



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Esquaramides cícliques: síntesis i estudis d'agregació

Llorenç Rubert Abrines

Grau de Química

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Antonio 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:

Esquaramides, agents d'acoblament, síntesis, agregació, hipocroisme.

Í N D E X

1.	<u>Introducció</u>	<u>4</u>
1.1.	Química supramolecular	4
1.2.	Mecanisme d'agregació	5
1.3.	Hipocromisme	7
1.4.	Molècules objecte d'estudi	8
1.4.1.	Derivats d'àcid esquàric	8
1.4.2.	Síntesi d'esters: agents d'acoblament	9
2.	<u>Objectius</u>	<u>11</u>
3.	<u>Resultats i discussió</u>	<u>12</u>
3.1.	Síntesi de l'esquaramida de partida	12
3.2.	Síntesi de la sèrie alifàtica	14
3.3.	Síntesi de la sèrie aromàtica	15
3.4.	Estudis d'agregació en aigua	18
3.4.1.	Estudis d'agregació de la sèrie alifàtica	18
3.4.2.	Estudis d'agregació de la sèrie aromàtica	19
3.5.	Estudis d'agregació de l'ester de l'àcid trimèsic en una mescla de dissolvents	20
3.6.	Mecanisme d'agregació	22
4.	<u>Conclusió</u>	<u>24</u>
5.	<u>Part experimental</u>	<u>25</u>
5.1.	Informació general	25
5.2.	Preparació de les cicloesquaramides i dels seus derivats	25
5.3.	Estudis d'agregació en aigua de les dues sèries sintetitzades per UV-vis	30
5.4.	Estudis d'agregació de l'ester de l'àcid trimèsic en una mescla de dissolvents	30
6.	<u>Bibliografia</u>	<u>31</u>

1.Introducció:

1.1. Química supramolecular

La química molecular ha creat una ampla gama de molècules, materials y mètodes cada vegada més sofisticats. Partint d'aquesta base sòlida comença la química més enllà de les molècules, la química supramolecular. Aquesta té com a objectiu el desenvolupament de sistemes químics basats en les interaccions no covalents. Dintre de la química supramolecular l'agregació juga un rol molt important. Es basa en el reconeixement de molècules iguals o distintes per a formar una nova espècie. Aquest camp ha estat intensament estudiat els darrers anys per a aconseguir nous materials supramoleculares. La dinàmica de unió de les molècules, definit pel disseny, les fa capaces de autoajustar-se en estructures altament ordenades que poden ser mono-,di- o tridimensionals.¹ Els agregats són de gran importància en molts d'aspectes de la química, però destaquen dintre del camp de la vida. Són de gran importància en la paret de les cèl·lules o el plegament dels àcids nucleics com també en àmbits més negatius com desordres que poden produir malalties com Alzheimer, Parkinson, Huntington, Creutzfeld-Jakob relacionades amb agregacions de proteïnes com els prions, amiloid- β , poliglutamina o α -sinucleïna.² Una altra exemple important és l'agregació en les càpsides virals(Figura 1).

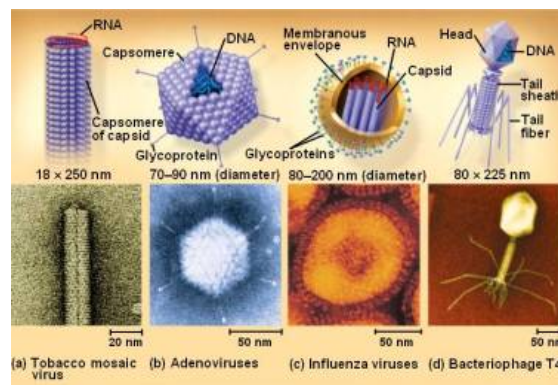


Figura 1: Representacions i imatges de càpsides virals.

1.2. Mecanismes d'agregació

L'agregació supramolecular es basa en la formació de polímers on les forces d'unió entre les unitats són de tipus feble, formant un polímer supramolecular. L'estructura d'aquests està definida per les unitats de que es compon, les interaccions que s'estableixen i el dissolvent en que es forma. L'agregat es pot estendre a les tres dimensions de l'espai. L'agregació lineal, en una dimensió, es la més estudiada i compresa. Les agregacions en les altres dimensions es coneixen però l'estudi és més recent, i per tant menys definit.³

Els mecanismes d'agregació lineal es caracteritzen per la unió dels diversos monòmers en distintes passes subsegüents on, si la comparem amb la primera passa, la seva energia lliure (ΔG) en les següents interaccions pot disminuir (cooperativitat positiva), augmentar (cooperativitat negativa) o es pot mantenir constant (sistemes no cooperatius o isodèmic). El mecanisme que es segueix està estretament relacionat amb el tipus i la fortalesa de les interaccions que es donen així com de la interacció de l'agregat amb el dissolvent. D'aquesta manera el coneixement del mecanisme d'agregació ofereix una informació essencial per a la caracterització de l'agregat.

