



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Química Supramolecular: Caracterización de escuaramidas y estudios de complejación mediante espectroscopía IR

Eduardo Castellanos Arrescurrenaga

Grau de Química

Any acadèmic 2016-17

DNI de l'alumne: 43190509M

Treball tutelat per Dr. Antoni Costa Torres
Departament de Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Espectroscopía IR, agregación, enlace de hidrógeno, escuaramida, deconvolución de espectros.

Índice

1. Introducción	4
1.1. Espectroscopía infrarroja	4
1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	5
1.3. FTIR como método de análisis cuantitativo	6
1.3.1. <i>Manipulación de espectros</i>	7
1.3.2. <i>Determinación de la concentración</i>	7
1.4. Espectros de Infrarrojo en disolución	8
1.4.1. <i>Importancia del disolvente</i>	9
1.5. FTIR como método de caracterización de complejos y agregados moleculares	11
1.5.1. <i>Interacciones moleculares</i>	11
1.5.2. <i>Consecuencias en el espectro IR</i>	12
1.5.3. <i>Deconvolución de espectros</i>	12
1.6. Moléculas de estudio.....	13
1.6.1. <i>Escuaramidas</i>	13
1.6.2. <i>ϵ-Caprolactama</i>	14
2. Objetivos	15
3. Resultados y discusión	16
3.1. Estudio IR de agregación vía N-H.....	16
3.1.1. <i>Compuestos de base escuaramida</i>	16
3.1.1.1. <i>Agregación en CHCl_3</i>	17
3.1.1.2. <i>Agregación en CDCl_3</i>	18
3.1.1.3. <i>Agregación en CCl_4</i>	22
3.1.2. <i>ϵ-Caprolactama</i>	23
3.2. Estudio IR de agregación de un hidrogel de base escuaramida	24
4. Parte experimental	27
4.1. Síntesis y caracterización del compuesto 2	27
4.2. Preparación de disoluciones	28
4.3. Realización de espectros de infrarrojo	28
4.4. Manipulación de datos experimentales	29
4.5. Constantes de equilibrio de dimerización (K_d)	30
4.6. Instrumentación y reactivos.....	31
4.6.1. <i>Reactivos y disolventes</i>	31
4.6.2. <i>Material y equipos</i>	31
5. Conclusiones	32

1. Introducción

1.1. Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja¹ (IR) es una técnica basada en el análisis de la interacción de la radiación infrarroja con las moléculas. Una de las grandes ventajas que presenta es que puede estudiarse prácticamente cualquier muestra en cualquier estado, ya sean líquidos, disoluciones, pastas, polvos, películas, fibras, gases o superficies.

La región infrarroja del espectro (Figura 1.1.1) comprende la radiación con número de onda que varía entre 12.800 y 10 cm^{-1} o longitudes de onda de $0,78$ a $1000\text{ }\mu\text{m}$.²

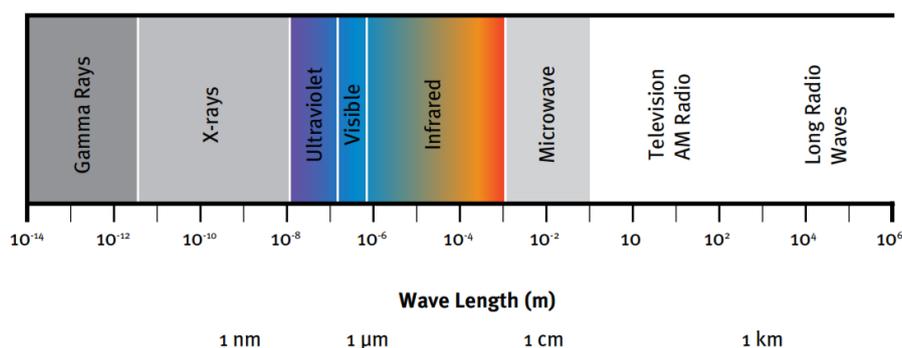


Figura 1.1.1. División de la radiación electromagnética según la longitud de onda.³

Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los instrumentos, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones, a saber, infrarrojo cercano, medio y lejano (Figura 1.1.2), ya que los métodos basados en cada una de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren de manera considerable.

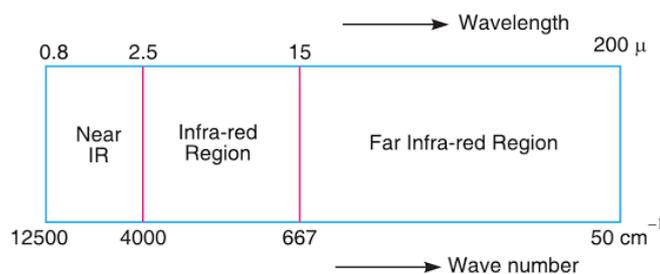


Figura 1.1.2. División de la región del espectro infrarrojo.⁴

Un espectro infrarrojo se obtiene comúnmente mediante el análisis de la radiación infrarroja absorbida a una energía determinada. La energía a la que aparece cualquier pico en un espectro de absorción corresponde a la frecuencia de la vibración de una parte de una muestra, ya que los grupos absorbentes en la región del infrarrojo absorben dentro de una cierta región de longitud de onda. Los picos de absorción dentro de esta región son generalmente más agudos que los picos de absorción de la región UV-visible. De esta manera, la espectroscopía IR puede ser muy sensible en la determinación de grupos funcionales dentro de una muestra ya que éstos absorben a una frecuencia característica de la radiación IR. Además, cada molécula tiene un

¹ B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, **2004**

² D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principios de Análisis Instrumental*, Cengage Learning Ed, **2007**

³ H. Strand, R. Höft, J. Strittholt, L. Miles, N. Horning, E. Fosnight, W. Turner, eds. Sourcebook on Remote Sensing and Biodiversity Indicators. Secretarian of the Convention on Biological Diversity, Montreal, *Technical Series No. 32*, **2007**

⁴ Y. R. Sharma, S. Chand, *Elementary Organic Spectroscopy: Principles and Chemicals Applications*, S. Chand & Co Ltd, **1980**

espectro característico, denominado “finger print” o huella digital, que permite la comparación del espectro en una base de datos.

1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Hasta principios de los años ochenta, los instrumentos para la región del infrarrojo medio eran en su mayoría de tipo dispersivo (Figura 1.2.1a), en los cuales la radiación emitida por la fuente pasa alternativamente por la muestra o la referencia (en los espectrofotómetros de doble haz) e incide en una rendija de entrada al monocromador. En el monocromador, que puede ser un prisma o una rejilla de difracción, se descompone la radiación en haces de determinado grado de monocromaticidad que, de acuerdo al movimiento de un mecanismo como puede ser un motor paso a paso, van siendo enfocados a una rendija de salida. Las rendijas tienen como función principal aumentar el grado de monocromaticidad del haz de radiación. Una vez que atraviesan la rendija de salida, llegan al detector, alternativamente, y se obtiene el cociente de las dos señales. Como se puede inferir de lo expuesto, se pierde una cantidad significativa de energía tanto en la rendija de entrada como en la de salida. Además, para obtener una buena relación señal-ruido, en cada posición hay que emplear un tiempo determinado hasta obtener una buena señal promedio.

Actualmente, con el objetivo de mejorar la relación señal-ruido y los límites de detección, se utilizan los espectrofotómetros por Transformada de Fourier (Figura 1.2.1b).

La espectroscopía por transformada de Fourier⁵ (FT) se basa en la interferencia de radiación entre dos haces de radiación infrarroja para producir un interferograma que se analiza matemáticamente mediante una transformación de Fourier.

Existen tres ventajas principales que presenta un espectrómetro de transformada de Fourier respecto a un espectrómetro de tipo dispersivo:⁶

- El multiplex o la ventaja de Fellgett. Surge del hecho de que la información de todas las longitudes de onda se recoge simultáneamente y da como resultado una mayor relación señal-ruido para un tiempo de adquisición dado. Para un espectro con “n” elementos de resolución, este incremento es igual a la raíz cuadrada de “n”. Alternativamente, permite un tiempo de escaneo más corto para una determinada resolución. En la práctica se evalúan a menudo múltiples adquisiciones o “scans”, aumentando la relación señal-ruido por la raíz cuadrada del número de adquisiciones.
- El rendimiento o la ventaja de Jacquinot. Resultado del hecho de que, en un instrumento dispersivo, el monocromador tiene ranuras de entrada y salida que limitan la cantidad de luz que pasa a través de ella. El caudal del interferómetro está determinado únicamente por el diámetro del haz colimado procedente de la fuente. Aunque no se necesitan ranuras, los espectrómetros FTIR requieren una abertura para restringir la convergencia del haz colimado en el interferómetro. Esto se debe a que los rayos convergentes son modulados a diferentes frecuencias a medida que varía la diferencia de trayecto. Tal apertura se llama “parada de Jacquinot”. Para una resolución dada y una longitud de onda, esta abertura circular permite más luz a través de una ranura, lo que da como resultado una mejor relación señal-ruido.
- La precisión de la longitud de onda o la ventaja de Connes. La escala de longitud de onda se calibra mediante un rayo láser de longitud de onda conocida que pasa a través del interferómetro. Esto es mucho más estable y preciso que en instrumentos dispersivos, donde la escala depende del movimiento mecánico de las rejillas de difracción. En la práctica, la precisión está limitada por la divergencia del haz en el interferómetro, que depende de la resolución.

⁵ B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Spectroscopy*, Taylor and Francis Group, LLC, 2011

⁶ P. Griffiths, J.A. de Hasseth, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Wiley-Blackwell, Ltd, 2007

Otra ventaja menor, es la menor sensibilidad a la luz dispersa, que es la radiación de una longitud de onda que aparece en otra longitud de onda en el espectro. En instrumentos dispersivos, este es el resultado de imperfecciones en las rejillas de difracción y reflejos accidentales. En los instrumentos de transformada de Fourier no existe un equivalente directo ya que la longitud de onda aparente se determina por la frecuencia de modulación en el interferómetro.

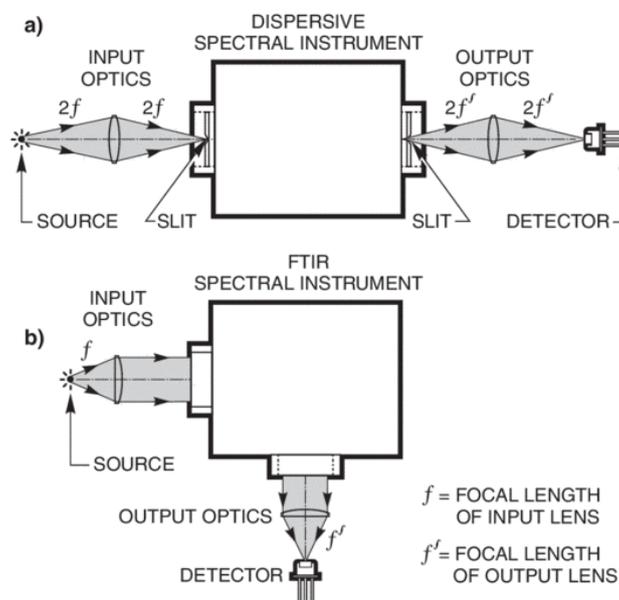


Figura 1.2.1. Esquema comparativo entre un espectrómetro de tipo dispersivo (a) y de transformada de Fourier (b).⁷

El surgimiento, en las últimas décadas, de espectrómetros de transformada de Fourier relativamente baratos aumentó de forma notable el número y tipo de aplicaciones de la radiación del infrarrojo medio. Antes de la aparición de estos instrumentos, la región espectral del infrarrojo medio se utilizaba en su mayor parte para el análisis orgánico cualitativo y la determinación estructural en base a los espectros de absorción. Ahora, en cambio, la espectrometría del infrarrojo medio se está empezando a utilizar en el análisis cuantitativo de muestras complejas, mediante espectrometría de absorción y emisión. También han empezado a aparecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante reflectancia total atenuada y reflectancia difusa, medidas fotoacústicas, entre otras.²

1.3. FTIR como método de análisis cuantitativo

La espectroscopía infrarroja cuantitativa sufre ciertas desventajas cuando se compara con otras técnicas analíticas y tiende a limitarse a aplicaciones especializadas. Sin embargo, hay ciertas aplicaciones en las que se utiliza para el análisis de un componente de una mezcla, especialmente cuando los compuestos de la mezcla son similares químicamente o tienen propiedades físicas muy similares (por ejemplo, isómeros estructurales). En estos casos, el análisis mediante el uso de espectroscopía UV-vis es difícil porque los espectros de los componentes son casi idénticos. El análisis cromatográfico puede ser de uso limitado porque la separación de isómeros, por ejemplo, es difícil de conseguir. Por el contrario, los espectros IR de los isómeros generalmente presentan diferencias significativas en la región de la huella dactilar. Otra ventaja que presenta esta técnica es que no es destructiva y requiere sólo una pequeña cantidad de muestra.⁸

⁷ Recurso Online de la empresa Newport, *Introduction to FTIR Spectroscopy* [<https://www.newport.com/n/introduction-to-ftir-spectroscopy>]

⁸ B. Stuart, B. George and P. McIntyre, *Modern Infrared Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd, 1996

1.3.1. Manipulación de espectros

Los espectrómetros de infrarrojo modernos ofrecen la posibilidad de aplicar una serie de técnicas que ayudan con la interpretación tanto cualitativa como cuantitativa del espectro⁸:

- Corrección de la línea base. Es usual en la espectroscopía infrarroja cuantitativa utilizar una línea de base que une los puntos de menor absorbancia del pico, preferiblemente en partes reproducibles de la línea de absorción. Entonces, se utiliza la diferencia de absorbancia entre la línea base y la parte superior de la banda.
- Compensación atmosférica. Es común que en el espectro resultante se obtengan bandas típicas de compuestos presentes en la atmósfera activas en infrarrojo, como son el dióxido de carbono (CO₂) y el agua (H₂O), lo cual puede conducir a errores a la hora de asignar las bandas de interés. Con esta técnica se eliminan dichas bandas del espectro. No obstante, hay espectrofotómetros que presentan la opción de realizar el espectro al vacío, por lo que no es necesario realizar dicha operación.
- Suavizado. El ruido de fondo de un espectro se puede disminuir mediante la técnica del suavizado. Después de que un espectro se suaviza se vuelve similar al resultado de un experimento con menor resolución. La función de suavizado es básicamente una convolución entre el espectro y un vector, cuyos puntos están determinados de acuerdo al suavizado que se elige aplicando un factor de degradación, que será un número entero positivo. Un valor bajo sólo producirá cambios sutiles, mientras que un valor alto tiene un efecto más pronunciado en el espectro.
- Derivación. Las técnicas de derivación se han utilizado durante mucho tiempo en espectroscopía UV-vis cuantitativa, dando un doble beneficio:
 - La resolución se acentúa en la primera derivada ya que se observan los cambios en el gradiente.
 - En la segunda derivada se obtiene un pico negativo para cada banda y hombro en el espectro de absorción.

