1}{A_\infty-A_0} \quad \text{Ecuación (1)}$$

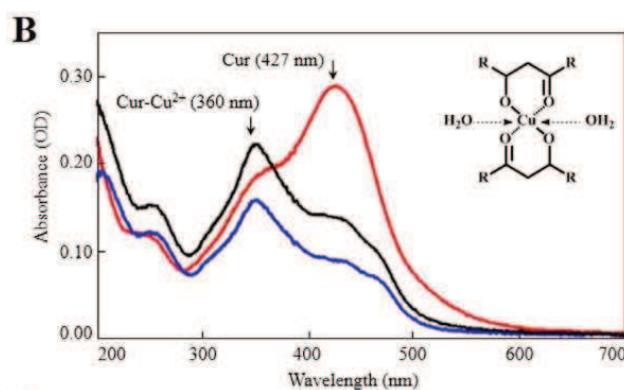
Si suponemos la formación de un complejo de inclusión, los parámetros de la ecuación son: Donde A es la absorbancia observada del complejo de inclusión de Cur  $\beta$ -CD o Mod $\beta$ -CDs en cada concentración analizada.  $A_0$  y  $A_\infty$  son la absorbancia en ausencia de  $\beta$ -CDs y cuando toda la Cur está completamente acomplejada, respectivamente. La buena relación lineal ( $r^2=0,98$ ) al graficar  $1/(A-A_0)$  vs.  $1/[CD]^2$  apoya la existencia de un complejo 2:1 de  $\beta$ -CDs: Cur.<sup>7</sup> Esto significa que ambos grupos hidroxilo fenólicos están encapsulados dentro de 2 moléculas de  $\beta$ -CD. Los valores de  $K_a$  calculados se pueden ver en la **Tabla 5.1**. Los valores son cercanos entre ellos, como corresponde porque vemos una encapsulación de curcumina en dos  $\beta$ -CD, pero lo novedoso sería el desvió que se observa en la concentración de  $5\times 10^{-4}$  para las Mod $\beta$ -CD donde empiezan a comportarse distintas que la  $\beta$ -CD nativa.



**Figura 5.4:** Encapsulación de Cur a 425 nm utilizando  $\beta$ -CD, Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH y Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH.

Al centrarnos en la **Figura 5.4**, observamos un aumento significativo de la absorbancia en  $5 \times 10^{-4}$  y luego a  $1 \times 10^{-3}$  M. A estas concentraciones, fueron observadas varios agregados esféricos y ramificados por la técnica AFM, ya que se observaron varios agregados esféricos y ramificados a esta concentración para ambos productos deseados. Esta es una característica muy importante y prometedora de los compuestos no iónicos sintetizados, ya que logramos mejorar su capacidad para solubilizar la Cur dentro de estos agregados, así como reducir la concentración a la que la  $\beta$ -CD se agregan. La literatura indica que los agregados de  $\beta$ -CD nativos se forman a concentraciones desde  $7 \times 10^{-3}$ ,<sup>10</sup> indicando que nuestro compuesto “mejoro” esta propiedad y puedo autoensamblarse a menores concentraciones. Lo cual podría ser favorable en aplicaciones que requiere el uso de menor cantidad de producto.

Se podría argumentar que la presencia de trazas de cobre podría aumentar la solubilidad de la Cur deberse al complejo de inclusión de Mod $\beta$ -CDs;<sup>11</sup> sin embargo, en el UV-Vis no vemos un cambio en la longitud de absorbancia máxima de la Cur que indicaría una acomplejación con el metal. Además, los autores Zhang et. al<sup>11</sup> llevaron a cabo una experiencia similar en la que se ve claramente el cambio de banda que indica una complejación de la Cur con el cobre (**Figura 5.5**). Por último, como observamos en las imágenes del AFM (el capítulo 4 **Figura 4.9** y **4.10**) se podría estipular que estos agregados interaccionan con la curcumina y esto también favorece la solubilización del mismo y el aumento de absorbancia que vemos en el UV-Vis.



**Figura 5.5:** Espectro de complejacion de Cur y cobre.<sup>11</sup>

<sup>10</sup> Couto, A. R. S., Ryzhakov, A., & Loftsson, T. (2018). Self-Assembly of A-Cyclodextrin and B-Cyclodextrin: identification and development of analytical techniques. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(8), 2208–2215.

<sup>11</sup> Zhang, W., Chen, C., Shi, H., Yang, M., Liu, Y., Ji, P., Chen, H., Tan, R. X., & Li, E. (2015c). Curcumin is a biologically active copper chelator with antitumor activity. *Phytomedicine*, 23(1), 1–8.

**Table 5.1:** Constantes de asociación calculadas para  $\beta$ -CD nativa y modificada.

Compuesto	Constante de Asociación $K_a (M^{-2})$
$\beta$ -CD	$7,7 \times 10^7$
Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH	$6,5 \times 10^7$
Mod $\beta$ -CDs@C3N3OH	$6,1 \times 10^7$

Como observamos en la **Tabla 5.1** las constantes de asociación son muy similares entre los tres compuestos. Esto es de esperarse ya que a las concentraciones menores de  $5 \times 10^{-4} M$  el comportamiento de los compuestos encapsulando la Cur es idéntico. Es decir, los tres compuestos forman el complejo 2:1 con la Cur y establece que en esos rangos los monómeros de cada compuesto encapsulan la Cur. Cuando miramos la **Figura 5.4** observamos que a  $5 \times 10^{-4} M$  se desvían ambas Mod $\beta$ -CDs y empiecen a aumentar la absorbancia de Cur a un mayor valor que la  $\beta$ -CD nativa. Esto se puede atribuir que ya a esta concentración los agregados se están formando en las Mod $\beta$ -CD (no en la  $\beta$ -CD nativa) y esto promueve una mayor interacción con las moléculas de Cur y aumenta mayormente su absorbancia y la solubilidad es mayor.