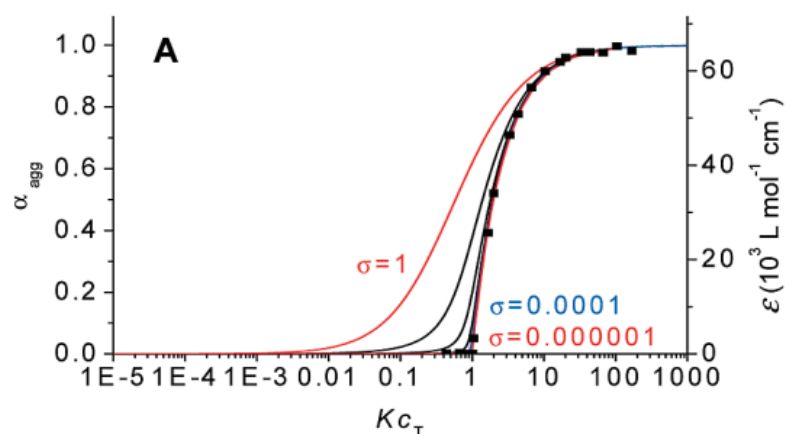
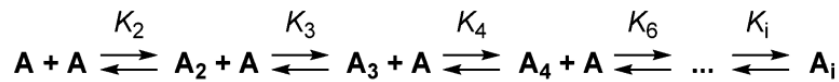


Figura 2: Representació del valor del coeficient d'extinció molar (ϵ) i del grau d'agregació (α) en funció de la concentració normalitzada (Kc_T) segons el tipus de mecanisme d'agregació (σ).¹⁷

A un sistema d'agregació lineal general (Figura 2):



Model de dimerització $K_D = K_2, K_3, K_4 \dots K_i = 0$

Model de agregació eudèsmic $K_E = K_2 = K_3 = K_4 \dots = K_i$

Model d'agregació cooperatiu $K_E = K_2/\sigma = K_3 = K_4 \dots = K_i$

$$\sigma = \frac{K_2}{K_E}$$

$\sigma < 1 = \text{cooperativitat positiva}$

$\sigma = 1 = \text{no cooperativitat (sistema isodèsmic)}$

$\sigma > 1 = \text{cooperativitat negativa}$

Els processos d'agregació cooperatius són de gran importància en química i en biologia, en estructures bàsiques com les parets cel·lulars, en el plegament de proteïnes i en els àcids nucleics entre d'altres. Dintre dels sistemes d'agregats es distingeixen els sistemes intramoleculars i els intermoleculars. En aquest darrer grup es presenten els homogenis, formats per un sol tipus de molècula i els heterogenis, que impliquen la participació d'almenys dos tipus de molècules diferents. En el camp de la biologia destaquen dintre dels homogenis la formació de micel·les (ex. parets cel·lulars), dintre dels heterogenis destaquen els sistemes "host-guest" (ex. sistemes receptor-hormona) i dintre del camp de dels intramoleculars hi ha casos espectaculars com en el procés d'assemblatge de la "self-chaperoning quaternary light-harvesting protein" una proteïna que fa un ambient idoni per el seu plegament (Figura 3).⁴⁵



Figura 3: Representació de la "self-chaperoning quaternary light-harvesting protein".

1.3. Hipocromisme

L'agregació és un fenomen d'interès a nivell fonamental i tecnològic. Entre les diferents tècniques d'estudi de la agregació, els mètodes espectroscòpics d'absorció de radiació electromagnètica són importants degut a que aquestes propietats seran diferents en els agregats que en els monòmers.⁶ En el cas de que les molècules objecte d'estudi tinguin grups cromòfors, l'espectroscòpia d'absorció UV-vis resulta particularment adequada per aquest tipus d'estudi ja que els fenòmens d'agregació es tradueixen en variacions d'intensitat de les bandes d'absorció.

L'hipocromisme és una disminució en el coeficient d'extinció (ϵ) del monòmer en presència d'interaccions intermoleculares. Aquest fenomen s'observa àmpliament en: agregats supramoleculares, microcristalls, polímers, proteïnes, etc. Un exemple conegut és l'hipocromisme que exhibeixen les bases púriques i pirimidíniques en els àcids nucleics en comparació a les mateixes en la seva forma lliure (Figura 4).⁷

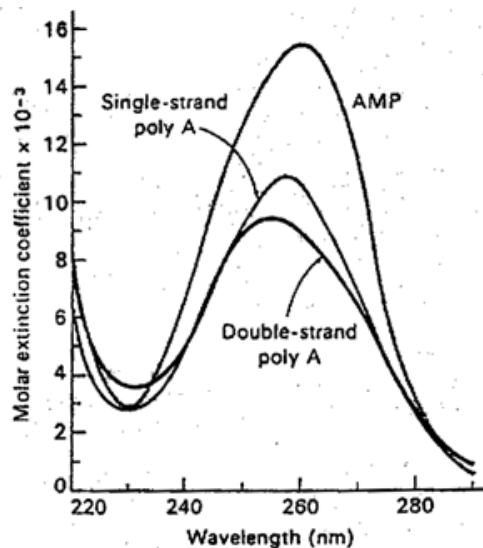


Figura 4: Comparació entre l'absorbància entre cadena de adenina doble, simple i AMP.

La teoria "Screening Hypochromism"⁸ o d'efecte tamís explica aquest fet assumint que en un apilament de cromòfors aquests competeixen pel fotó. Els cromòfors actuen tamisant l'energia del fotó incident per els cromòfors que el seguiran. Aquesta teoria està basada en la probabilitat de que arribi el fotó a cada un dels cromòfors i en la seva

correlació amb l'agregació del compost. La disputa és que en la llei de l'absorció de Lambert-Beer no hi pot tenir cabuda aquesta teoria ja que la fa despreciable davant altres factors. Els que defensen la teoria Screening Hypochromism es basen en que la llei de l'absorció de Lambert-Beer no s'ajusta en els casos de macromolècules o d'agregats degut a les seves premisses, la més important en aquest cas és la correlació de la longitud d'ona i les distàncies moleculars, ja que en la teoria de Lambert-Beer es xerra d'objectes molt més grans que a longitud d'ona i normalment en els agregats de cromòfors o en macromolècules les distàncies són menors que la longitud d'ona de la radiació incident. En aquest cas es pot postular que la probabilitat d'absorció d'un fotó per un cromòfor depèn de la probabilitat de l'absorció per el previ, és més, el Screening Hypochromism es pot veure augmentat degut a interaccions fortes a curtes distàncies.⁹

1.4. Molècules objecte d'estudi

Els èsters d'esquaramides cíclics (Figura 5) són l'objecte de l'estudi d'agregació d'aquesta Memòria. El disseny i síntesi d'aquestes molècules definirà el mecanisme d'agregació així com les estructures supramoleculares resultants.