La ventaja de la derivación se aprecia con mayor facilidad en espectros más complejos, ya que permite resolver y localizar picos en un entorno. Las bandas más estrechas ganan resolución a expensas de las anchas, lo que permite la selección de un pico incluso si hay una banda ancha por debajo de ella. Actualmente, en espectrómetros FTIR modernos, es posible aplicar lo que se conoce como la "derivación de Fourier". Durante este proceso el espectro se transforma en un interferograma. Se multiplica por una función de ponderación adecuada y finalmente se retransforma para dar la derivada, proporcionando una mayor sensibilidad.

1.3.2. Determinación de la concentración

Lambert, en el siglo XVIII, determinó que la cantidad de luz transmitida por una muestra sólida era dependiente del grosor de la muestra. Esto se extendió durante el siglo siguiente a las disoluciones, determinado por Beer. La Ley de Lambert-Beer resultante puede derivarse teóricamente y se aplica a toda radiación electromagnética. La absorbancia de una disolución es directamente proporcional al grosor y a la concentración de la muestra mediante la siguiente expresión:⁸

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

donde A es la absorbancia de la disolución, c es la concentración y l es la longitud de trayectoria de la muestra. La constante de la proporcionalidad suele darse con el símbolo épsilon (ε), y se denomina coeficiente de absorción molar.

Se puede demostrar que la absorbancia (A) es igual a la diferencia entre los logaritmos de la intensidad de la luz que entra en la muestra (I_0) y la intensidad de la luz transmitida (I) por la muestra:

$$A = \log(I_0) - \log(I) = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

La absorbancia (A) es, por tanto, adimensional.

La transmitancia (T) se define por la siguiente relación:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

y % de transmitancia (% T) como:

$$\%T = 100 \cdot T$$

Por lo tanto, se sigue que:

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\log(T)$$

De las cuales se puede deducir la siguiente expresión:

$$A = -\log\left(\frac{\%T}{100}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Cuando se usan valores de % transmitancia (% T) es fácil relacionar y comprender los números. Por ejemplo, el 50% de transmitancia significa que la mitad de la luz se transmite y la mitad se absorbe.

La ley de Lambert-Beer dice que la representación de la absorbancia (A) frente a la concentración (c) debe ser lineal, pasando a través del origen. Sin embargo, en medidas cuantitativas, hay algunos factores que se deben tener en cuenta al llevar a cabo esta aproximación:⁸

- Preparación de disoluciones de concentración conocida. Las concentraciones tienen que dar unos valores sensibles de absorbancia, no demasiado débiles y no demasiado intensos.
- Elegir un pico adecuado. Para proporcionar a la técnica la máxima sensibilidad posible, se debe elegir un pico intenso. Sin embargo, los espectros de infrarrojo suelen tener muchos picos, a veces superpuestos. Es necesario encontrar un pico aislado de los otros, con un alto coeficiente de absorción molar.
- Realizar las medidas en absorbancia. Es necesario realizar mediciones cuantitativas con el espectro de absorbancia. Por tanto, el espectro de transmitancia se debe convertir en espectro de absorbancia. La mayoría de los espectrómetros tienen este proceso incorporado en su software.

1.4. Espectros de Infrarrojo en disolución

En la mayoría de los casos, los espectros moleculares UV-vis se obtienen a partir de disoluciones del analito. Para conseguir que las medidas de absorbancia se encuentren dentro del intervalo óptimo, se ajusta la concentración de la muestra y el espesor de la celda o cubeta. Por lo general, esta práctica no es aplicable en la espectroscopía IR porque no existen buenos disolventes que sean transparentes en toda la región espectral de interés. Por consiguiente, la

preparación de la muestra es, por lo general, la parte más difícil del análisis espectrométrico IR y la que requiere más tiempo.

Siempre que sea posible, es conveniente obtener el espectro IR de disoluciones preparadas de tal manera que contengan una concentración conocida de la muestra, como se hace por lo regular en espectrometría UV-vis.

1.4.1. Importancia del disolvente

En la figura 1.4.1. se enumeran los disolventes más comunes que se utilizan en los estudios espectroscópicos IR de compuestos orgánicos. En esta figura se puede ver que no existe un solo disolvente que sea transparente en toda la región del infrarrojo medio.

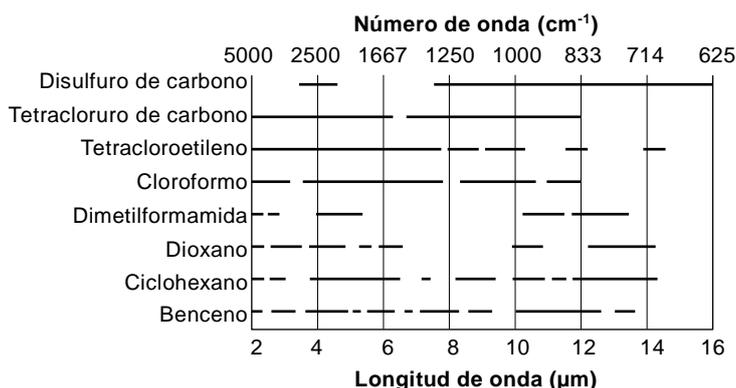


Figura 1.4.1. Disolventes para espectroscopia en la región del infrarrojo. Las líneas horizontales indican las regiones útiles.²

El agua y los alcoholes son difíciles de usar como disolventes en la espectrometría IR. El agua manifiesta varias bandas de absorción en la región IR, por lo que su uso queda muy limitado. Para obtener el espectro de un analito disuelto en agua, se debe obtener el espectro diferencia entre el espectro del agua y el espectro de la disolución.

Además, el agua y los alcoholes atacan a los haluros de metales alcalinos utilizados en las ventanas de las cubetas (Tabla 1.4.1). Por consiguiente, los materiales insolubles en agua que se usan para manufacturar las ventanas, se deben utilizar con dichos disolventes. Es necesario trabajar en condiciones anhidras siempre que se utilicen los disolventes enumerados en la figura 1.4.1 antes de usarlos con las celdas típicas.

Tabla 1.4.1. Materiales comunes para ventanas utilizadas en espectros de infrarrojo en disolución.^{2,9}

Material	Intervalos aplicables (cm ⁻¹)	Solubilidad en agua (g/100g H ₂ O, 20°C)
Cloruro de sodio	40.000-625	36,0
Bromuro de potasio	40.000-385	65,2
Cloruro de potasio	40.000-500	34,7
Yoduro de cesio	40.000-200	160,0
Sílice fundida	50.000-2500	Insoluble
Fluoruro de Calcio	50.000-1100	1,51·10 ⁻³
Fluoruro de bario	50.000-770	0,12 (25°C)
Yoduro-bromuro de talio, KRS-5	16.600-250	< 0,0476
Bromuro de plata	20.000-285	1,2·10 ⁻⁷
Irtran-2, sulfuro de zinc	10.000-715	Insoluble
Irtran-4, seleniuro de zinc	10.000-515	Insoluble
Polietileno	625-30	Insoluble

⁹ P. B. Coleman, *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*, Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993

Además, debe tenerse en cuenta la polaridad del disolvente a la hora de realizar la disolución del analito en cuestión. La interacción soluto-disolvente provoca el desplazamiento de las bandas de tensión de los enlaces presentes en el analito. Cuanto mayor sea esta interacción, la frecuencia de tensión de los grupos que interaccionan directamente con el disolvente, será menor.¹⁰

En ocasiones, resulta conveniente utilizar disolventes deuterados, por ejemplo, CDCl_3 y D_2O . Los disolventes deuterados tienen absorbancias en la región infrarroja similares a sus análogos hidrogenados. Sin embargo, las regiones de alta absorbancia se desplazan en los espectros de disolventes deuterados debido al efecto isotópico del deuterio sobre las vibraciones moleculares (Ver figura 1.4.2). Por lo tanto, la vibración de tensión del enlace C-D y O-D, en CDCl_3 y D_2O respectivamente, no solapan las posibles vibraciones de los enlaces C-H y/o O-H que pueda presentar el soluto.¹¹

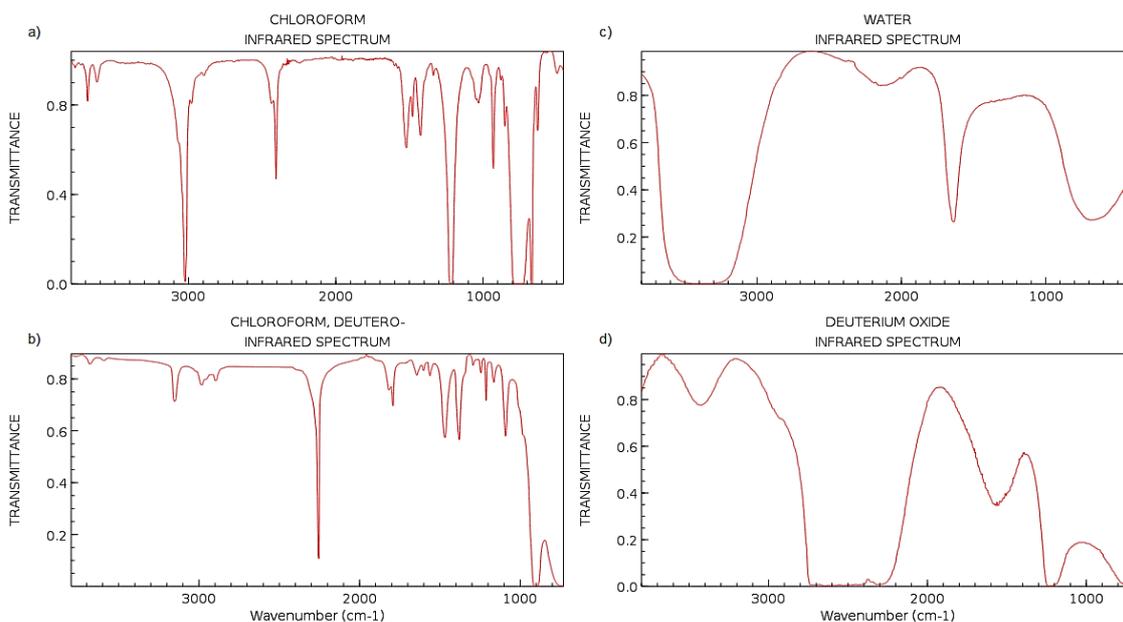


Figura 1.4.2. Espectros IR de disolventes: a) CHCl_3 , b) CDCl_3 , c) H_2O y d) D_2O .¹²

El motivo por el cual las frecuencias de vibración de los enlaces C-D y O-D se desplazan respecto a las de los enlaces C-H y O-H se le denomina “desplazamiento isotópico”. Mediante el modelo del oscilador armónico, que incorpora la Ley de Hooke¹³, podemos suponer el enlace entre dos átomos como dos masas (m_1 y m_2) unidas por un muelle (Figura 1.4.3).

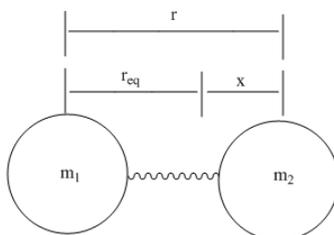


Figura 1.4.3. Representación de un enlace cuando los átomos experimentan una vibración y aumentan su separación una distancia x .¹⁴

¹⁰ M. Ikram, M. A. Rauf, M. H. Bhatti and S. Shaheen, *Jour. Chem. Soc. Pak.* **1999**, 21, 356-358.

¹¹ R. White, *Chromatography/Fourier Transform Infrared Spectroscopy and its Applications*, CRC Press, **1989**

¹² Se trata de un libro electrónico de libre acceso del NIST (National Institute of Standards and Technology): *Chemistry WebBook (Versión traducida al español)*. Base de Datos de Referencia Estándar del NIST Número 69, [<http://webbook.nist.gov/chemistry/>]

¹³ Recurso online del portal Hyperphysics, *Hooke's Law* [<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/permot2.html>]

¹⁴ Recurso online del portal Libretexts: Chemistry, *Isotope Effects in Vibrational Spectroscopy* [http://chem.libretexts.org/Core/Physical_and_Theoretical_Chemistry/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Vibrational_Modes/Isotope_effects_in_Vibrational_Spectroscopy]

El conjunto de las dos masas enlazadas se denomina masa reducida (μ), a partir de la cual se pueden analizar sus vibraciones matemáticamente. La masa reducida se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$$

Cuando se sustituye un átomo de la molécula por un isótopo del mismo elemento, la masa varía, por lo que la masa reducida (μ) se ve afectada, mientras que la constante de fuerza del enlace (k) no se ve afectada. Este cambio en la masa reducida afecta a los modos de vibración de la molécula, provocando cambios en el espectro de vibración.