## Sección 4: Conclusiones

En esta investigación, se sintetizaron y purificaron dos  $\beta$ -CD modificadas mediante reacciones de clic asistidas con cobre. La eliminación del cobre de los productos deseados se llevó a cabo con éxito mediante electrodeposición, un procedimiento sencillo que no requirió un voltaje excesivo ni un tiempo prolongado para obtener compuestos altamente purificados. La importancia de esta purificación radica en que estos productos pueden utilizarse con fines biológicos o para la remediación de sitios contaminados. Se requieren estudios de citotoxicidad adicionales para investigar si esta modificación es tóxica para el consumo humano.

A través del análisis exploratorio de encapsulamiento realizado en este trabajo, las Mod $\beta$ -CDs mostrarían una mayor capacidad para solubilizar la Cur con respecto a la  $\beta$ -CD nativa, posiblemente a través de la formación de complejos de inclusión del tipo Mod $\beta$ -CDs-Cur.

Estos complejos de inclusión deben estudiarse con mayor profundidad para determinar si aumenta la eficacia de la Cur para poder aplicarlos como fármaco. Los resultados indicados son prometedores para otros estudios que incluyen la inclusión de contaminantes o la formación de películas poliméricas con sitios activos integrados para su uso en casos biológicos, como sistemas transportadores de fármacos, para facilitar la solubilización de fármacos hidrofóbicos.

Por otro lado, en la caracterización de las Mod $\beta$ -CDs iónicas de cadena larga se observó que el sustituyente alquílico afectó el rendimiento de reacción disminuyéndolo, así como también la solubilidad en agua. Inicialmente uno de los objetivos principales de esta investigación fue la búsqueda de la formación de agregados del tipo micelares por parte de las Mod $\beta$ -CDs de cadena larga. Sin embargo, estos resultados ilustran la importancia de seleccionar adecuadamente los grupos funcionales que se unirán a la  $\beta$ -CD, ya que estos reactivos pueden incluirse en la cavidad de la  $\beta$ -CD antes de que ocurra la reacción o auto encapsularse entre sí, lo que resulta contraproducente para encapsular otras moléculas de interés. Sin embargo, se podría considerar otro tipo de otro tipo de aplicación para las Mod $\beta$ -CDs iónicas de cadenas largas como catalizadores o soporte para catalizadores en reacciones orgánica con catálisis heterogénea.

## **Sección 5: *Futuros Objetivos***

### **5.1: Síntesis de compuestos no-iónicos**

En cuanto la síntesis de los compuestos no-iónicos se puede profundizar en las siguientes áreas,

- En el caso de utilizar Cu como catalizador, se podría aumentar el tiempo de electrodeposición para obtener mayor pureza en los productos. Otras opciones son utilizando calor, sin el uso Cobre como catalizador, y tampoco el uso de ascorbato de sodio como reductor. Esto quitaría la necesidad de utilizar la purificación por electroquímica, pero hay una gran diferencia. Esta síntesis no es estereoselectiva es decir se puede encontrar dos productos finales un triazol que es 1,5 substituido o 1,4. Se debería investigar si esta reacción implicaría diferencias fisicoquímicas que las cuales que están producidas por la síntesis CuAAC. Además, en vez de usar calor, también se podría pensar en usar microondas para ver si el uso de este medio aporta cambios en los productos finales.

- Utilizar electroquímica para reducir el cobre y removerlo en síntesis one-pot. Se puede intentar utilizar electroquímica a un voltaje constante cual produce el cobre<sup>+1</sup> durante la reacción y analizar si esto puede catalizar la síntesis CUAAC, esto quitaría el uso de ascorbato de sodio, y además si e one-pot se puede después remover el cobre como hicimos en este estudio. No obstante, se debería modificar la celda para evitar la reducción total a cobre<sup>0</sup>.

## 5.2: Síntesis de compuestos iónicos

- En la síntesis de compuestos iónicos se debería cambiar el grupo funcional que se une a la β-CD. En este sentido se podría pensar en usar un líquido iónico con cadena corta con un grupo oxidrilo terminal o substituido por la cadena. Esto podría permitir la disrupción de los enlaces de puente hidrógeno inter/intra β-CD y producir una molécula con mayor solubilidad en agua.
  - Además de un grupo oxidrilo se puede pensar en utilizar cetonas, amidas o aminas e investigar como cambian sus propiedades.<sup>12,13</sup>

## 5.3: Síntesis General

- Intentar controlar la polidispersidad de los agregados utilizando componentes de soporte como metales que no sean tóxico como por ejemplo Calcio o Potasio y analizar sus comportamientos.<sup>14</sup>

## 5.4: Aplicación de Films Poliméricos

- Estudiar la citotoxicidad de los materiales sintetizados.

---

<sup>12</sup> Machado, T. F., Utzeri, G., Valente, A. J., Serra, M. E. S., & Murtinho, D. (2023). Click nanospunge – A novel amine-rich β-cyclodextrin-based crosslinked polymer for heterogeneous catalysis. *Carbohydrate Polymers*, 326, 121612.