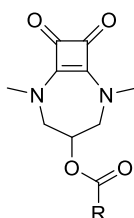
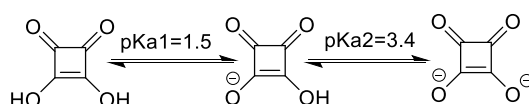


Figura 5: Representació general dels èsters d'esquaramides cíclics objecte d'estudi.

1.4.1. Derivats d'àcid esquàric

L'àcid esquàric, del grup dels àcids oxocarbònics, presenta un cicle de ciclobutè amb dos carbonils i dos hidroxils. L'acidesa que presenten aquests hidroxils ($pK_{a1}=1.5$, $pK_{a2}=3.4$) ve donada per l'estabilització de la càrrega per ressonància del dianió (Figura 3) i per l'augment de la aromaticitat.¹⁰



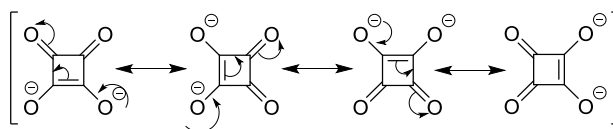


Figura 6: Representació dels equilibris acid-base i de les formes ressonants de l'àcid esquàric.

Els derivats de l'àcid esquàric que presenten la funció de tipus diamida es coneixen com a diesquaramides o esquaramides. Les esquaramides destaquen, per les seves aplicacions i desenvolupament, dintre del món dels derivats de l'àcid esquàric.¹¹ Les esquaramides presenten característiques particulars al presentar grups acceptors i donadors de enllaç de hidrogen. D'altra banda, les esquaramides N,N-disubstituïdes perden la capacitat donadora d'enllaç d'hidrogen (Figura 4).

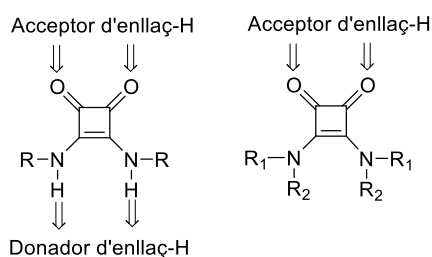
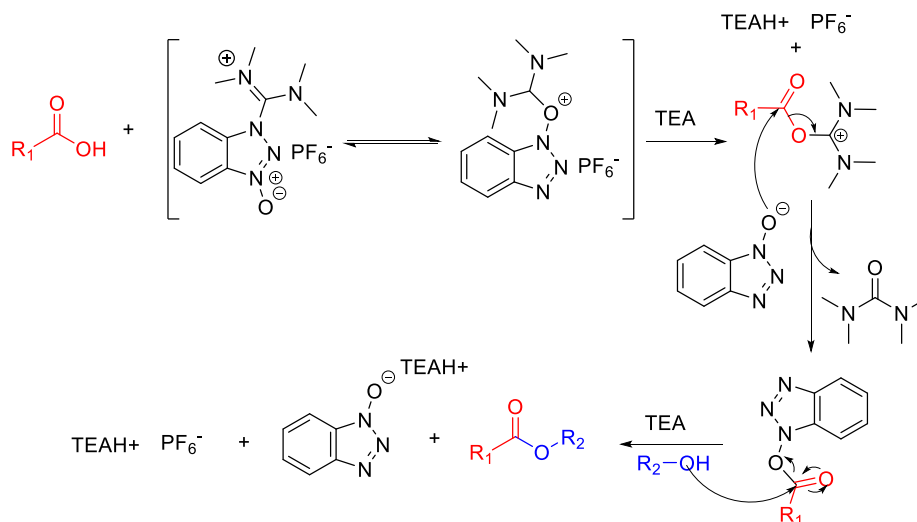


Figura 7: Comparació del caràcter donador-acceptor d'enllaç d'hidrogen entre una esquaramida mono i disubstituïda.