Los niveles de energía vibracional (ν), que dependen de la constante de fuerza (k) y de la masa reducida (μ), pueden calcularse mediante la siguiente expresión:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

de donde se deduce que la frecuencia de vibración es inversamente proporcional a la masa reducida.¹³

1.5. FTIR como método de caracterización de complejos y agregados moleculares

Los complejos y agregados moleculares (ver ejemplo en Figura 1.5.1) son entidades presentes en la naturaleza de gran interés en el campo de la biología, bioquímica, química bioinorgánica, bioquímica y supramolecular.

Están formados por subunidades que interactúan entre sí mediante enlaces no covalentes. Estas interacciones explican la estructura tridimensional que presentan y, con ello su función biológica, por lo que la posibilidad de determinar y cuantificar dichas interacciones es fundamental para su estudio y comprensión.

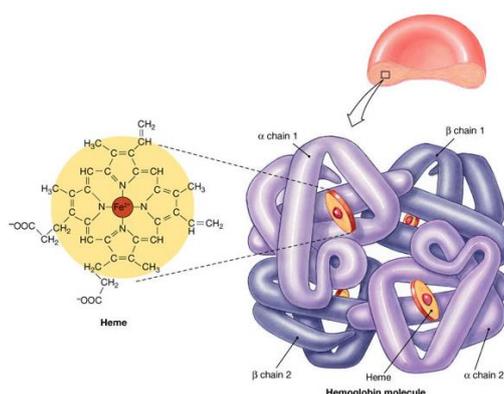


Figura 1.5.1. Representación de la hemoglobina. En morado se indican las 4 subunidades proteicas (agregados moleculares) que forman la hemoglobina. En amarillo se representa el grupo "hemo" (complejo de Fe^{2+}) presente en cada subunidad proteica.¹⁵

1.5.1. Interacciones moleculares

Las fuerzas o interacciones moleculares son fuerzas atractivas o repulsivas, de naturaleza no covalente, entre moléculas. Las interacciones moleculares ubicuas, están presentes en todo tipo de macromoléculas naturales: proteínas, ácidos nucleicos, etc. Regulan la acción terapéutica

¹⁵ Recurso online del Dr. Namrata Chhabra: Biochemistry for Medics, Structure of Normal Hemoglobin [<http://www.namrata.co/category/hemoglobin-and-hemoglobinopathies/structure-of-normal-hemoglobin/>]

de fármacos (interacciones fármaco-proteína), son responsables del comportamiento macroscópico de materiales nanotecnológicos y de la estructura cristalina de moléculas en estado sólido, etc.¹⁶

Las interacciones moleculares se dividen en dos grandes grupos:

- Interacciones intermoleculares. Si las interacciones se producen entre átomos de moléculas diferentes.
- Interacciones intramoleculares. Si las interacciones se producen entre átomos de una misma molécula.

Las interacciones moleculares típicas son: interacciones dipolares y multipolares, interacciones de apilamiento o “stacking”, interacciones por enlace de hidrógeno e interacciones dispersivas. Entre éstas, las interacciones moleculares del tipo enlace de hidrógeno son muy significativas. Se trata de una interacción dipolar de naturaleza mayoritariamente electrostática del tipo $X-H\cdots Y$, donde un átomo de hidrógeno enlazado covalentemente a un átomo electronegativo ($X = F, O, N$), átomo donador, interactúa con un segundo átomo electronegativo (Y) que tiene un par de electrones disponible y que se denomina como átomo aceptor. Tanto el aceptor como el dador de enlaces de hidrógeno deben tener cierto carácter electronegativo.

1.5.2. Consecuencias en el espectro IR

Las fuerzas intermoleculares son las responsables de la distribución en el espacio de diferentes subunidades mediante la interacción de grupos funcionales, formando el complejo o agregado molecular en cuestión. Estas interacciones explican la estructura que presentan dichas entidades macromoleculares y supramoleculares.

Como consecuencia de estas interacciones, la energía vibracional de los enlaces de los grupos funcionales de las diferentes subunidades que interactúan, varíe respecto a la que presentaría si la subunidad se encontrara “libre”, debido a que la vibración tensión y flexión del enlace del grupo funcional en cuestión queda restringida por la interacción con otra subunidad, por lo que la frecuencia de vibración disminuye.

Es por ello, que la espectroscopía infrarroja puede ser un método válido para determinar el tipo de estructura que presentan entidades macromoleculares^{17,18} y como interactúan diferentes macromoléculas entre sí.^{19,20,21} A partir de la variación de la energía vibracional de grupos funcionales con tendencia a interactuar con otros, como son los grupos CO^{22} , CH^{23} , $NH^{24,25}$, OH^{26} , NO_2 y composición de grupos como amidas ($CO-NH$)²⁷ o ureas ($NH-CO-NH$)²⁸.

1.5.3. Deconvolución de espectros

Uno de los inconvenientes a la hora de interpretar espectros de infrarrojo es el solapamiento de bandas que se producen en las diferentes longitudes de onda, debido a la absorción de la

¹⁶ Recurso online del Dr. L. D. Williams: Chemistry and Biochemistry, *Molecular Interactions (Noncovalent Interactions)* [http://ww2.chemistry.gatech.edu/~lw26/structure/molecular_interactions/mol_int.html#CVN]

¹⁷ J. Kong and S. Yu, *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **2007**, *39*, 549-559.

¹⁸ F.S. Ruggeri, G. Longo, S. Faggiano, E. Lipiec, A. Pastore and G. Dietler, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 1-9.

¹⁹ E. Pauthe, J. Pelta, S. Patel, D. Lairez, F. Goubard, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1597*, 12-21.

²⁰ C. Hetényi, Z. Szabó, É. Klement, Zsolt Datki, T. Körtvélyesi, M. Zarándi and B. Penke, *Bioch. Biophys. Res. Commun.* **2002**, *292*, 931-936.

²¹ C. Nicolescu, C. Arama and C. M. Monciu, *Farmacia* **2010**, *58*, 78-88.

²² M. Falk, M. Gil and N. Iza, *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 1293-1299.

²³ S. Saha, L. Rajput, S. Joseph, M. K. Mishra, S. Ganguly and G. R. Desiraju, *CrystEngComm* **2015**, *17*, 1273-1290.

²⁴ Ph. De Groote, P. G. Rouxhet, J. Devaux and P. Godard, *Appl. Spectrosc.* **2001**, *55*, 877-887.

²⁵ G. Lessene, B. J. Smith, R. W. Gable and J. B. Baell, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6511-6525.

²⁶ N. Nemoto, T. Kiyohara, Y. Tsunashima and M. Kurata, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.* **1983**, *61*, 203-213.

²⁷ J. Yang, M. B. Dewal, D. Sobransingh, M. D. Smith, Y. Xu and L. S. Shimizu, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 102-110.

²⁸ C. M. A. Leenders, M. B. Baker, I. A. B. Pijpers, R. P. M. Lafleur, L. Albertazzi, A. R. A. Palmans and E. W. Meijer, *Soft Matter* **2016**, *12*, 2887-2893.

radiación de diferentes enlaces moleculares que vibran en una frecuencia muy próxima. Este hecho provoca un aumento de la amplitud de la banda. La suma de todas estas bandas forma lo que se denomina como espectro compuesto. Tratar de identificar las bandas de la mejor manera posible sin que afectemos al aumento del ruido espectral, es importante para detectar presencia de analitos.

La deconvolución es el proceso de compensar los anchos de banda intrínsecos con el fin de obtener bandas superpuestas. La técnica produce espectros que tienen bandas mucho más estrechas y es capaz de distinguir bandas de frecuencia similar (ver Figura 1.5.2). La resolución del instrumento no se incrementa, pero la capacidad de diferenciar características espectrales se puede mejorar significativamente.⁸

Para ello, se debe hacer un tratamiento matemático que permita separar las bandas que componen el espectro compuesto. Existen espectrofotómetros que presentan en su software tratamientos para corregir la dispersión de la radiación que afectan de una manera importante al espectro. Otra alternativa es el uso de softwares externos de tratamiento de datos experimentales.

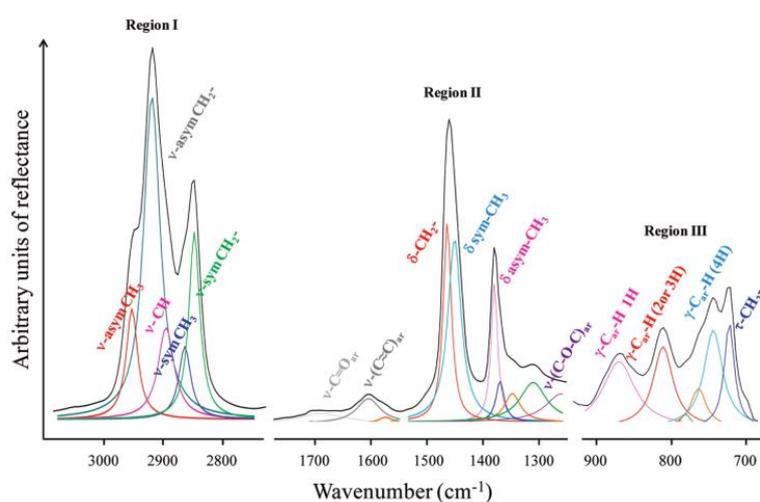


Figura 1.5.2. Ejemplo de deconvolución de un espectro IR de una muestra destilada de residuo de crudo colombiano.²⁹ Se muestra en negro el espectro completo y con diferentes colores las bandas que forman el espectro compuesto en regiones seleccionadas del infrarrojo.

1.6. Moléculas de estudio

1.6.1. Escuaramidas

Las escuaramidas son un tipo de compuestos derivados del ácido escuárico³⁰ (Figura 1.6.1a), que presentan anillo de un ciclobuteno dicarbonílico con uno o dos sustituyentes amínicos variables (Figura 1.6.1b y 1.6.1c).

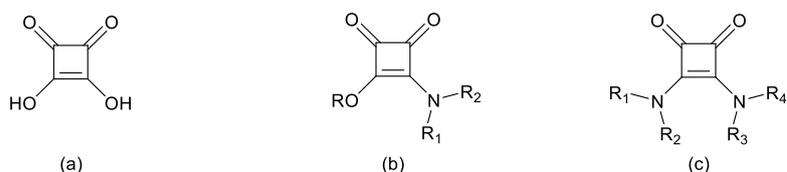


Figura 1.6.1. Estructura del ácido escuárico y sus derivados amínicos. En la figura (a) se indica la estructura del ácido escuárico, en la figura (b) se indica la estructura de escuaramidas con un sustituyente amínico (semiésteres escuárico), en la figura (c) se indica la estructura de escuaramidas con dos sustituyentes amínicos.

²⁹ J. A. Orrego-Ruiz, A. Guzmán, D. Molina and E. Mejía-Ospino, *Energy Fuels*, **2011**, *25*, 3678-3686.

³⁰ Se refiere al compuesto 3,4-dihidroxi-3-ciclobuten-1,2-diona

Son una clase de compuestos de gran relevancia debido a sus propiedades selectivas en el reconocimiento molecular de iones^{31,32} y como catalizadores³³. Además, presentan una gran estabilidad frente a ataques nucleofílicos y una gran capacidad de formar enlaces de hidrógeno (Figura 1.6.2)³⁴, lo que les hace candidatos potenciales para numerosas aplicaciones biológicas, especialmente como agentes activos en biología y química médica³⁵.

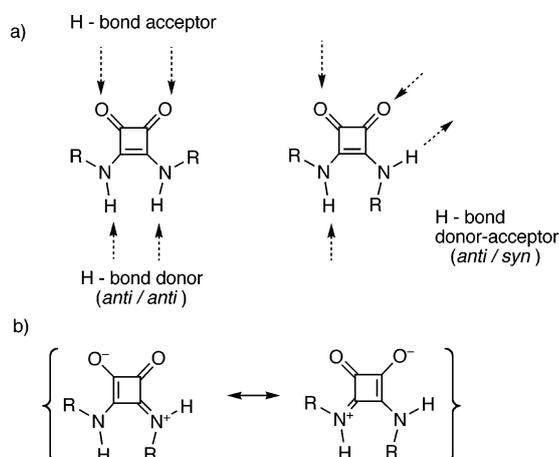


Figura 1.6.2. Representación general de los dos conformémeros (anti/anti y anti/syn) de escuaramidas con monosustitución en los grupos amino. En la figura (a) se representan las opciones de enlace de hidrógeno de los conformémeros, en la figura (b) se representan las formas Zwitteriónicas.³⁴

1.6.2. ϵ -Caprolactama

La ϵ -Caprolactama es una amida cíclica de 7 miembros (Figura 1.6.3), derivada del ácido caprónico. Es un compuesto de interés industrial, ya que es el precursor del nylon-6.

Es un compuesto relacionado con las escuaramidas y el estudio de dimerización vía enlace de hidrógeno se encuentra en la bibliografía. Por tanto, permite determinar la validez del método y modelo de agregación propuestos para los compuestos de base escuaramida.

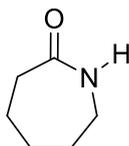


Figura 1.6.3. Estructura de la ϵ -Caprolactama.

³¹ S. Tomás, R. Prohens, M. Vega, C. Rotger, P. M. Deyà, P. Ballester and A. Costa, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9394-9401.

³² E. Sanna, L. Martínez, C. Rotger, S. Blasco, J. González, E. García-España and A. Costa, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3840-3843.

³³ J. Alemán, A. Parra, H. Jiang and K. A. Jørgensen, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6890-6899.

³⁴ C. Rotger, N. Piña, A. Frontera, G. Martorell, P. Ballester, P.M. Deyà and A. Costa, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2302-2308.