<sup>13</sup> Abdi, Z. G., Chen, J., & Chung, T. (2023). Novel amino-beta cyclodextrin-based organic solvent nanofiltration membranes with fast and stable solvent transport. *Journal of Membrane Science*, 689, 122197.

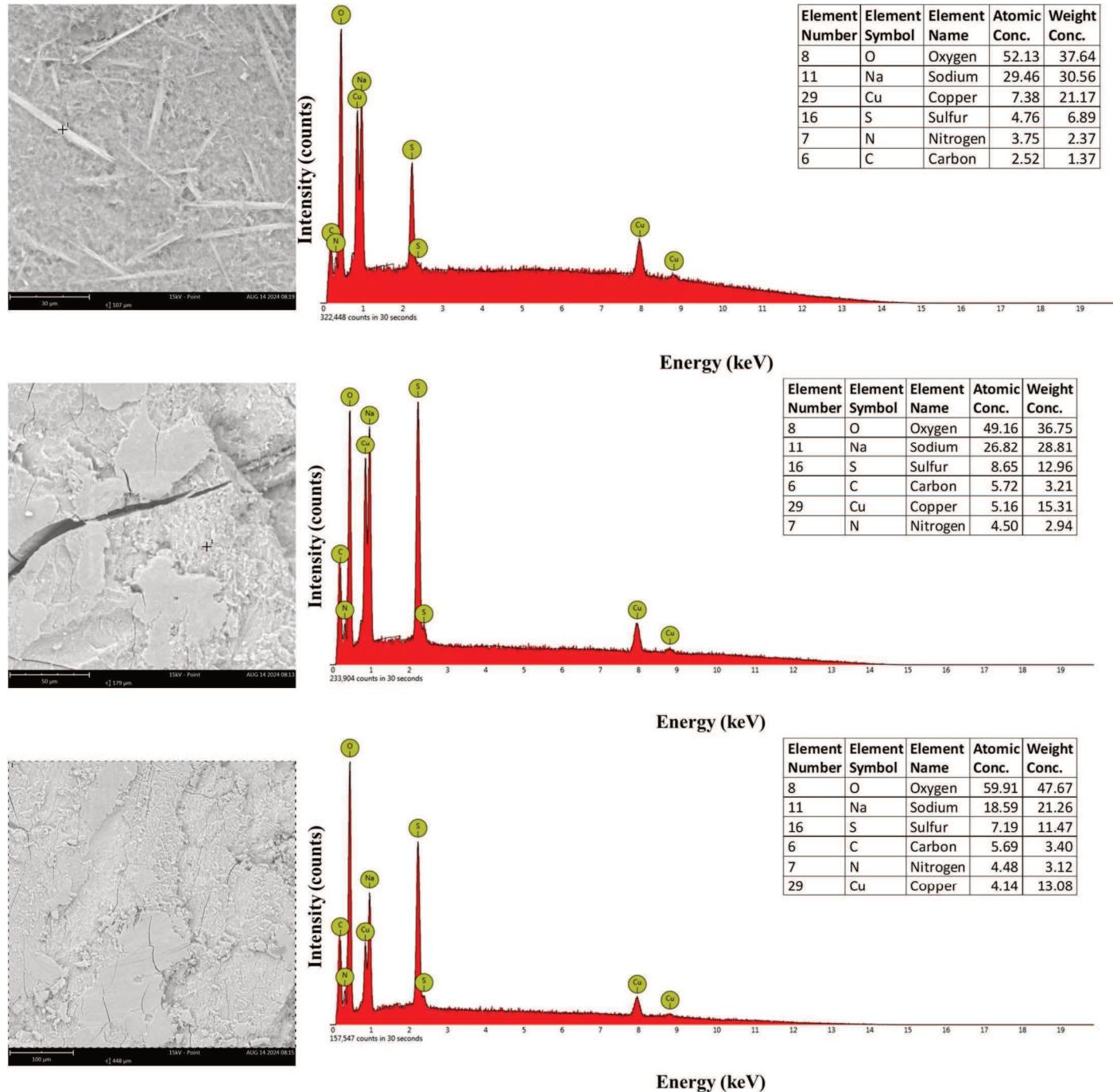
<sup>14</sup> Sadeh, P., Zeinali, S., Rastegari, B., & Najafipour, I. (2024). Functionalization of β-cyclodextrin metal-organic frameworks with gelatin and glutamine for drug delivery of curcumin to cancerous cells. *Heliyon*, 10(9), e30349.

- Analizar la interacción huésped-receptor de las Mod $\beta$ -CDs con moléculas pruebas (X) (principios activos PA-X) por técnicas de absorción Uv-Vis y fluorescencia: Mod $\beta$ -CDs- PA-X.
- Desarrollar films poliméricos (FP) de carboximetilcelulosa a partir de PA-X encapsulados en las Mod $\beta$ -CDs: FP-Mod $\beta$ -CDs-PA-X.
- Caracterizar FP-Mod $\beta$ -CDs-PA-X por microscopía SEM, TEM, difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja (FTIR) y de fotoelectrones emitidos por rayos X(XPS).
- Evaluar la eficiencia de encapsulamiento de los materiales obtenidos, la cinética de liberación de los principios activos encapsulados en los sistemas FP-Mod $\beta$ -CDs y compararlos con la conducta química observada de los PA-X en estado libre.