1.4.2. Síntesi d'esters: agents d'acoblament

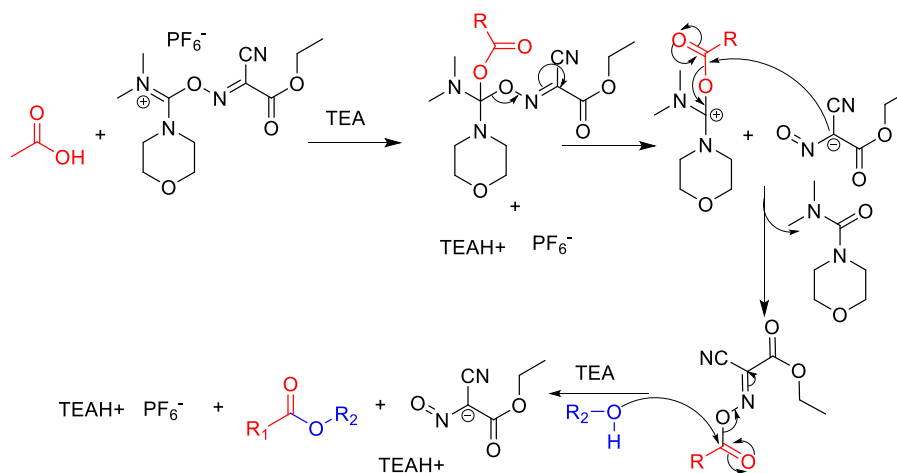
Les molècules d'objecte d'estudi són èsters d'esquaramides cíclics. L'esterificació d'alcohols és una reacció fonamental en el món de la síntesi orgànica. Els esters estan presents a multitud de productes o intermedis químics i farmacèutics. La formació de l'èster requereix la activació de l'àcid, que es pot dur a terme convertint-lo en un grup funcional més actiu com un halur d'àcid, un anhídrid o una acil azida, o es pot dur a terme amb un agent d'acoblament. Els agents d'acoblament activen in situ l'àcid per a que es pugui donar l'esterificació.¹² D'entre la gran diversitat d'agents d'acoblament existent s'utilitzarà l'HBTU (hexafluorofosfat benzotriazol tetrametil uroni) i el COMU ((1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenaminooxi)dimetilamino-morfolino-carbeni hexafluorofosfat). El mecanisme general de l'HBTU es descriu com la captació del protó del àcid carboxílic per la base, trietilamina (TEA) i la posterior reacció del carboxilat amb el grup uròni (HBTU). L'intermedi aciloxi-amini (uròni) reacciona amb el

benzotriazol desprotonat per donar N,N,N'-tetrametilurea i l'èster de benzotriazol que reaccionarà amb l'alcohol per donar l'èster. La darrera reacció necessita un equivalent de base (TEA) per reaccionar amb el protó de l'alcohol (Esquema 1).¹³



Esquema 1: Mecanisme d'esterificació mitjançant l'HBTU.

El mecanisme general del COMU es descriu com la captació del protó de l'àcid carboxílic per la base, trietilamina (TEA), l'addició del carboxilat a la sal d'uroní (COMU). El producte resultant de la descomposició de l'intermedi tetraèdric reacciona pel centre carbonílic amb l'anió que s'allibera. Els productes resultants són un derivat d'urea i l'àcid activat que reaccionarà amb l'alcohol per donar l'èster. La darrera reacció necessita un equivalent de base (TEA) per reaccionar amb el protó de l'alcohol (Esquema 2).¹⁴



Esquema 2: Mecanisme d'esterificació mitjançant el COMU.

2.Objectius

L'objectiu del treball és:

- L'estudi d'agregació mitjançant UV de dos sèries de molècules derivades d'èsters d'esquaramides cícliques.

Per complir aquest objectiu ens plantejem el següent esquema de treball:

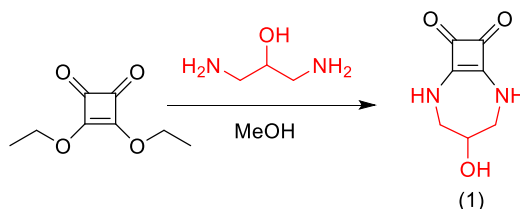
- La síntesi de l'esquaramida cíclica de partida.
- La síntesi d'una sèrie alifàtica de compostos derivats esters d'esquaramida.
- La síntesi d'una sèrie aromàtica de compostos derivats esters d'esquaramida.
- La caracterització per ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, HRMS i IR dels productes sintetitzats.
- L'estudi d'agregació en aigua de les dues sèries sintetitzades per UV-vis.
- L'estudi en una mescla de dissolvents d'un compost de la sèrie aromàtica.

3. Resultats i discussió

3.1. Síntesi de l'esquaramida de partida

La molècula de partida de les sèries tant alifàtica com aromàtica és el mateix alcohol derivat d'esquaramida(2). La síntesis del compost (2) es durà a terme en dues passes:

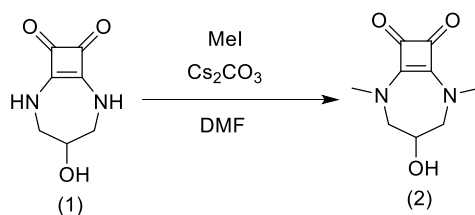
La primera passa és la reacció de l'àcid esquàric amb el 1,2-diaminopropan-2-ol (Esquema 3). Aquesta reacció es va dur a terme en condicions d'elevada dilució per tal d'evitar condensacions intermoleculares. Les condensacions intermoleculares es donen amb la mateixa molècula resultant en un compost cíclic. Les condensacions extramoleculares es donen entre distintes molècules donant una cadena de poliamides.



Esquema 3: Obtenció de l'esquaramida (1).

Mecanísticament, la reacció per a l'obtenció de l'esquaramida (1) consisteix en una reacció d'addició-eliminació dels grups amina sobre la molècula d'esquarat de dietil. S'obté el producte amb un rendiment del 87% com un sòlid de color groc pàl·lid insoluble en dissolvents polars. En el ^1H -RMN (ressonància magnètica nuclear d' ^1H) s'observa el compost (1) i no hi ha presència de subproductes o dels reactius de partida.

La segona passa consisteix en la metilació dels grups amida de l'esquaramida (1). Aquesta reacció es va du a terme amb iodur de metil (IMe) en presència de carbonat de cesi en DMF (dimetilformamida), en el que l'esquaramida (1) és poc soluble (Esquema 4).