³⁵ R. I. Storer, C. Aciro and L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2330-2346.

2. Objetivos

Los objetivos marcados en este trabajo son los siguientes:

- Estudiar la posibilidad de aplicar técnicas de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para el estudio de agregación vía N-H de una serie de moléculas de base escuaramida mediante interacciones del tipo enlace de hidrógeno en disolución no acuosa.
- Poner a punto una metodología experimental y un modelo matemático en base a un modelo de agregación molecular a partir del cual se obtendrán las constantes de equilibrio. Para ello se llevará a cabo un estudio y optimización de parámetros y condiciones de trabajo utilizando como referencia resultados publicados para estas mismas moléculas con otras técnicas ($^1\text{H-RMN}$).
- Contrastar los resultados obtenidos con los correspondientes a un compuesto análogo a los estudiados que esté descrito en la bibliografía (ϵ -Caprolactama) para constatar la validez del método.
- Realizar estudios de agregación molecular en medios acuosos mediante FTIR sobre un material de tipo hidrogel.

3. Resultados y discusión

3.1. Estudio IR de agregación vía N-H

3.1.1. Compuestos de base escuaramida

Se han seleccionado 5 compuestos de base escuaramida (Figura 3.1.1) como objeto de estudio de agregación vía enlace N-H mediante enlace de hidrógeno. El compuesto **2** ha sido sintetizada y caracterizada como se indica en el apartado "Parte experimental", mientras que el resto (**1**, **3**, **4** y **5**) han sido proporcionadas por el grupo de *Química Supramolecular (SUPRAMOL)*.

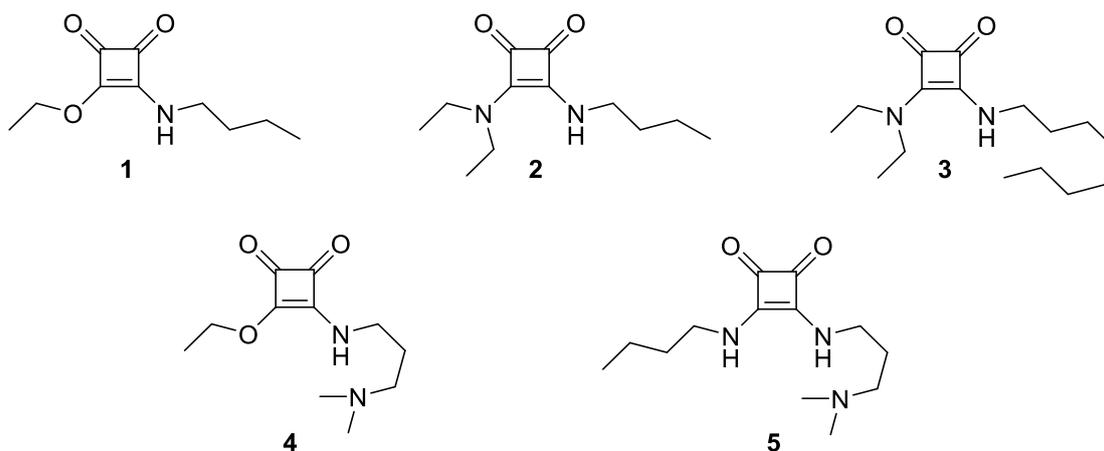
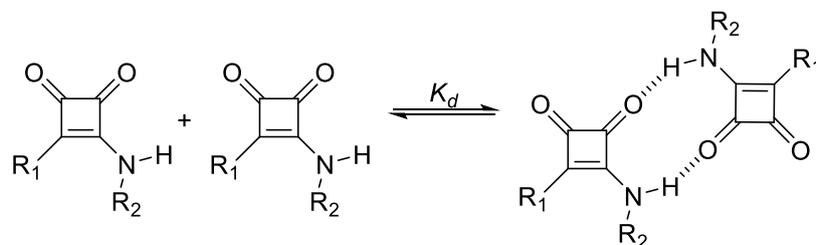


Figura 3.1.1. Estructuras de los compuestos de base escuaramida 1-5 seleccionados.

Como modelo de agregación se ha propuesto el modelo de dimerización simple del tipo $2A = A_2$ (Figura 3.1.2).



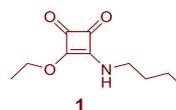
- 1: $R_1 = \text{OEt}$; $R_2 = \text{nBu}$
- 2: $R_1 = \text{N}(\text{Et})_2$; $R_2 = \text{nBu}$
- 3: $R_1 = \text{N}(\text{Et})_2$; $R_2 = \text{nOc}$
- 4: $R_1 = \text{OEt}$; $R_2 = \text{Pr-N}(\text{Me})_2$
- 5: $R_1 = \text{NH}(\text{nBu})$; $R_2 = \text{Pr-N}(\text{Me})_2$

Figura 3.1.2. Modelo de agregación propuesto para los compuestos 1-5.

El estudio de dimerización se ha realizado en diferentes disolventes (CHCl_3 , CCl_4 y CDCl_3) para determinar la influencia de éste en la constante de dimerización (K_d). En algunos casos, no se han podido realizar los estudios de dimerización de todos los compuestos CCl_4 por problemas de solubilidad, ya que es muy apolar y no ha sido posible preparar una disolución de una concentración moderada. Respecto al CHCl_3 , éste se reemplazó por su análogo deuterado (CDCl_3) para evitar el solapamiento de la banda de N-H con la banda de C-H propia del disolvente. Los espectros IR se han realizado con un paso óptico de $600 \mu\text{m}$. El rango de frecuencias elegido está en la zona que abarca la vibración de tensión del enlace N-H tanto libre como agregado ($3550\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$ aproximadamente).

3.1.1.1. Agregación en CHCl_3

- **Compuesto 1**



Se ha realizado el espectro IR de 7 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 3.1.3). Se ha elegido el intervalo 3450-3180 cm^{-1} .

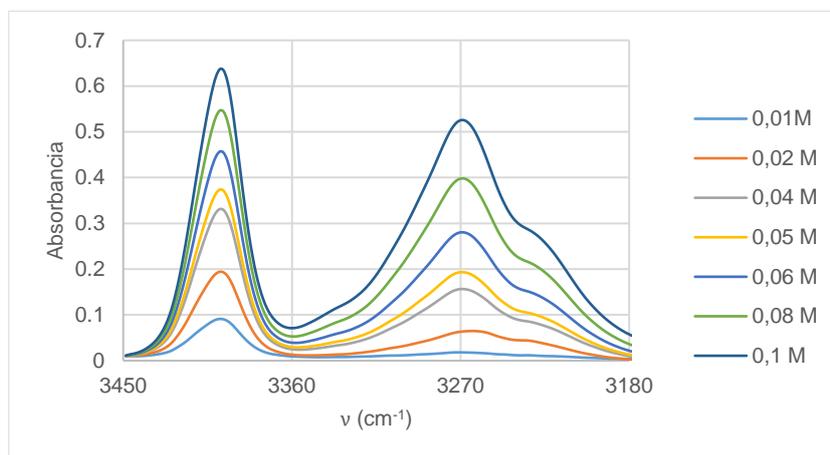


Figura 3.1.3. Espectro IR del compuesto **1** en CHCl_3 en el intervalo 3450-3180 cm^{-1} .

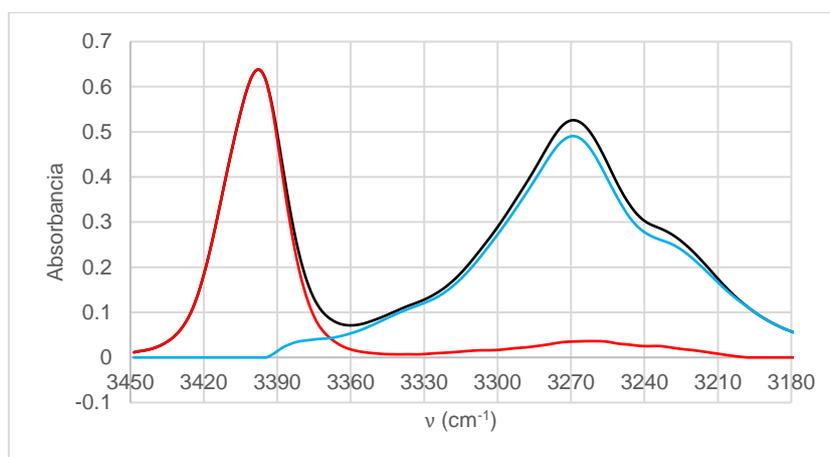


Figura 3.1.4. Deconvolución del espectro IR del compuesto **1** en CHCl_3 (0,1 M). En **negro** se indica el espectro IR del compuesto **1** (0,1 M), en **rojo** se indica el monómero y en **azul** el dímero.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

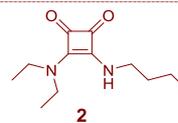
Tabla 3.1.1. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **1** en CHCl_3 .

$\nu_{\text{N-H (libre)}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{N-H (agregado)}} (\text{cm}^{-1})$	$\log\beta$	$K_d (\text{M}^{-1})$
3398	3273	$0,970 \pm 0,076$	$9,34 \pm 1,19$

El grupo de Química Supramolecular publicó el estudio de dimerización del compuesto **1** mediante resonancia magnética nuclear (^1H -RMN) en cloroformo como disolvente³⁴, obteniéndose una constante de dimerización $K_d = 13 \pm 1,5 \text{ M}^{-1}$ ($T = 294 \text{ K}$)³⁴, resultado que no varía significativamente del obtenido por espectroscopía IR, por lo que se puede afirmar que el valor obtenido es correcto.

3.1.1.2. Agregación en CDCl_3

• Compuesto 2



Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 3.1.5). Se ha elegido el intervalo $3550\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$.

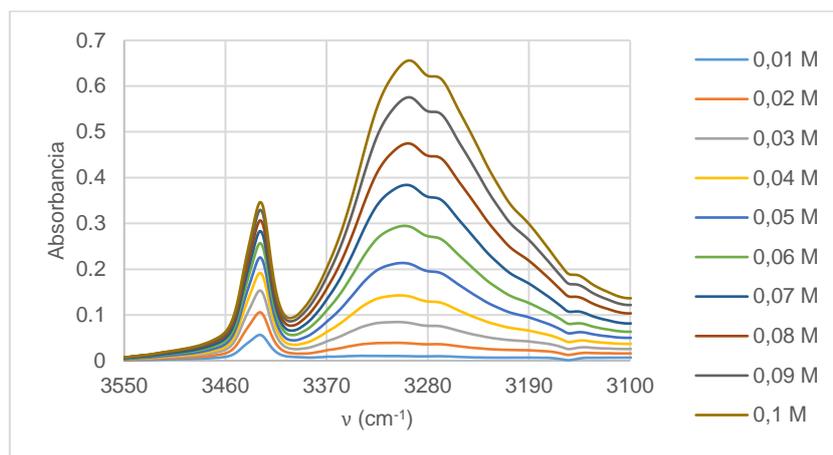


Figura 3.1.5. Espectro IR del compuesto **2** en CDCl_3 en el intervalo $3450\text{--}3180\text{ cm}^{-1}$.

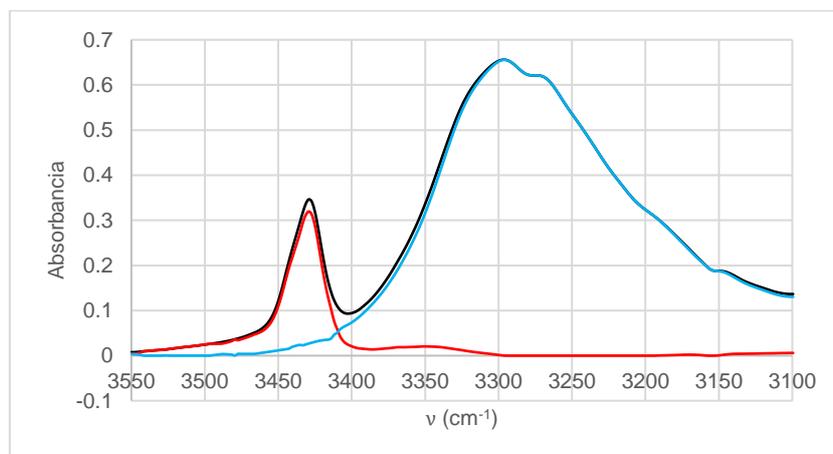


Figura 3.1.6. Deconvolución del espectro IR del compuesto **2** en CDCl_3 (0,1 M). En **negro** se indica el espectro IR del compuesto **2** (0,1 M), en **rojo** se indica el monómero y en **azul** el dímero.

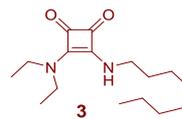
Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.2. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **2** en CDCl_3 .

$\nu_{\text{N-H}}(\text{libre})$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{N-H}}(\text{agregado})$ (cm^{-1})	$\log\beta$	K_d (M^{-1})
3429	3294	$0,373 \pm 0,008$	$2,36 \pm 1,02$

El compuesto **2** se adapta al modelo de agregación propuesto. El valor tan bajo de la constante de dimerización (K_d) puede deberse al impedimento estérico que provocan los grupos alquilo presentes en los grupos amino.

- **Compuesto 3**



Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 3.1.7). Se ha elegido el intervalo 3500-3100 cm^{-1} .