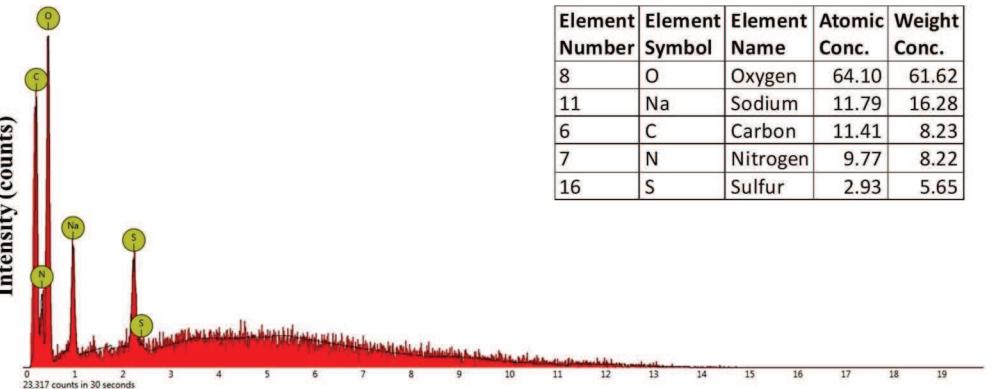
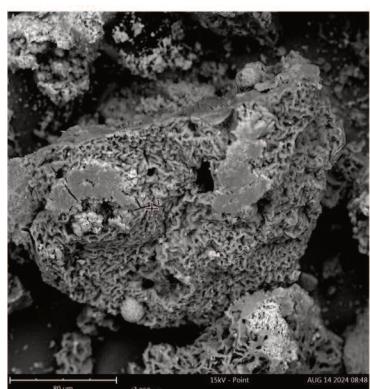
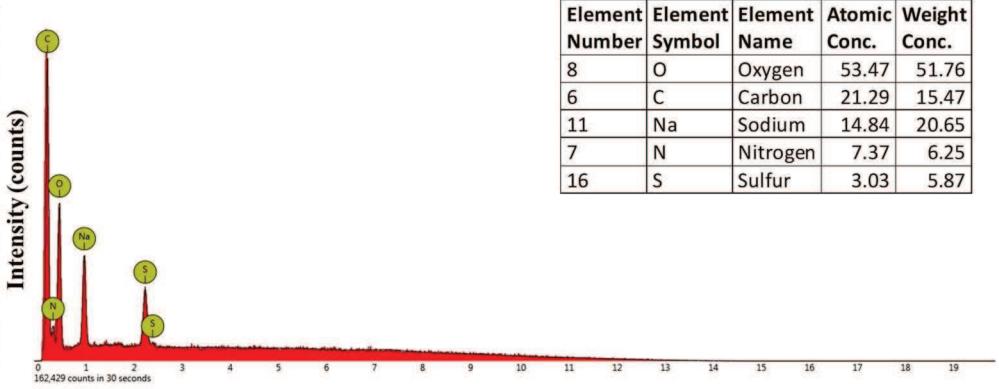
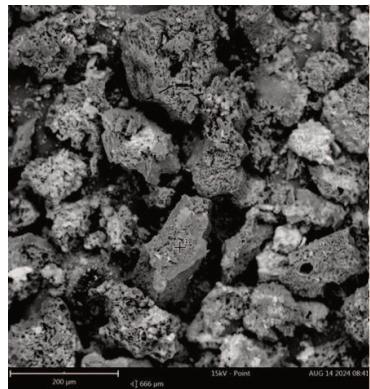
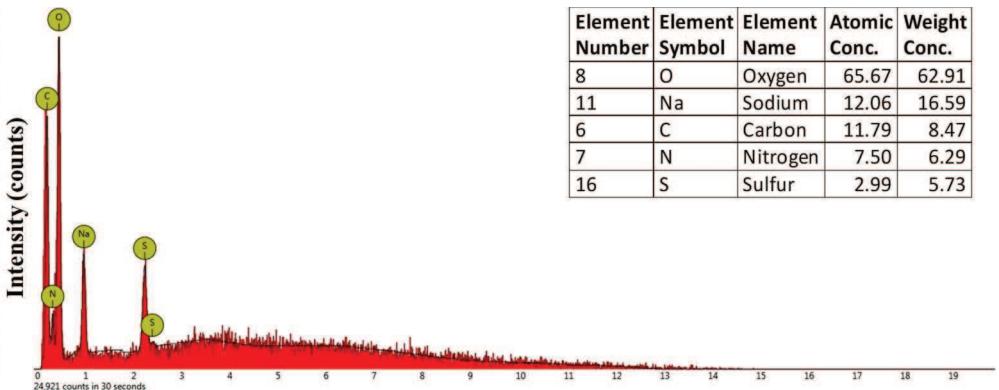
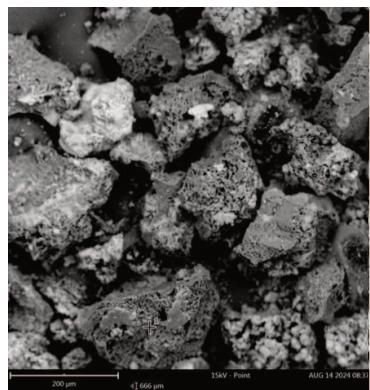
**ANEXO  
&  
INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA  
(6)**