Esquema 4: Obtenció de l'esquaramida (2).

Mecanísticament, la reacció és una substitució nucleòfila de tipus S_N2 , amb presència del carbonat de cesi per reaccionar amb l'àcid iodhídric que es produeix. L'esquaramida (2) presenta una elevada solubilitat en aigua en contraposició a l'esquaramida (1). Fet que es pot explicar per l'analogia que presenta amb el sistema adenina/9-metiladenina. La introducció del metil desfavoreix espacialment les interaccions lineals que es poden donar entre els agregats de tipus "stacking" (Figura 5), a més al eliminar el caràcter donador d'enllaç de hidrogen s'elimina la possibilitat de poder formar enllaços d'hidrogen intramoleculars evitant així l'agregació i precipitació d'aquest.

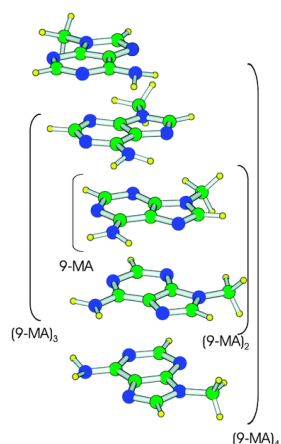


Figura 8: Representació d'un stacking de cinc molècules de 9-metiladenine.¹⁵

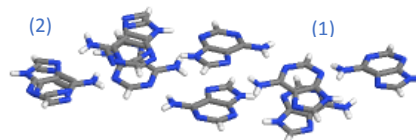


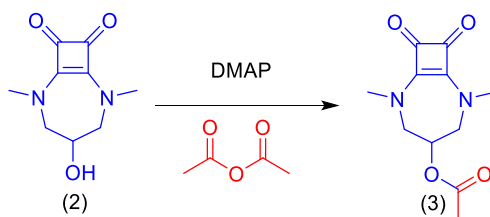
Figura 9: Representació d'una agregació de tipus lineal (1) i de stacking (2) d'adenina.

La gran solubilitat en aigua ens permet recristal·litzar el producte. Els cristalls obtinguts presenten forma d'agregats d'agulles formant macles de color feblement groc. Els cristalls perden l'estructura cristal·lina al deshidratar-se (necessitat d'aigua en la estructura cristal·lina). El rendiment del producte recristal·litzat és del 48%. En el ^1H -RMN s'observa el producte i no hi ha presència de subproductes o de reactius.

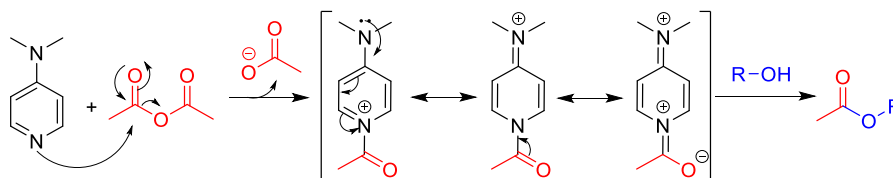
3.2. Síntesi de la sèrie alifàtica

La sèrie alifàtica ha de ser una representació de la importància de la longitud de la cadena de l'èster en l'agregació d'aquest composts. Per a representar la màxima porció de la sèrie s'han escollit els àcids acètic, hexanoic i palmític.

La síntesi de l'èster d'àcid acètic (**3**) s'ha realitzat a partir de la reacció entre l'anhídrid acètic i l'esquaramida (**2**) en presència de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) com a catalitzador nucleofílic (Esquema 5). L'activitat catalítica del DMAP recau en la seva nucleofília, ja que forma un anhídrid mixt que posteriorment reacciona amb el grup hidroxil de l'esquaramida (**2**). L'anhídrid mixt presenta una reactivitat elevada però està estabilitzat per ressonància cosa que accentua la nucleofília del DMAP (Esquema 6).¹⁶



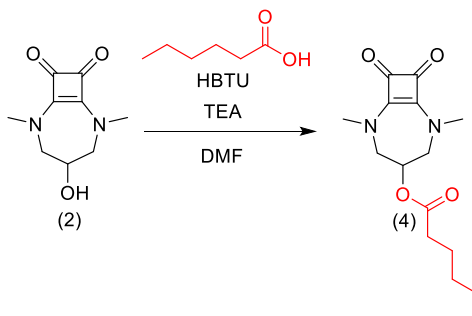
Esquema 5: Obtenció de l'èster d'àcid acètic (3).



Esquema 6: Mecanisme de catàlisi del DMAP i de les formes ressonants que estabilitzen l'intermedi de reacció.

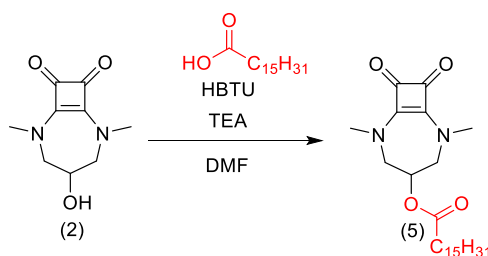
La síntesi de l'èster de l'àcid hexanoic (**4**) s'ha dut a terme en una primera aproximació amb el clorur d'hexanoil, amb resultats pobres, baix rendiment i poca puresa. La poca puresa es manifestava en el color vermellós del cru de reacció i en que el ¹H-RMN presentava dues senyals corresponents al protó alfa del grup hidroxil de l'èster (no es corresponen al protó alfa del grup hidroxil del reactiu (**2**)). Com a alternativa s'ha proposat l'ús d'agents d'acoblament. L'aproximació alternativa, utilitzant d'HBTU com

a agent d'acoblament ha suposat una millora tant del rendiment com també de la puresa del producte, el qual no presentava coloració i el $^1\text{H-RMN}$ era l'esperat (esquema 7).