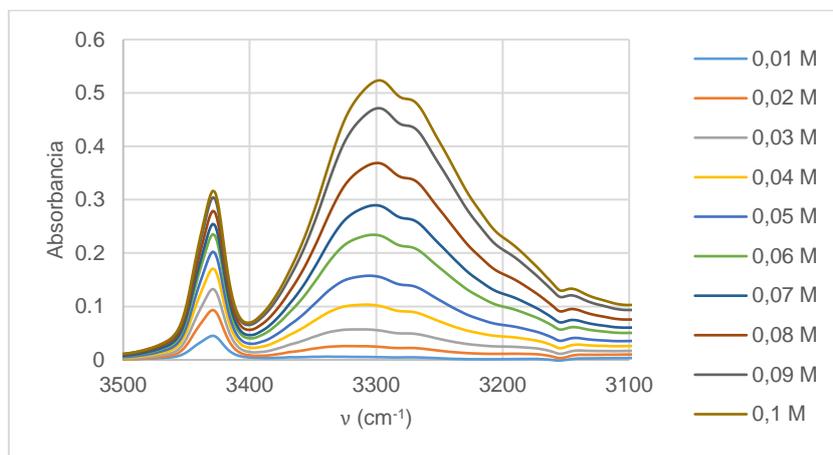


Figura 3.1.7. Espectro IR del compuesto **3** en CDCl_3 en el intervalo 3500-3100 cm^{-1} .

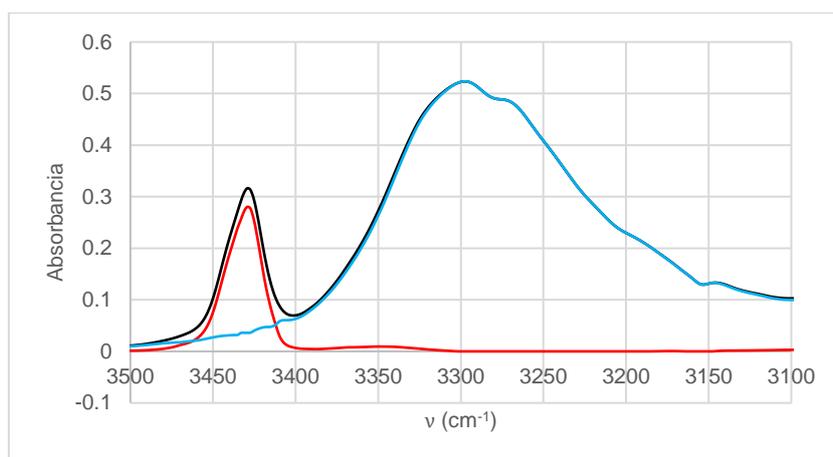


Figura 3.1.8. Deconvolución del espectro IR del compuesto **3** en CDCl_3 (0,1 M). En **negro** se indica el espectro IR de la compuesto **3** (0,1 M), en **rojo** se indica el monómero y en **azul** el dímero.

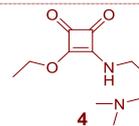
Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.3. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **3** en CDCl_3 .

$\nu_{\text{N-H (libre)}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{N-H (agregado)}} (\text{cm}^{-1})$	$\log\beta$	$K_d (\text{M}^{-1})$
3429	3298	$0,139 \pm 0,014$	$1,38 \pm 1,03$

El compuesto **3** presenta un espectro y deconvolución análogos al compuesto **2**, ya que se adapta al modelo de agregación propuesto y presenta un valor bajo de constante de dimerización (K_d). Lo que sugiere que las escuaramidas con dos sustituyentes amínicos del tipo NEt_2 y NHR , donde "R" es una cadena alquílica lineal, presentan un comportamiento similar sea cual sea la longitud de la cadena alquílica "R".

- **Compuesto 4**



Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 3.1.9). Se ha elegido el intervalo 3460-3100 cm^{-1} .

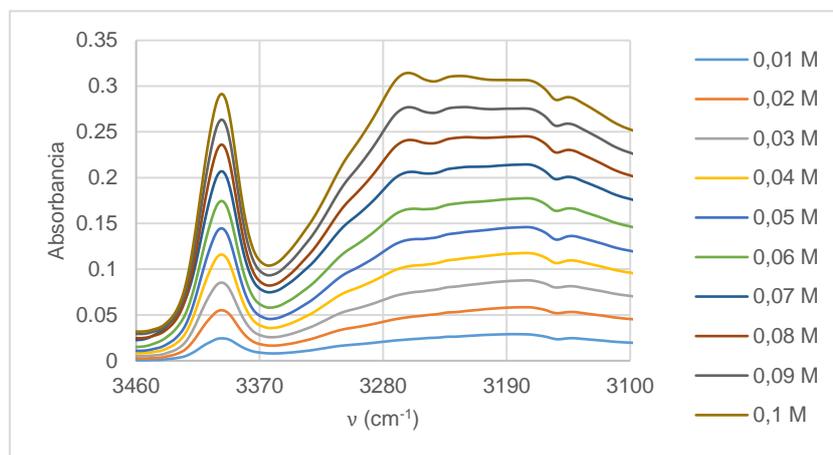


Figura 3.1.9. Espectro IR del compuesto **4** en CDCl_3 en el intervalo 3480-3100 cm^{-1} .

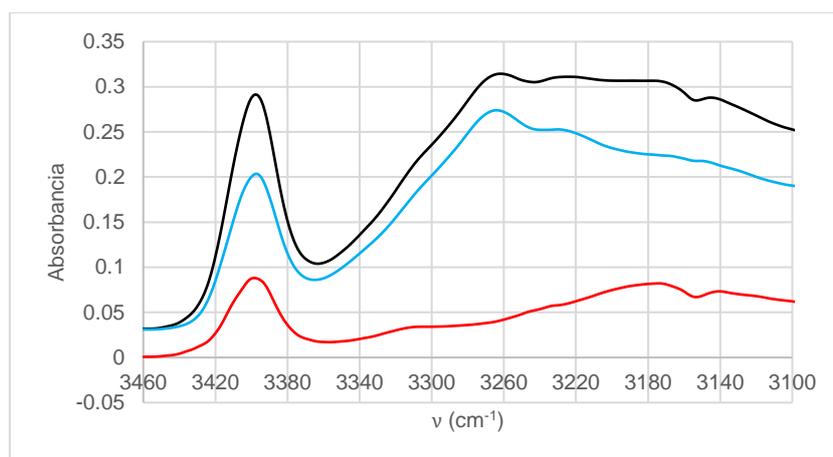


Figura 3.1.10. Deconvolución del espectro IR del compuesto **4** en CDCl_3 (0,1 M). En **negro** se indica el espectro IR del compuesto **4** (0,1 M), en **rojo** se indica el monómero y en **azul** el dímero.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.4. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **4** en CDCl_3 .

$\nu_{\text{N-H (libre)}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{N-H (agregado)}} (\text{cm}^{-1})$	$\log\beta$	$K_d (M^{-1})$
3398	3265	$0,501 \pm 0,043$	$3,17 \pm 1,10$

La deconvolución del espectro sugiere que el modelo de dimerización propuesto no se ajusta al compuesto **4**. Este hecho puede deberse a la posibilidad de presentar un enlace de hidrógeno intramolecular (Figura 3.1.11)³⁴, por lo que la banda de N-H (agregado) no es una referencia válida para determinar la formación de un dímero.

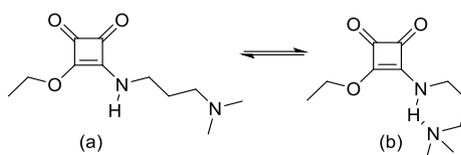
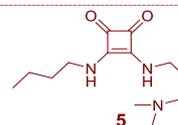


Figura 3.1.11. Esquema del equilibrio de formación de enlace de hidrógeno intramolecular del compuesto **4**. La figura (a) indica la estructura sin enlace de hidrógeno. La figura (b) indica la estructura con enlace de hidrógeno.³⁴

- **Compuesto 5**



Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 3.1.12). Se ha elegido el intervalo 3550-3050 cm^{-1} .

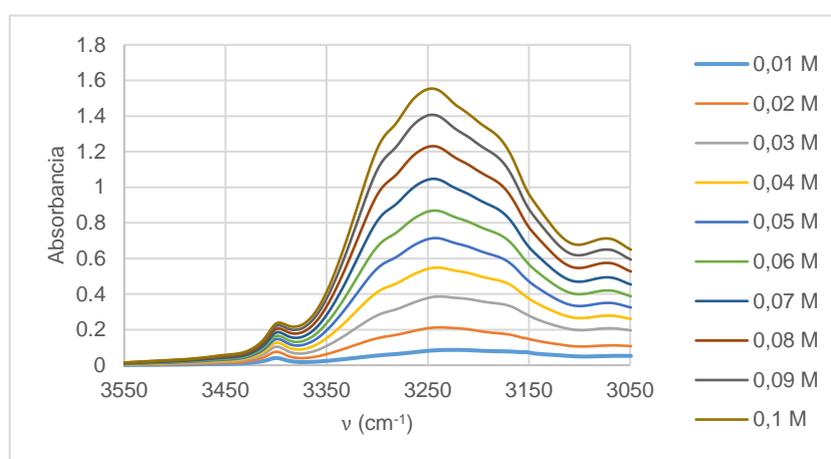


Figura 3.1.12. Espectro IR del compuesto **5** en CDCl_3 en el intervalo 3550-3050 cm^{-1} .

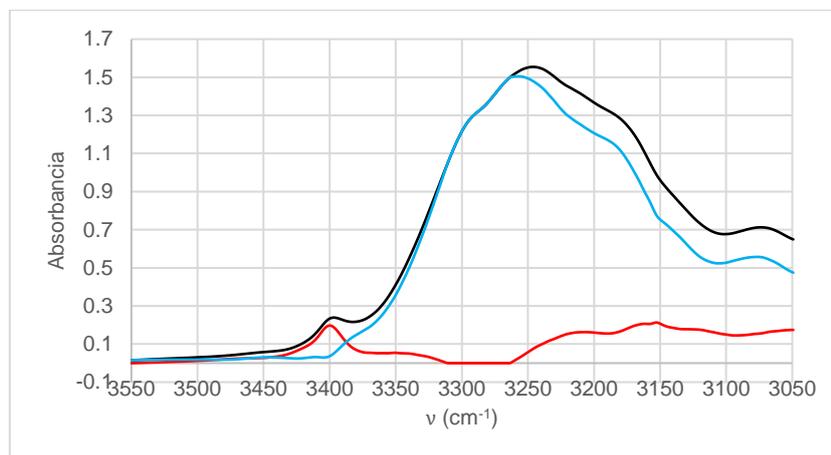


Figura 3.1.13. Deconvolución del espectro IR del compuesto **5** en CDCl_3 (0,1 M). En **negro** se indica el espectro IR del compuesto **5** (0,1 M), en **rojo** se indica el monómero y en **azul** el dímero.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.5. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **5** en CDCl_3 .

$\nu_{\text{N-H}}(\text{libre})$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{N-H}}(\text{agregado})$ (cm^{-1})	$\log\beta$	K_d (M^{-1})
3400	3254	$1,685 \pm 0,010$	$48,37 \pm 1,02$

El compuesto **5** no se adapta al esquema de dimerización propuesto en la Figura 4.1.2 de tipo $2A = A_2$. Estudios anteriores,³⁴ han demostrado que la escuaramida **5** sigue un esquema de agregación como el mostrado en la Figura 3.1.14³⁴. En el espectro IR este comportamiento se traduce en la aparición de una banda compleja ancha en la zona $3300\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$, que concuerda con la existencia de varias especies agregadas.

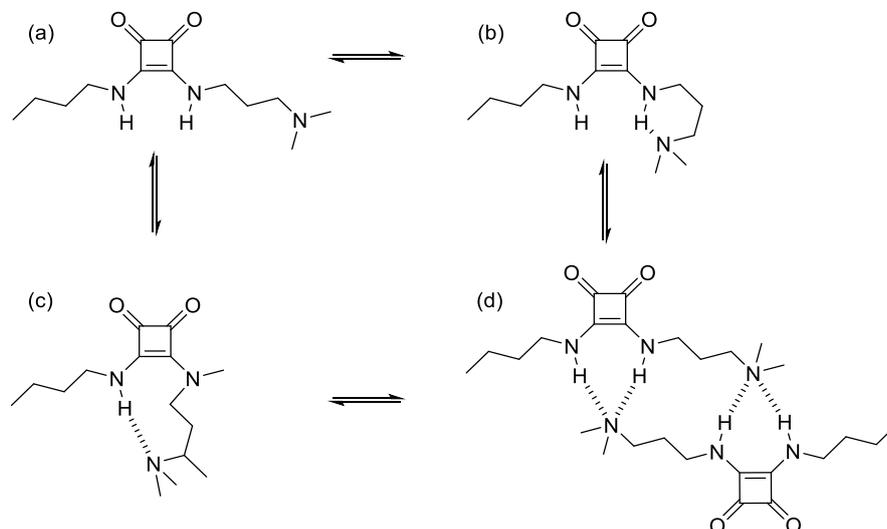
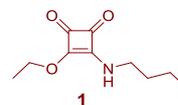


Figura 3.1.14. Esquema de dimerización del compuesto **5**. La figura (a) indica la estructura sin enlace de hidrógeno. Las figuras (b) y (c) indican las estructuras con enlace de hidrógeno intramolecular. La figura (d) indica la estructura del dímero.³⁴

3.1.1.3. Agregación en CCl_4

- **Compuesto 1**



Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 10^{-3} M a 10^{-2} M (Figura 3.1.15). Se ha elegido el intervalo $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$.