## Sección 1: Resultados de EDS

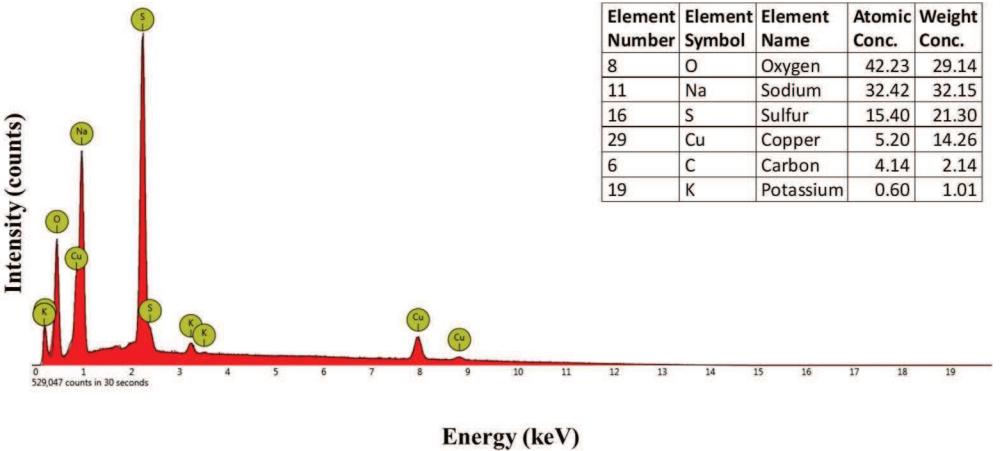
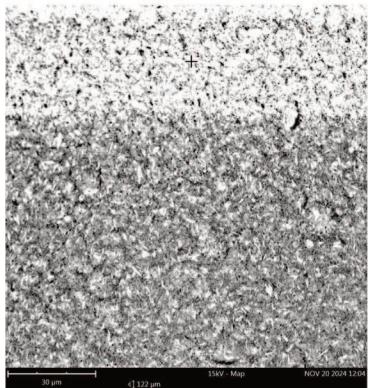
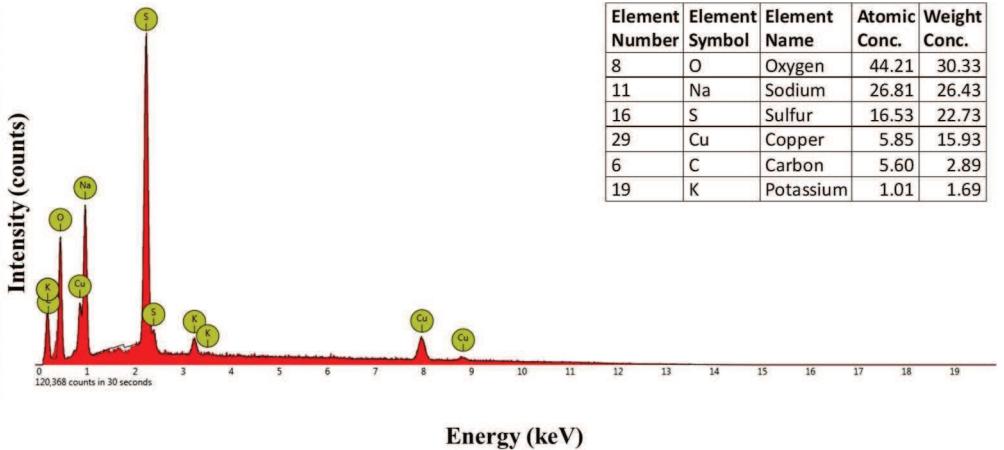
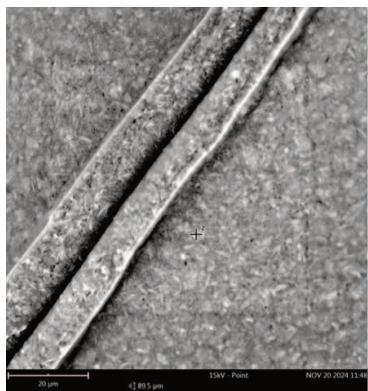
En las siguientes imágenes se pueden observar los resultados adquiridos por el ensayo de EDS, acompañado con la imagen y el punto que se observa como un + cual indica la zona de estudio.



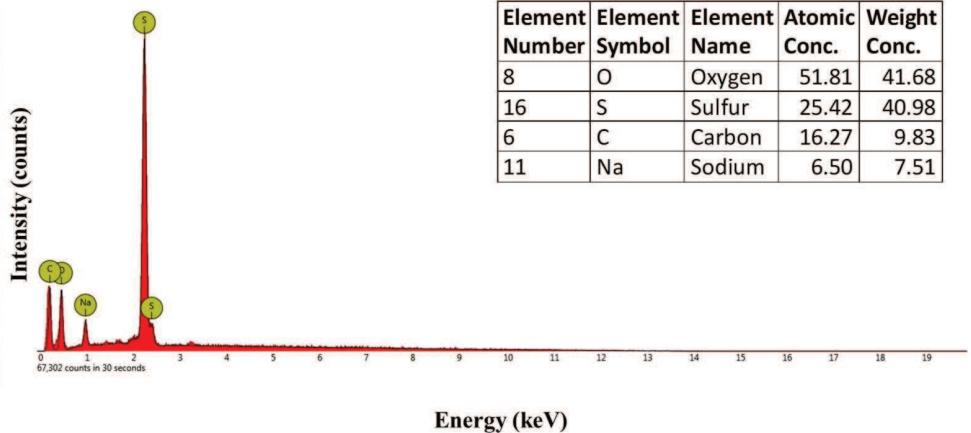
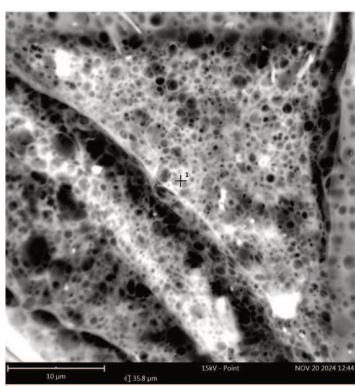
**Figura S1-a:** Imágenes SEM y análisis EDS acompañante de  $\text{M6d}\beta\text{-CDs@C4N3OH}$  impuro