Esquema 7: Obtenció de l'ester d'àcid hexanòic (4).

La síntesi de l'ester de l'àcid palmític (5) es va dur a terme amb la utilització d'HBTU com a agent d'acoblament (Esquema 8).

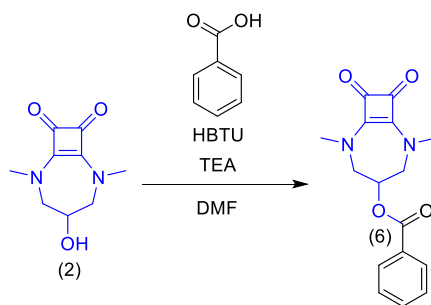


Esquema 8: Obtenció de l'ester d'àcid palmític (5).

3.3. Síntesi de la sèrie aromàtica

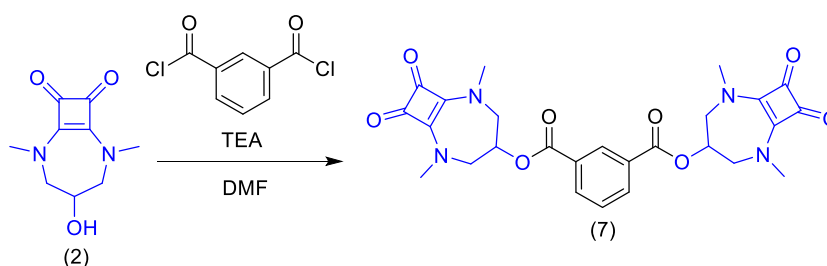
La sèrie aromàtica ha de ser una representació de la importància de la substitució en un anell aromàtic per grups d'esquaramida sobre l'agregació d'aquest compostos. Per representar la sèrie hem escollit els àcids benzoic, isoftàlic i trimèsic.

La síntesi de l'ester de l'àcid benzoic (6) s'ha dut a terme amb la utilització d'HBTU com a agent d'acoblament. El producte obtingut ha presentat una lleugera contaminació segons el CCF (cromatografia de capa fina). El producte s'ha purificat utilitzant la columna flash (SiO_2 , CH_2Cl_2 -MeOH 10%-15% v/v). El rendiment fou del 82% (Esquema 9).



Esquema 9: Obtenció de l'ester d'àcid benzoic (6).

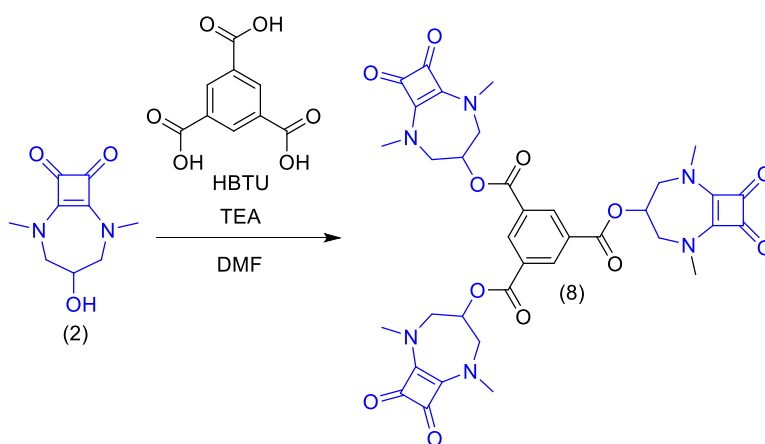
La síntesi de l'ester de l'àcid isoftàlic (**7**) s'ha dut a terme en una primera aproximació utilitzant HBTU com a agent d'acoblament amb resultats pobres. El producte obtingut amb baix rendiment ha presentat una contaminació significativa segons la CCF. S'ha purificat el producte per cromatografia en columna (SiO_2 , CH_2Cl_2 -EtOH 10%-15% v/v), obtenint una quantitat mínima de producte (9 mg). En una segona aproximació s'utilitzà com a agent d'acoblament el COMU amb resultats similars (13mg). En contraposició al plantejament de l'ester de l'àcid hexanoic la tercera aproximació ha estat la utilització del clorur d'isoftaloil amb el qual s'ha obtingut una quantitat de producte suficient, rendiment 11%. Estudiant la solubilitat de l'ester (**7**) s'ha deduït que el procediment de aïllament amb la utilització d'agents d'acoblament no era l'adequat per l'ester de l'àcid isoftàlic (**7**) ja que s'utilitzaven extraccions en dissolvents que (**7**) no era soluble. Es podria modificar aquest procediment utilitzant un dissolvent alternatiu a l'extracció per així utilitzar agents d'acoblament en la síntesi.



Esquema 10: Obtenció de l'ester d'àcid isoftàlic (7).

Mecanísticament, la reacció per a l'obtenció de l'ester (**7**) consisteix en una reacció d'addició-eliminació del grup alcohol sobre els clorurs d'àcid amb despreniment d'àcid clorhídric que és neutralitzat per la trietilamina (Esquema 10).