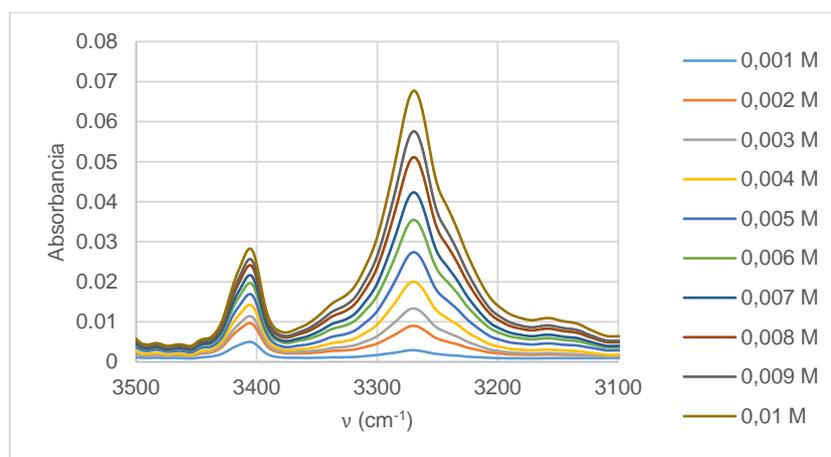


Figura 3.1.15. Espectro IR del compuesto **1** en CCl_4 en el intervalo $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$.

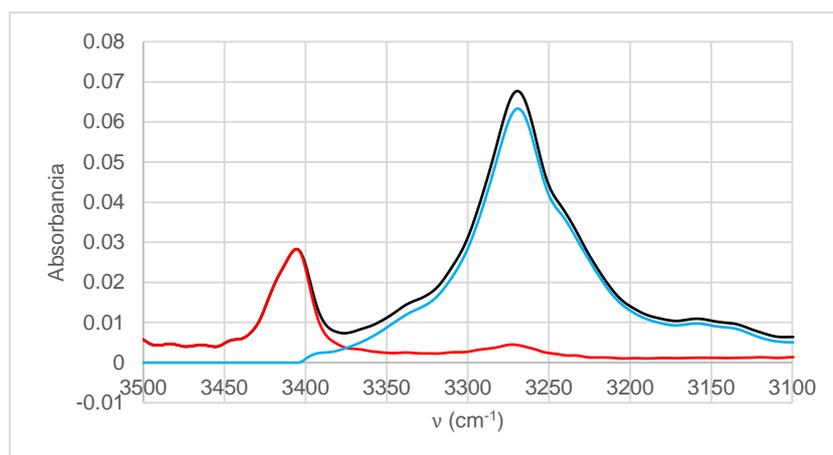


Figura 3.1.16. Deconvolución del espectro IR del compuesto **1** en CCl_4 (0,1 M). En negro se indica el espectro IR del compuesto **1** (0,01 M), en rojo se indica el monómero y en azul el dímero.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.6. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) del compuesto **1** en CCl_4 .

$\nu_{\text{N-H (libre)}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{N-H (agregado)}} (\text{cm}^{-1})$	$\log\beta$	$K_d (M^{-1})$
3406	3269	$1,977 \pm 0,019$	$94,95 \pm 1,05$

El valor de la constante de dimerización (K_d) del compuesto **1** aumenta significativamente en CCl_4 , respecto a la obtenida en CHCl_3 , lo que sugiere que el carácter apolar del disolvente provoca que las interacciones soluto-disolvente decrecen en favor de las interacciones soluto-soluto, por lo que la agregación es mayor.

3.1.2. ϵ -Caprolactama

Se ha realizado el estudio de dimerización de la ϵ -Caprolactama como referencia en el modelo de agregación vía enlace N-H mediante enlace de hidrógeno.

La ϵ -Caprolactama ha sido elaborada por el alumnado de 3^{er} curso del Grado de Química en la asignatura *Experimentación en Química Orgánica (curso 2015-2016)* y proporcionada por el titular de la asignatura, el Dr. Antoni Costa Torres.

El esquema de dimerización para la ϵ -Caprolactama se indica en la siguiente figura:

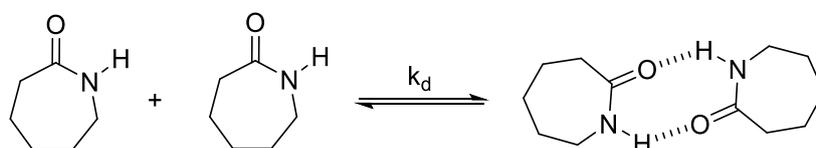


Figura 3.1.17. Esquema de dimerización de la ϵ -Caprolactama.³⁶

El estudio se ha llevado a cabo en CCl_4 como disolvente.³⁶ Se ha realizado el espectro IR de 10 puntos en el intervalo de concentraciones de 0,01 M a 0,1 M (Figura 4.1.18). Se ha elegido el intervalo $3500\text{-}3140 \text{ cm}^{-1}$.

³⁶ C. Josefiak and G. M. Schneider, *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 2126-2128.

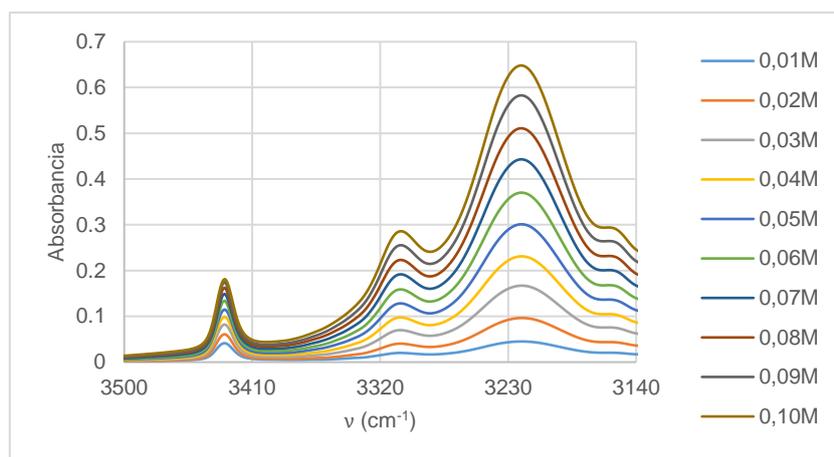


Figura 3.1.18. Espectro IR de la ϵ -Caprolactama en CCl_4 en el intervalo 3535-3135 cm^{-1} .

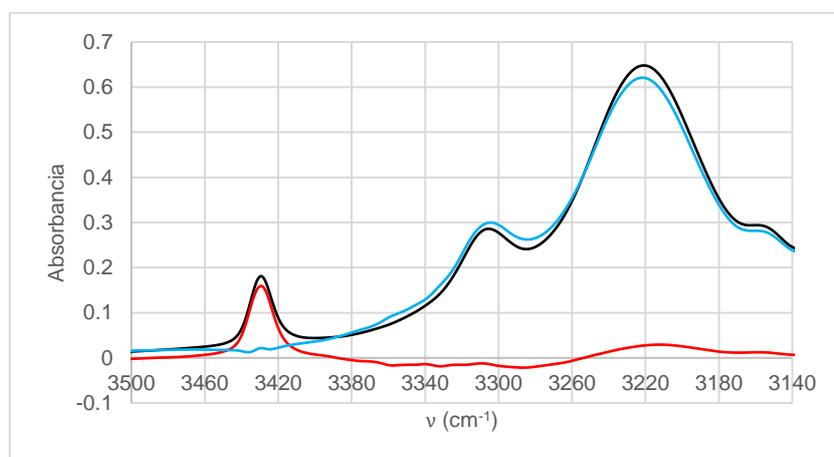


Figura 3.1.19. Deconvolución del espectro IR de la ϵ -Caprolactama en CCl_4 (0,1 M). En negro se indica el espectro IR de la ϵ -Caprolactama (0,1 M), en rojo se indica el monómero y en azul el dímero.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.1.8. Máximos de absorción del enlace N-H (libre y agregado), constante de agregación en unidades logarítmicas ($\log\beta$) y constante de dimerización (K_d) de la ϵ -Caprolactama en CCl_4 .

$\nu_{\text{N-H}}(\text{libre})$ (cm^{-1})	$\nu_{\text{N-H}}(\text{agregado})$ (cm^{-1})	$\log\beta$	K_d (M^{-1})
3429	3221	$1,980 \pm 0,045$	$95,57 \pm 0,11$

En la bibliografía se indica que la constante de dimerización $K_d = 90 \text{ M}^{-1}$ ($P = 1 \text{ atm}$, $T = 293 \text{ K}$)³⁶, valor muy próximo al obtenido, por lo que se puede considerar que los resultados obtenidos y la metodología llevada a cabo, utilizando el modelo de dimerización, correctos.

3.2. Estudio IR de agregación de un hidrogel de base escuaramida

En un proyecto de tesis doctoral del grupo de *Química Supramolecular*, realizado por el Sr. Carlos López Roig, se ha diseñado un hidrogel de base escuaramida (Figura 3.2.1).

Los hidrogeles, son materiales reticulados que absorben grandes cantidades de agua sin disolverse. La capacidad de los hidrogeles de absorber agua proviene de grupos funcionales hidrófilos unidos a la cadena principal del polímero, mientras que su resistencia a la disolución se produce a partir de enlaces cruzados entre cadenas de red. El agua dentro del hidrogel permite la difusión de algunas moléculas de soluto, mientras que el polímero sirve como una matriz para mantener el agua dentro de sí. Otra característica de los hidrogeles es que el gel es

una sola molécula de polímero, es decir, las cadenas de red en el gel están conectadas entre sí para formar una gran molécula a escala macroscópica.³⁷

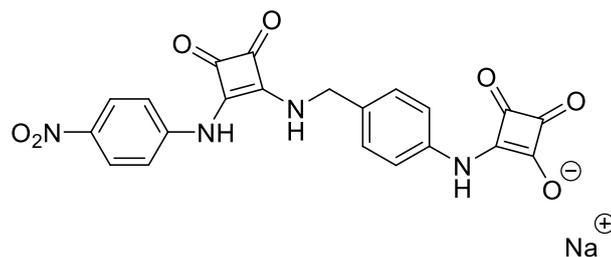


Figura 3.2.1. Estructura del monómero del hidrogel de base escuaramida.

Se realizó un estudio de agregación a partir vía de los grupos carbonilo (C=O) y nitro (NO₂) de la molécula que origina el hidrogel utilizando agua deuterada (D₂O) como disolvente. Para ello, se llevó a cabo un procedimiento publicado en *Nature Protocols* para el estudio IR estructural de proteínas en medio acuoso³⁸, adaptando el rango espectral a 1900-1300 cm⁻¹, ya que acapara las frecuencias de vibración de tensión de los grupos nombrados.

No obstante, el gel se forma a concentraciones del orden de 10⁻⁴ M, por lo que el margen de concentración disponible para realizar el espectro IR es reducido. Además, a concentraciones tan bajas, el ruido de fondo predomina sobre la señal procedente del analito. Alternativamente, se planteó realizar un estudio cualitativo de la agregación, realizando un espectro del hidrogel a baja concentración (0,1% en peso ≈ 4,2 mM) y otro a una concentración diez veces mayor (1% en peso ≈ 42 mM) y evaluar el desplazamiento de las bandas C=O y NO₂ como consecuencia de la agregación.

Los espectros se han realizado con un paso óptico de 39 μm.

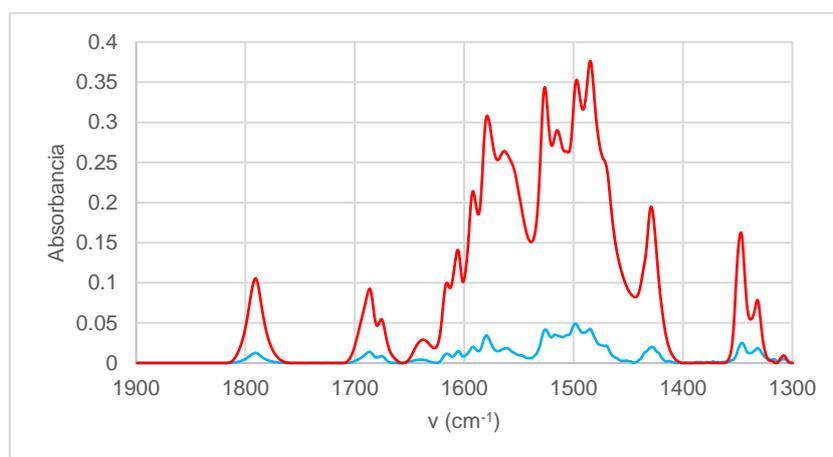


Figura 3.2.2. Espectro IR del hidrogel de base escuaramida en D₂O en el intervalo 1900-1300 cm⁻¹. Se indica en azul el espectro IR del hidrogel 0,1% en peso y en rojo el espectro IR de hidrogel 1% peso.

Los resultados obtenidos se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 3.2.1. Máximos de absorción los grupos C=O y NO₂ del hidrogel en D₂O a concentraciones 0,1% y 1%. Se indica con (A) banda de tensión asimétrica y con (S) banda de tensión simétrica.

Concentración (% peso)	$\nu_{C=O (A)}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{C=O (S_1)}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{C=O (S_2)}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{NO_2 (A_1)}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{NO_2 (A_2)}$ (cm ⁻¹)
0,1%	1791	1687	1676	1346	1332
1%	1791	1686	1675	1346	1332

³⁷ G. Gerlach and K. -F. Arndt, *Hydrogel Sensors and Actuators*, Vol. 6, Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009

³⁸ H. Yang, S. Yang, J. Kong, A. Dog and S. Yu, *Nat. Protoc.* 2015, 10, 382-396.

En el intervalo correspondiente a la vibración de tensión simétrica del grupo C=O ($1715-1660\text{ cm}^{-1}$) se observan dos bandas correspondientes a la tensión simétrica del anillo de escuaramida y del anión escuarámico, respectivamente (Figura 3.2.3a). Se observan pequeñas alteraciones de la intensidad relativa cuando se incrementa la concentración en un orden de magnitud. Esto sugiere que los grupos C=O no intervienen significativamente en la formación del hidrogel. (Figura 3.2.3b y 3.2.3c).