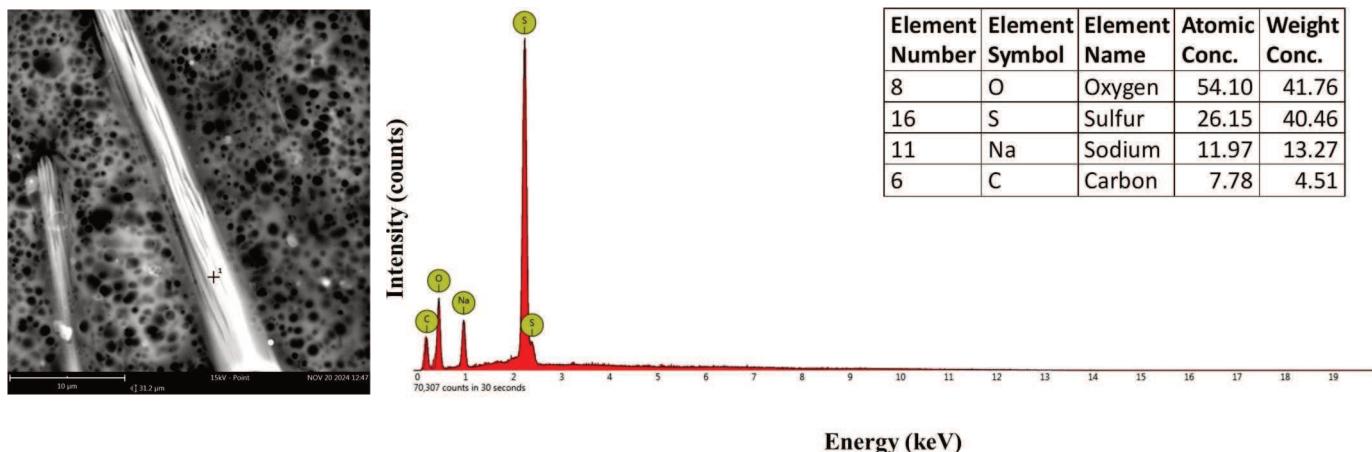


**Figura S1-b:** Imágenes SEM y análisis EDS acompañante de **Mod $\beta$ -CDs@C4N3OH** puro



**Figura S2-a:** Imágenes SEM y análisis EDS acompañante de Mod $\beta$ -CDs@C<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OH impuro





**Figura S2-b:** Imágenes SEM y análisis EDS acompañante de **Mod $\beta$ -CDs@C<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OH** puro

## Sección 2: Fundamentos de Técnicas Aplicadas para la Caracterización y Aplicación de Productos Sintetizados

### 6.1: Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)<sup>1</sup>

En la espectroscopía de RMN, se utiliza la radiación de la región de radiofrecuencia. La muestra se coloca en el orificio hueco de un imán superconductor y se irradia con un pulso de radiación de RF de una sonda de RMN. La muestra se coloca en un campo supermagnético; de lo contrario, no sería capaz de absorber la radiación de RF. Esto se debe a que algunos núcleos atómicos poseen una propiedad llamada spín nuclear. Un protón (hidrógeno) puede adoptar uno de dos estados de spín: +1/2 o -1/2 ua. que corresponde al estado de spín  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente. Es importante tener en cuenta que no todos los núcleos son observables en la RMN, cualquier núcleo que tenga un

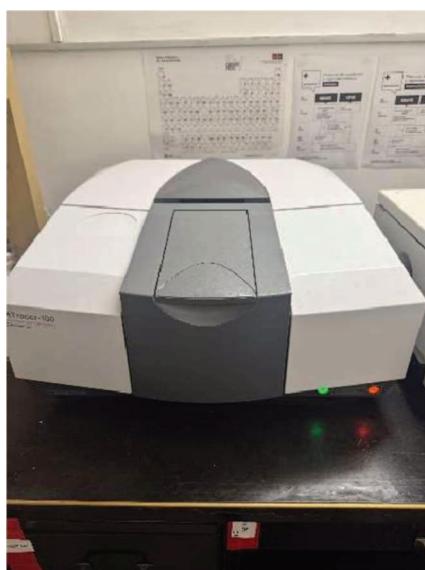


**Figura S3:** Instrumento de RMN

<sup>1</sup> Karty, J., & Melzer, M. M. (2014). *Study Guide and Solutions Manual for Organic Chemistry: Principles and Mechanisms*. W. W. Norton.

número impar de protones y/o neutros tiene la propiedad de spín nuclear. Sin embargo, cualquier núcleo que tenga un número par de protones y neutrones no tiene espín nuclear y se denomina "núcleos de RMN-silenciosos". Finalmente, cuando los protones o carbonos por ejemplo están en diferentes entornos químicos, vemos diferentes desplazamientos en los espectros  $\delta$ , a menos que dos entornos de protones sean idénticos por simetría, sus frecuencias de resonancia deben ser diferentes. Por lo tanto, aparecerán en diferentes ubicaciones en el espectro, lo que nos permite deducir la estructura del compuesto y realizar la caracterización de dicho compuesto.