La síntesi de l'èster del àcid trimèsic (**8**) s'ha dut a terme amb la utilització d'HBTU com a agent d'acoblament. El producte obtingut de coloració vermella intensa presenta contaminació segons la CCF que s'atribueix a la presència de l'àcid mono i di-substituint així com un subproducte acolorit. El cru de reacció s'ha purificat mitjançant una columna cromatogràfica (SiO_2 , CH_2Cl_2 -EtOH 10%), obtenint l'èster (**8**) amorf de color groc pàl·lid. El rendiment aïllat fou del 10%, que es pot justificar amb el procediment d'aïllament no optimitzat per l'èster (**8**) i amb la presència dels àcids mono i di-substituïts (Esquema 11).



Esquema 11: Obtenció de l'èster d'àcid trimèsic (**8**).

3.4. Estudis d'agregació en aigua

L'agregació dels esters sintetitzats definirà les seves propietats i utilitats en el camp de la química supramolecular.

3.4.1. Estudis d'agregació de la sèrie alifàtica

L'estudi d'agregació en aigua dels èsters alifàtics (**3,4 i 5**) per UV-vis ha resultat negatiu en tots els casos. No s'ha detectat una disminució del coeficient d'extinció en cap dels casos. La falta de hipocroïsmes es pot assignar a què l'entorn del cromòfor no es veu afectat, per falta d'agregació o perquè l'agregat es forma fora que s'estableixin interaccions entre els cromòfors. El coeficient d'extinció molar es presenta sobre 38000 l/(mol·cm).

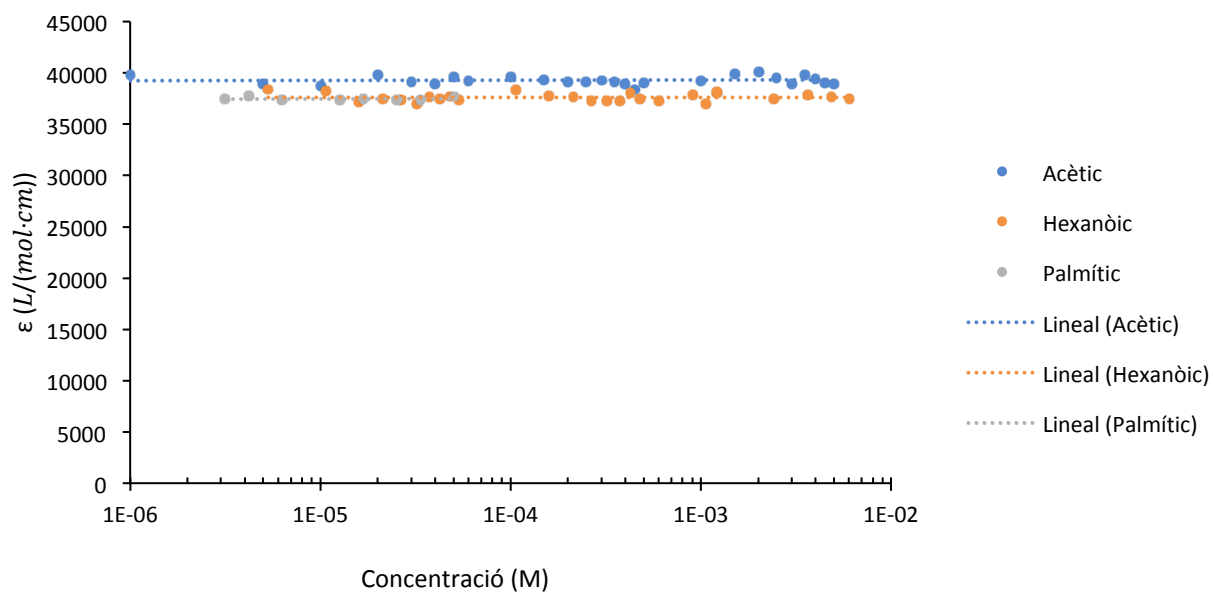


Figura 10: Representació dels coeficients d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis dels èsters dels àcids acètic, hexanoic i palmític (6) en aigua.

3.4.1. Estudi d'agregació de la sèrie aromàtica

L'agregació en aigua dels esters aromàtics **6-8** resulta clarament distintiva, de manera que l'agregació està directament relacionada amb l'estructura de l'ester.

L'ester (**6**) no ha presentat agregació dins l'interval de concentracions en el que és soluble. S'observa una lleugera desviació de la llei de Lambert-Beer però no presenta una significació suficient com per a determinar la presència d'hipocroisme degut a l'agregació.

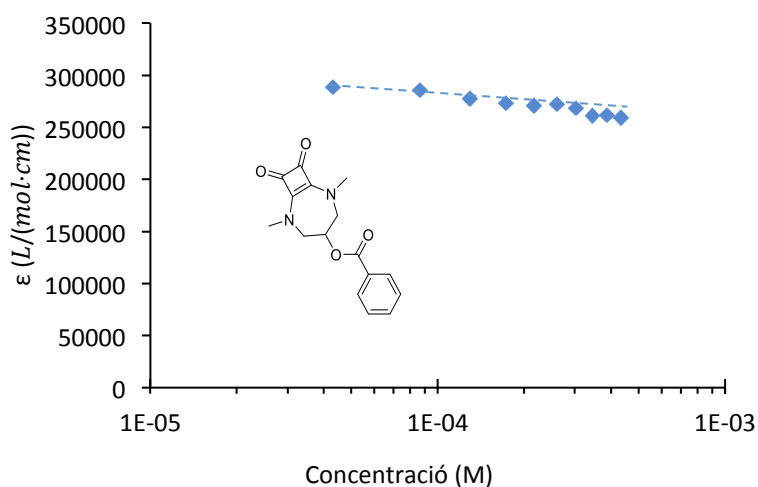


Figura 11: Representació del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis de l'ester de l'àcid benzoic (6) en aigua.