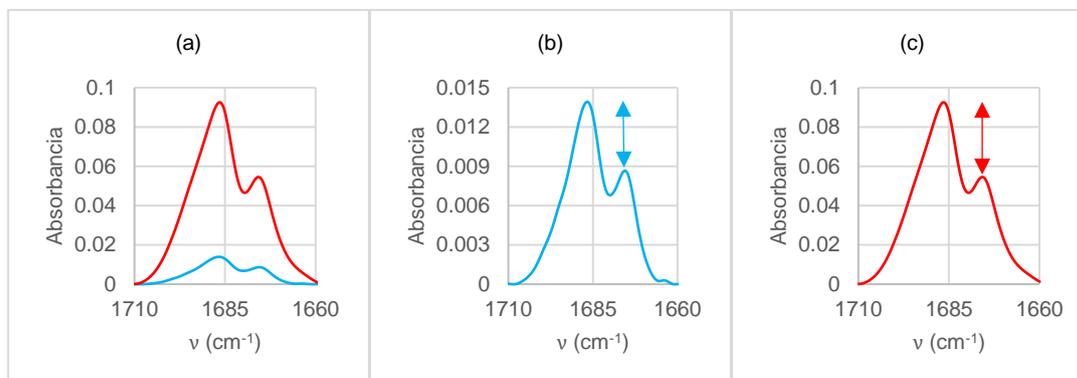


Figura 3.2.3. Espectro IR del hidrogel de base escuaramida en D_2O en el intervalo $1710-1660\text{ cm}^{-1}$, zona donde se encuentra la banda correspondiente a la tensión simétrica del grupo C=O. En la figura (a) se indica la superposición de los espectros IR del hidrogel de concentración 0,1% en peso (azul) y 1% en peso (rojo). En las figuras (b) y (c) se comparan las bandas correspondientes a la tensión simétrica del grupo C=O ($1710-1660\text{ cm}^{-1}$). La magnitud de las flechas indica la diferencia relativa de absorbancias entre las dos bandas.

Por otra parte, la banda de tensión asimétrica del grupo NO_2 ($1370-1300\text{ cm}^{-1}$) aparece desdoblada (Figura 3.2.4) y la intensidad relativa de las dos bandas depende de la concentración que sugiere la participación del grupo nitró en la agregación. Asumiendo que una banda corresponde a grupos nitró más o menos en estado libre y la otra a grupos nitró en agregados, este resultado sugiere que la banda que gana importancia respecto a la otra a medida que se aumenta la concentración total indica que hay una mayor proporción de NO_2 agregado, por lo que la banda de 1347 cm^{-1} correspondería la banda de NO_2 agregado y la de 1332 cm^{-1} , la de NO_2 libre. Los resultados sugieren que en la agregación del hidrogel participan los grupos nitró en mayor proporción que los grupos carbonilo, cuya intensidad relativa apenas se altera.

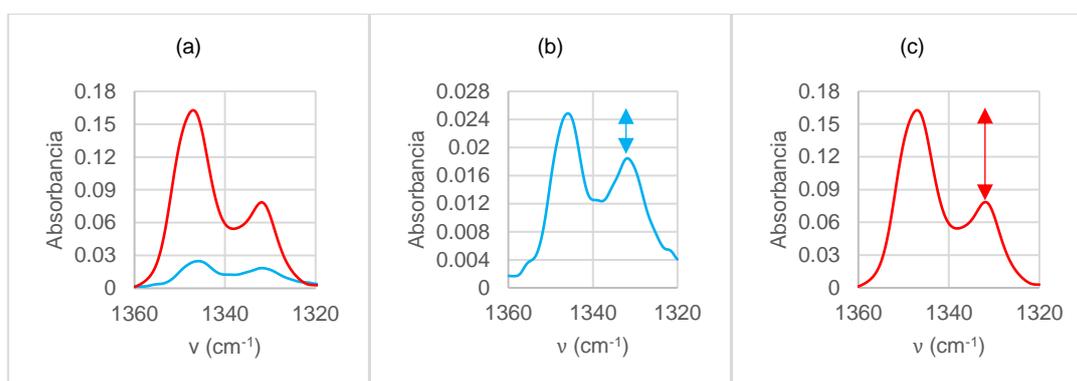


Figura 3.2.4. Espectro IR del hidrogel de base escuaramida en D_2O en el intervalo $1360-1320\text{ cm}^{-1}$, zona donde se encuentra la banda correspondiente a la tensión asimétrica del grupo NO_2 . En la figura (a) se indica la superposición de los espectros IR del hidrogel de concentración 0,1% en peso (azul) y 1% en peso (rojo). En las figuras (b) y (c) se comparan las bandas correspondientes a la tensión asimétrica del grupo NO_2 ($1360-1320\text{ cm}^{-1}$). La magnitud de las flechas indica la diferencia relativa de absorbancias entre las dos bandas.

4. Parte experimental

En este apartado se va a describir el procedimiento que se han llevado a cabo en la parte experimental del trabajo. Para ello, se va a describir el proceso de síntesis de un compuesto de base escuaramida (compuesto **2**) y los pasos seguidos en el estudio de agregación mediante espectroscopía IR.

4.1. Síntesis y caracterización del compuesto **2**

Como se ha comentado anteriormente, las escuaramidas son derivados del ácido escuárico. Si se utiliza ácido escuárico como producto de partida de la síntesis del compuesto **2**, el esquema de síntesis sería el siguiente:

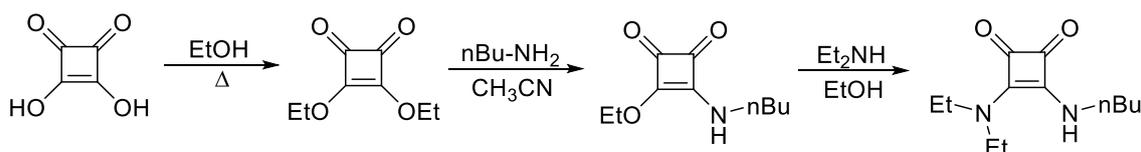


Figura 4.1.1. Esquema de síntesis del compuesto **2** a partir de ácido escuárico.

El ácido escuárico se vende comercialmente, pero es un potencial alérgeno, lo que hace difícil su manipulación. Alternativamente, se opta por utilizar el escuarato de dietilo como producto de partida, ya que además de reducir sus efectos alérgenos, aumenta la reactividad y favorece las posibles sustituciones de los grupos éster por aminas. El escuarato de dietilo se obtiene introduciendo ácido escuárico y etanol en proporciones 1:2 en un matraz de fondo redondo llevando la mezcla a ebullición durante un tiempo moderado hasta eliminar el agua formada en la reacción de esterificación. De esta manera, el esquema de la síntesis realizada es el siguiente:

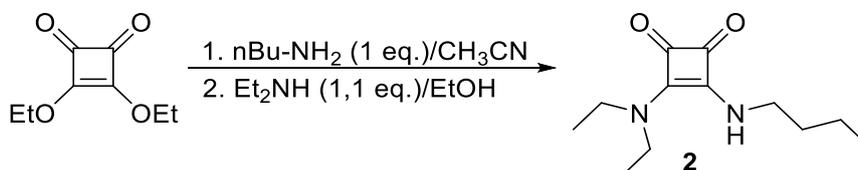


Figura 4.1.2. Esquema de síntesis del compuesto **2** a partir del escuarato de dietilo.

Para realizar la síntesis, se introducen en un matraz de fondo redondo aproximadamente 500 mg de escuarato de dietilo y la cantidad estequiométrica (1 equivalente) de n-Butilamina en 500 μ L de acetonitrilo como medio de reacción, ya que favorece la monosustitución del escuarato (Figura 4.1.3a). Se deja la mezcla de reacción en agitación continua a temperatura ambiente durante 2 horas. A continuación, se introduce un pequeño exceso sobre la cantidad estequiométrica (1,1 equivalentes aproximadamente) de dietilamina junto con 500 μ L de etanol, que aumenta la polaridad del medio de reacción, lo que favorece la segunda sustitución (Figura 4.1.3b). La mezcla de reacción se deja en agitación continua a temperatura ambiente durante 2 horas. Las cantidades de reactivo utilizadas se adjuntan en la siguiente tabla:

Tabla 4.1.1. Cantidad de reactivos utilizada en la síntesis del compuesto **2**.

Reactivo	Peso Molecular (g/mol)	Equivalentes	mg	mol	Densidad (g/mL)	Volumen (μ L)
Escuarato de dietilo	170,16	1	502	$2,95 \cdot 10^{-3}$	-	-
n-Butilamina	73,14	1	216	$2,95 \cdot 10^{-3}$	0,740	290
Dietilamina	73,14	1,1	247	$3,25 \cdot 10^{-3}$	0,707	350

Al término de las dos horas, se decanta el medio de reacción y se limpia el sólido con éter dietílico hasta eliminar los restos del producto intermedio (compuesto **1**, ver figura 4.1.3a) y aminas que no haya reaccionado, realizando una capa fina después de cada limpieza como método de comprobación.

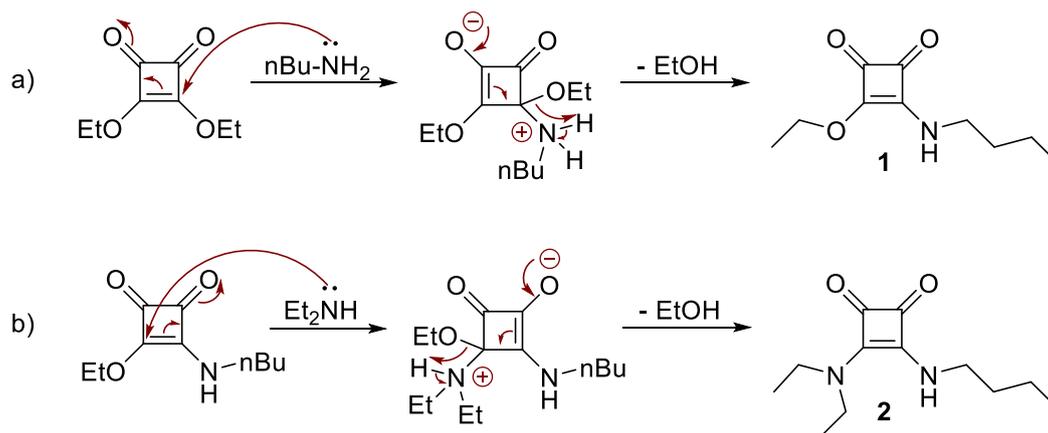


Figura 4.1.3. Mecanismo de reacción de síntesis del compuesto **2** a partir del escuarato de dietilo. Se indica en la figura (a) el mecanismo del primer paso de reacción, donde se obtiene el compuesto **1** como producto intermedio, en la figura (b) se indica el mecanismo del segundo paso de reacción, donde se obtiene el compuesto **2** como producto final.

Una vez purificado el producto, se conecta a un rotavapor para eliminar restos de éter y, a continuación, se seca mediante una bomba de vacío. El rendimiento de la reacción es del 92,6%.

Al obtener el producto seco, se realiza una resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) para caracterizar el producto.

4.2. Preparación de disoluciones

Se prepara una disolución madre, en campana extractora de gases, del compuesto a estudiar de 5 mL de concentración conocida en el disolvente que corresponda (CHCl_3 , CCl_4 , CDCl_3 o D_2O). A partir de la disolución preparada, se realizan una serie de diluciones de 500 μL de concentraciones correlativas en el intervalo entre la concentración de la disolución inicial y la dilución 1:10 de ésta (Tabla 4.2.1).

Tabla 4.2.1. Volumen de disolución madre y disolvente necesarios en cada dilución ($V_{\text{tot}} = 500 \mu\text{L}$).

Disolución	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$V_{\text{disolución madre}}$ (μL)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
$V_{\text{disolvente}}$ (μL)	450	400	350	300	250	200	150	100	50	0

4.3. Realización de espectros de infrarrojo

Los espectros de infrarrojo se realizan en disolución. La muestra se deposita entre dos discos de KBr para disoluciones anhidras y de CaF_2 para disoluciones acuosas, entre las cuales se coloca un separador ($< 1 \text{ mm}$ para disoluciones anhidras y $< 50 \mu\text{m}$ para disoluciones acuosas), que marca el paso óptico.

Los discos se soportan a modo de sándwich en una célula de IR para líquidos que es desmontable ("Liquid Cell Holder") (Figura 4.3.1). La muestra se carga por los orificios frontales de la célula hasta que el espacio entre las dos placas quede lleno. Una vez se carga la muestra, se tapa con unos tapones de teflón para evitar fugas.

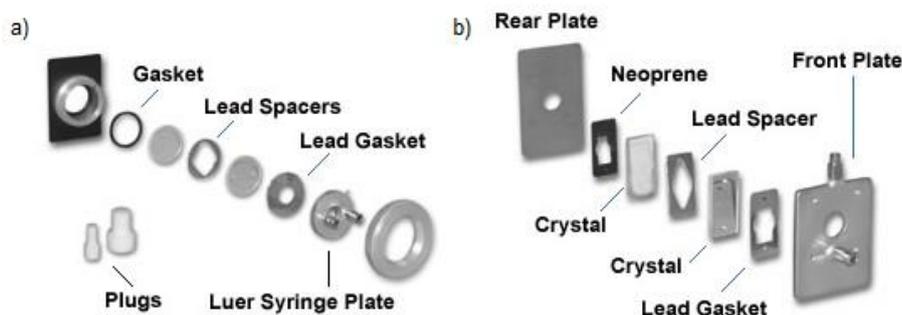


Figura 4.3.1. Montaje tipo sándwich de las placas de KBr o CaF₂ y separador en el "holder". En la figura (a) se indica el sándwich si las placas son redondas, en la figura (b) se indica el sándwich si las placas son rectangulares.³⁹

Una vez preparada la muestra, se introduce en el espectrofotómetro de infrarrojo, se definen las condiciones espectrales: resolución, número de adquisiciones y blanco (Tabla 4.3.1) y se registra el espectro entre 4000-400 cm⁻¹.