## 6.2: Espectroscopía de Infrarrojo Por transformada de Fourier (FT-IR)<sup>2</sup>



**Figura S4:** Instrumento de FT-IR

En la espectroscopia IR, la radiación de la región infrarroja del espectro electromagnético se envía a través del analito, como se observa en la espectroscopia UV-Vis. Sin embargo, en este caso, la absorción IR provoca excitaciones en los movimientos vibracionales de las moléculas. Los enlaces químicos se comportan como resortes; por lo tanto, los átomos de una molécula son como masas conectadas por resortes que pueden experimentar diferentes tipos de oscilaciones regulares, en las que varían las distancias interatómicas y los ángulos de enlace. Existen dos tipos de movimientos vibracionales independientes: el stretching y la bending. En el stretching, la distancia entre dos átomos en un enlace químico se

alarga y se acorta, mientras que en la bending, el ángulo, ya sea de enlace o diedro, se alarga y se acorta. Además, los enlaces C-H también pueden experimentar vibraciones de estiramiento, pero no de forma independiente. Experimentan un estiramiento simétrico y uno asimétrico. La mecánica cuántica establece que cada modo normal de vibración está cuantizado; por lo tanto, para cada modo normal solo se permiten ciertos niveles de energía. Esto significa que solo se pueden observar fotones de ciertas energías. La frecuencia con la que aparece un pico en un espectro IR

---

<sup>2</sup> Karty, J., & Melzer, M. M. (2014b). *Organic Chemistry: Principles and Mechanisms*. W. W. Norton.

suele ser la misma que la frecuencia de vibración de las vibraciones responsables de la absorción del fotón.

### 6.3: Punto de Fusión<sup>3</sup>

El propósito de determinar el punto de fusión es analizar la pureza y la composición del compuesto. En este caso, se aplica calor hasta su disolución. Si bien es un procedimiento muy simple, la importancia radica en la amplitud del punto de fusión del compuesto. Esto podría implicar la presencia de impurezas que podrían estar alterando dicho punto, como se observó en esta investigación: hubo una diferencia de aproximadamente 10 grados entre el punto de fusión completo del compuesto. Además, se pueden estudiar los grados de fusión de compuestos similares para observar las fuerzas intermoleculares presentes y cómo la simetría o asimetría del compuesto afecta su empaquetamiento y, por lo tanto, la intensidad de la fuerza intermolecular.

### 6.4: Dispersión de Luz Dinámica (DLS)<sup>4</sup>

En la dispersión dinámica de luz, es posible determinar el tamaño de partículas o agregados que se encuentran en solución. Esto se hace incitando un láser monocromático sobre la solución que detecta partículas en movimiento browniano. El movimiento browniano se refiere al movimiento aleatorio de partículas suspendidas en el fluido, causado por colisiones con moléculas de disolvente circundantes. El láser que se incita se dispersa luego por dispersión de Raleigh y luego se analiza para determinar la velocidad del movimiento browniano. La dispersión de Rayleigh es un proceso en el que los tamaños de partículas son suficientemente pequeños en comparación con la longitud de onda de la luz incidente que difractará la luz en todas las direcciones con diferentes longitudes de onda e intensidades en función del tiempo. Las partículas que son más pequeñas experimentarán colisiones más frecuentes y fuertes, lo que significa que se mueven más rápido y dispersan la luz con mayor intensidad. Por el contrario, con partículas más grandes, se mueven más lentamente y dispersan la luz con menor intensidad.

---

<sup>3</sup> Melting Point Theory. (2022, April 7). Butte College. <https://chem.libretexts.org/@go/page/93433>

<sup>4</sup> Raja, P. M. V., & Barron, A. R. (2022, August 28). Dynamic Light Scattering. Rice University. <https://chem.libretexts.org/@go/page/55841>

## 6.5: Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)<sup>5</sup>

La microscopía de fuerza atómica es una técnica no destructiva ampliamente utilizada para estudiar la topografía de diversas películas o agregados con resolución nanométrica. El principio de funcionamiento del AFM consiste en escanear la superficie de la muestra con una delicada punta de microcantilever de Si/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Una luz láser incide sobre la parte posterior brillante de la cantilever, que se refleja sincronizadamente en un fotodetector sensible a la posición que proporciona información a los escáneres que mantienen la punta de la cantilever a una altura o fuerza constantes. Esto permite obtener información sobre la formación de la superficie, como la rugosidad o la fuerza de interacción entre la muestra y la punta. Las mediciones de AFM se pueden realizar en tres modos diferentes: 1) modo de contacto, 2) modo sin contacto (utilizado en esta investigación) y 3) modo de golpeteo. En el modo sin contacto, la sonda de escaneo alcanza una alta resolución al detectar las fuerzas de atracción entre la punta afilada y la superficie de la muestra sin contacto físico. La punta oscila cerca de la superficie y los cambios detectados en la amplitud o frecuencia de oscilación se utilizan para mostrar la topografía de la muestra.