Tabla 4.3.1. Condiciones del espectro IR marcadas según el disolvente.

Disolvente	Placas	Separador (μm)	Resolución (cm ⁻¹)	Número de Adquisiciones	Blanco
D ₂ O	CaF ₂	Aluminio (13)	1	64	Disolvente
CHCl ₃ , CCl ₄ , CDCl ₃	KBr	Teflón (200)	4	16	Disolvente

4.4. Manipulación de datos experimentales

Una vez obtenido el espectro, se extraen los datos correspondientes al intervalo de interés según el enlace a estudiar. Para ello, el espectrómetro de IR (ya sea Tensor 27, como Vertex v80/80) incorpora el programa OPUS⁴⁰ como método de manipulación y tratamiento de los datos del espectro. El programa OPUS incorpora una serie de herramientas que permiten corregir el espectro.

Los pasos que se han seguido en la manipulación del espectro se muestran en la siguiente figura:

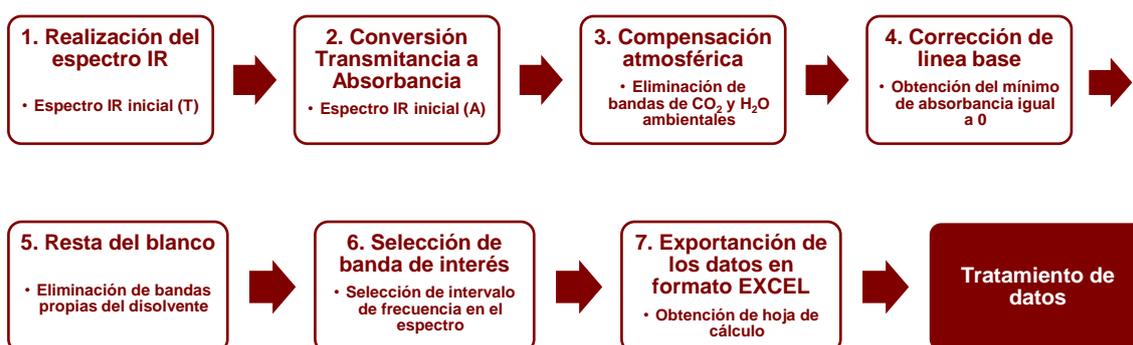


Figura 4.4.1. Esquema del procedimiento seguido en la manipulación del espectro IR.

A modo ilustrativo, el proceso se lleva a cabo de la siguiente forma:

³⁹ Recurso online de la empresa International Crystal Laboratories (ICL): *IR Liquid Cells - Sandwich Cells* [<http://www.internationalcrystal.net/0004.htm>]

⁴⁰ Se utilizó la versión 7.0.

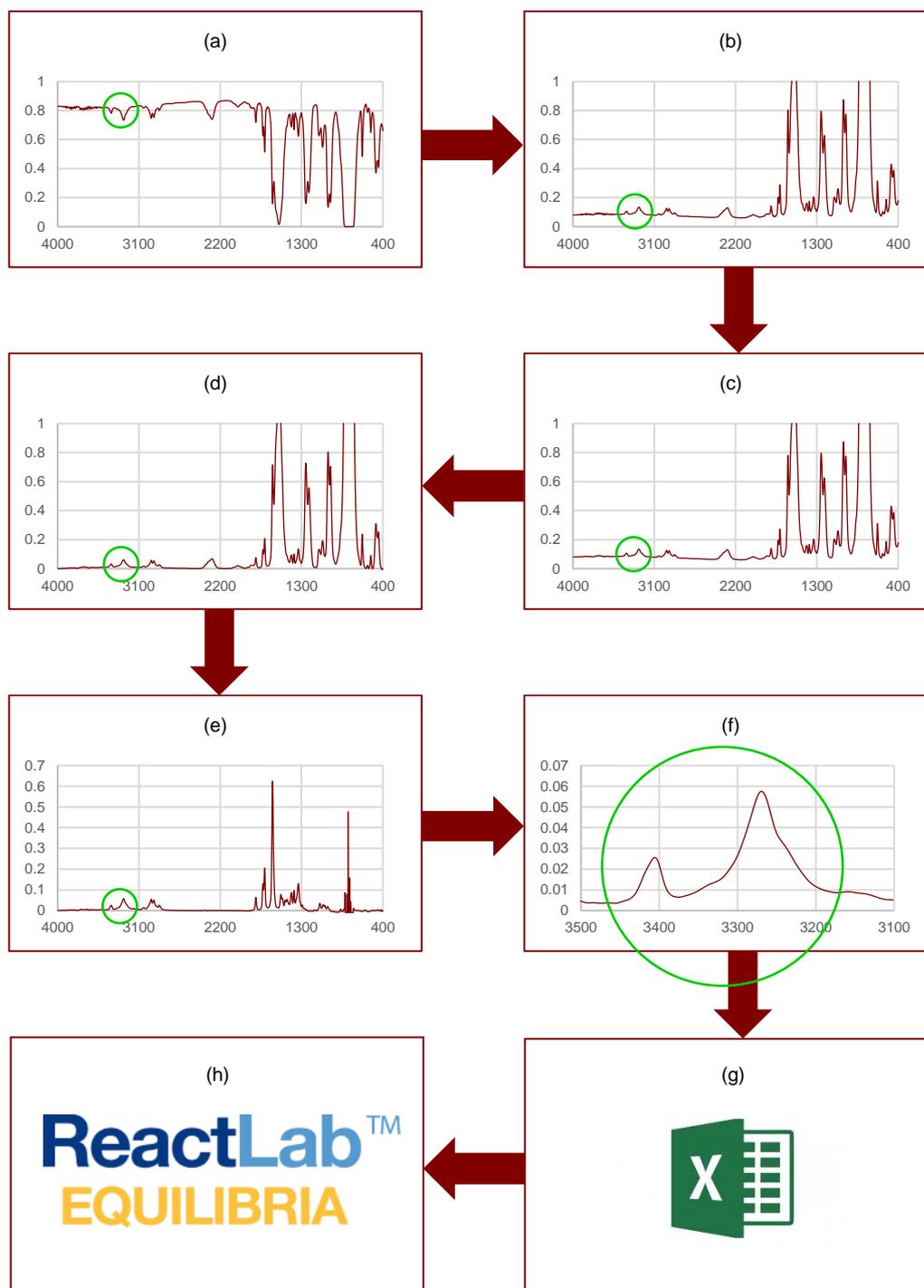


Figura 4.4.2. Esquema ilustrativo del procedimiento realizado en la manipulación del espectro IR del compuesto **1** en CCl_4 . La figura (a) indica el espectro inicial en transmitancia, la figura (b) indica la conversión a absorbancia, la figura (c) indica la compensación atmosférica, la figura (d) indica la corrección de línea base, la figura (e) indica la resta del blanco, la figura (f) indica la selección de la banda de interés, la figura (g) indica la extracción de datos en formato EXCEL, la figura (h) indica el tratamiento de datos mediante el programa ReactLab Equilibria⁴¹. Las flechas indican el transcurso del proceso. El círculo verde permite seguir fácilmente cuál es el área de interés en este ejemplo.

4.5. Constantes de equilibrio de dimerización (K_d)

Los valores de absorbancia extraídos de los espectros IR extraídos a cada concentración en el intervalo correspondiente de frecuencias dependen del grupo funcional de atención. El

⁴¹ Programa de la casa Jplus Consulting Corp. del paquete ReactLab [<http://www.jplusconsulting.com>]

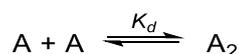
intervalo de frecuencia lo marca el número de onda que presenta la vibración de tensión del enlace donde se produce la agregación. Este estudio se ha centrado en la agregación vía N-H, C=O y NO₂. Las frecuencias de vibración de tensión de dichos enlaces se encuentran en la bibliografía (Tabla 3.3.4), en el caso del enlace N-H se hace referencia a la aparición de una banda da N-H (libre) y N-H (agregado), como consecuencia de la formación de enlaces de hidrógeno.

Tabla 4.5.1. Frecuencia de vibración de tensión de los enlaces donde se ha estudiado la agregación. Se indica con (S) la tensión simétrica y con (A) la tensión asimétrica. Los datos del enlace N-H hacen referencia a aminas secundarias y los de enlace C=O a compuestos dicarbonílicos.^{8,42}

Enlace	ν (cm ⁻¹)
N-H (libre)	3500-3300
N-H (agregado)	3300-3100
C=O	1850-1730 (A) 1715-1660 (S)
NO ₂	1570-1450 (S) 1370-1300 (A)

Los valores de absorbancia se introducen en el programa ReactLab Equilibria⁴¹, que requiere la incorporación de los datos recogidos anteriormente en formato de hoja de cálculo y las condiciones del experimento (paso óptico y concentración de cada espectro). El programa realiza la deconvolución del espectro y cuantifica la proporción de las dos especies presentes, monómero y dímero. Como resultado se obtiene la constante de agregación (β) en unidades logarítmicas ($\log\beta$). Para que se lleve a cabo el ajuste, es necesario introducir el modelo de agregación y si las especies que intervienen presentan una banda de absorción.

En este estudio se ha propuesto el modelo de dimerización, es decir, la agregación de dos monómeros para dar un dímero, el cual sigue el siguiente equilibrio:



En este caso, la constante de agregación (β) equivale a la constante de dimerización (K_d), por tanto, presentará unidades de M⁻¹. Esto se demuestra mediante la definición de la constante de equilibrio químico:

$$K_d = \frac{[A_2]}{[A]^2} = \frac{M}{M^2} = M^{-1}$$

Como resultado se obtiene la constante de dimerización y deconvolución del espectro, donde el programa asigna las bandas del monómero y dímero del enlace de interés.

4.6. Instrumentación y reactivos

4.6.1. Reactivos y disolventes

Ácido escuárico, Etanol (EtOH), n-Butilamina (nBu-NH₂), Dietilamina (Et₂NH), Acetonitrilo (CH₃CN), Éter dietílico (Et₂O), Cloroformo para espectroscopía (CHCl₃ 99%), Deuterocloroformo para espectroscopía (CDCl₃ 99,5%), Tetracloruro de carbono (CCl₄ 99%), Agua deuterada (D₂O 99%).⁴³

4.6.2. Material y equipos

Discos de KBr y CaF₂, se requiere que uno de los dos de cada par esté perforado, "holder" (Liquid Transmission Cell Holder), separador de Teflón (0,2 mm), separador de Aluminio (13 μ m), Espectrofotómetros Bruker FTIR Tensor 27 y Vertex 80/80v.

⁴² G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies, Tables and Charts*, John Wiley & Sons, Ltd, 2001

⁴³ Los reactivos y disolventes utilizados suministrados por Aldrich.

5. Conclusiones

En lo que se refiere a la búsqueda bibliográfica y al trabajo experimental realizado, las conclusiones que se han extraído han sido las siguientes:

- Se ha diseñado y optimizado una metodología que permite determinar la agregación de compuestos de base escuaramida mediante espectroscopía IR, algo previamente no descrito.
- Se han realizado estudios de agregación molecular mediante IR. Las técnicas utilizadas han requerido el aprendizaje y uso intensivo de software de análisis de datos experimentales (OPUS y ReactLab Equilibria)
- Se han utilizado técnicas experimentales e instrumentales que amplían los conocimientos instrumentales adquiridos durante el Grado.

En base a los resultados obtenidos, las conclusiones que se han extraído han sido las siguientes:

- El modelo de agregación se ajusta a un modelo de dimerización simple de tipo $2A = A_2$ en semiésteres escuáricos y alquil escuaramidas que presentan un enlace N-H.
- La constante de equilibrio obtenida (K_d) para el compuesto **1** es equiparable a la publicada por el grupo de Química Supramolecular a partir de otra técnica totalmente distinta ($^1\text{H-RMN}$).
- La constante de equilibrio obtenida (K_d) para el compuesto **1** varía sensiblemente con el disolvente. Su valor es mayor en un disolvente apolar (CCl_4) que en un disolvente polar (CHCl_3), lo que sugiere que las interacciones soluto-disolvente de disolventes apolares son de menor magnitud que en disolventes polares, como consecuencia, las interacciones soluto-soluto se incrementan.
- La metodología de cálculo de las constantes de dimerización se ha contrastado con resultados publicados en compuestos relacionados con escuaramidas, como la ϵ -Caprolactama.
- El espectro IR de los semiésteres de base escuaramida (compuestos **1** y **4**) presentan la banda de N-H libre a una frecuencia más baja, del orden de 3400 cm^{-1} , que las escuaramidas con los dos sustituyentes amínicos, del orden de 3420 cm^{-1} (compuestos **2**, **3** y **5**). Este resultado indicaría un cierto debilitamiento del enlace N-H en los semiésteres comparado con el enlace N-H de escuaramidas.
- El desplazamiento de la banda N-H asociada ($\Delta\nu$) es del orden de 130 cm^{-1} respecto a la frecuencia del N-H libre en los casos estudiados donde se utiliza cloroformo como disolvente. Además, el estudio comparativo realizado con el compuesto **1** en CCl_4 , sugiere que éste se incrementa en disolventes más apolares. En ambos casos el desplazamiento se explica por el debilitamiento del enlace N-H cuando participa en enlaces de hidrógeno.
- El desdoblamiento de la banda de tensión asimétrica del grupo NO_2 en el hidrogel sugiere la participación del grupo nitro en la agregación. Este hecho confirma resultados obtenidos con otras técnicas (Light-Scattering y UV-vis), donde se ha determinado que la agregación en el hidrogel se lleva a cabo mediante la interacción de grupos nitroaromáticos del hidrogel.