## 6.6: Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (SEM/EDS)<sup>6,7</sup>

La SEM/EDS permite obtener imágenes de la superficie de los materiales, dilucidar detalles sobre su morfología y, al combinarse con la EDS, su composición química. En esta investigación, las imágenes de SEM se adquirieron utilizando un detector de electrones retrodispersados. Este tipo de detector se utiliza para analizar la composición de la muestra mediante la detección de los electrones que se dispersan de vuelta desde su superficie. Los electrones retrodispersados son electrones de alta energía que han sido dispersados elásticamente por los átomos de la muestra. Esto permite la formación de la imagen adquirida. En la EDS, se dirige un haz de electrones enfocado hacia la muestra, el cual expulsa electrones del núcleo de los átomos. La emisión de rayos X de los electrones de mayor energía, cuando ocupan los electrones del núcleo vacantes, puede caracterizarse mediante el detector, que mide la energía e intensidad de estos rayos X emitidos. Esto permite caracterizar cualitativa y semicuantitativamente la composición elemental de la muestra estudiada.

## 6.7: Espectroscopía ultravioleta-visible<sup>2</sup>

En la espectroscopía UV-Vis, se utiliza luz de las regiones UV y visible del espectro para analizar muestras. En un experimento UV-Vis típico, se envía un rango de longitudes de onda, generalmente de 200 a 800 nm, a través de un analito. En cada longitud de onda, se mide la intensidad de la luz que llega al detector (detector), así como la intensidad de la luz de la fuente (source). La transmitancia (%T) se calcula a partir de estos valores según la siguiente ecuación:

$$\%T = \left( \frac{I_{detected}}{I_{source}} \right) * 100$$

<sup>6</sup>IXRF, Inc. (2024, December 13). *Theory of Electron Microscopy — IXRF Systems*.

<sup>7</sup>EDS Principle | West Campus Materials Characterization Core. (n.d.). <https://ywcmatsci.yale.edu/edx-principle>



**Figura S5:** Instrumento de SEM/EDS

La ecuación anterior se utiliza para convertir la transmitancia en absorbancia (A), que varía de 0 (sin absorción) a infinito (absorción completa), que es lo que se usa más comúnmente en experimentos y lo que utilizamos en esta investigación mediante la siguiente ecuación.

$$A = -\log \left( \frac{I_{detected}}{I_{source}} \right) = 2 - \log (\%T)$$

Finalmente, el espectro UV-Vis se produce al trazar la absorbancia contra la longitud de onda donde la absorbancia es alta, se llaman bandas o picos de absorción. En esencia, cuando la molécula absorbe el fotón, también adquiere la energía del fotón, esto a su vez hace que un electrón en la molécula sea promovido a un orbital molecular de mayor energía, lo que se llama transición electrónica. Es importante tener en cuenta que las moléculas que contienen solo enlaces  $\sigma$  (como los alcanos y cicloalcanos) no absorben en las regiones UV o visible. Debido al hecho de que su  $\lambda_{max}$  es demasiado corto. Cuando las moléculas que contienen al menos un enlace  $\pi$  (como el eteno o el hex-1-eno) muestran un  $\lambda_{max}$  mayor alrededor de  $\sim 160$  nm. Finalmente, la longitud de onda más larga  $\lambda_{max}$  aumenta a medida que aumenta el grado de conjugación. Esto se debe a que a medida que aumenta la conjugación, la diferencia de energía HOMO-LUMO ( $\Delta E(\text{HOMO-LUMO})$ ) disminuye, por lo tanto, el valor de  $\lambda_{max}$  aumenta.



**Figura S6:** Instrumento de UV-VIS

### 6.8: Cromatografía por Capa Delgada (TLC)<sup>8</sup>

La cromatografía en capa fina es una herramienta muy valiosa en la síntesis orgánica, ya que permite verificar el progreso de la reacción, la presencia de impurezas y la visibilidad del producto deseado. En este proceso, la fase móvil es fundamental, ya que determina cómo se separan los componentes en la placa de capa fina, que suele estar compuesta por una fase estacionaria, como gel de sílice, alúmina o celulosa, recubierta de un soporte sólido como vidrio, aluminio o plástico. Una vez completada la separación, se puede calcular el factor de retención, específico para cada compuesto en un experimento de TLC. Este factor se determina mediante la siguiente ecuación

<sup>8</sup> Thin Layer Chromatography. (2022, August 23). <https://chem.libretexts.org/@go/page/2047>

$$Rf = \text{distance traveled by sample} / \text{distance traveled by solvent}$$

Si el factor de retención es mayor, eso significa que este compuesto es menos polar debido al hecho de que no se retiene en la fase estacionaria de gel de sílice polar, donde el compuesto polar tendría un factor de retención más bajo, es decir, permanecería más tiempo en la fase estacionaria y aparecería más abajo en la TLC.

### 6.9: Espectroscopía de absorción atómica de llama (FAAS)<sup>9</sup>

En la espectroscopía de absorción atómica de llama, se aspira una muestra líquida en una llama cuya temperatura oscila entre 2000 y 3000 K. El líquido se evapora y el sólido restante se atomiza en la llama. Dependiendo del elemento, se debe seleccionar el ancho de emisión de la lámpara. Cada elemento tiene frecuencias características que absorbe. Al excitarse, emite luz, que es detectada por el detector y permite cuantificar la señal mediante una curva de calibración predefinida. En esta investigación, se utilizó cobre para cuantificar trazas de cobre en el producto purificado.



**Figura S7:** Instrumento de FAAS

<sup>9</sup> Harris, D. C., & Lucy, C. (2015). *Quantitative Chemical analysis*. Macmillan Higher Education.