L'ester (**7**) és insoluble en aigua i no permet l'estudi per UV-vis.

L'ester (**8**) a baixa concentració ($<10^{-5}\text{M}$) té un comportament ideal, segueix la llei de Lambert-Beer, però s'agrega clarament a concentracions més elevades fins als límits de la seva solubilitat ($\approx 10^{-4}\text{M}$).

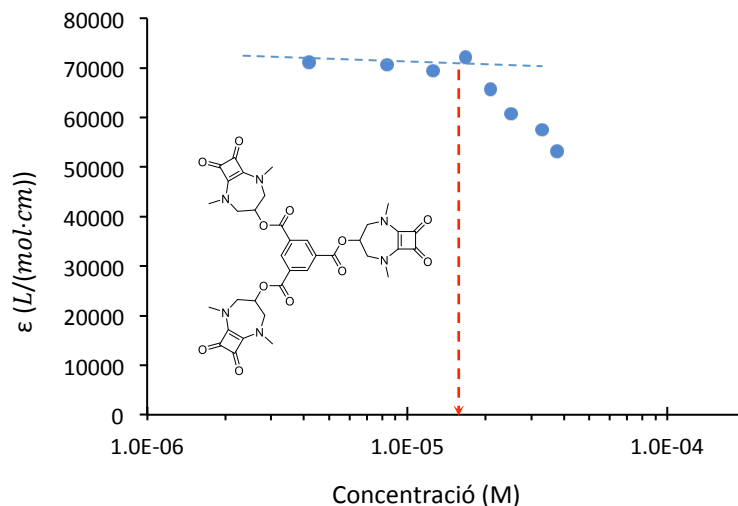


Figura 12: Representació del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis de l'èster de l'àcid trimèsic (**8**) en aigua.

3.5. Estudis d'agregació de l'èster de l'àcid trimèsic en una mescla de dissolvents

La falta de solubilitat en aigua de l'èster de l'àcid trimèsic (**8**) impossibilita l'estudi de l'agregació en aigua a concentracions elevades. Aquesta dificultat es pot atendre utilitzant mescles de dissolvents per a augmentar la solubilitat però mantenint l'agregació. S'ha escollit acetonitril com a dissolvent ja que el compost és soluble en ell i a més és miscible en aigua. Per determinar la proporció adequada de dissolvent/aigua s'ha realitzat un estudi UV-vis de la influència del dissolvent sobre l'agregació. S'utilitzà una concentració a la que precipitava en aigua ($1 \cdot 10^{-4}$).

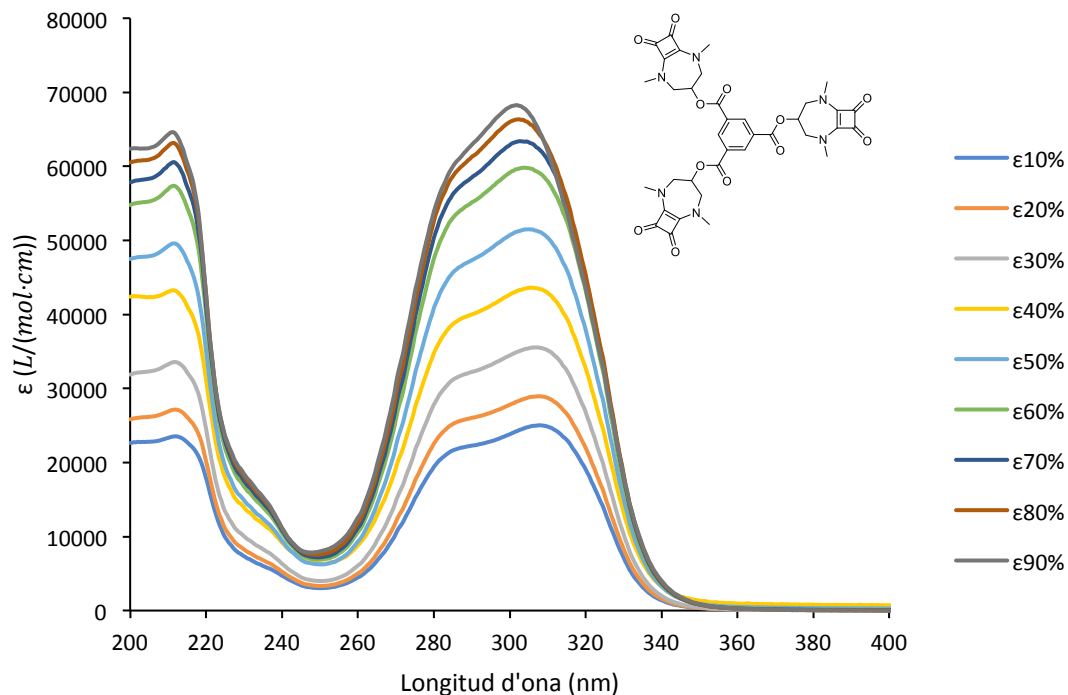


Figura 13: Representació del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la longitud d'ona per a diferents proporcions de acetonitril-aigua determinat per UV-vis de l'ester de l'àcid trimèsic(8).

El comportament idoni és el del 10% d'acetonitril en que es manté l'agregació i la solubilitat del compost. S'ha dut a terme l'estudi d'agregació UV-visible en la mescla 1/9 acetonitril aigua respectivament obtenint una corba d'agregació de l'ester de l'àcid trimèsic (8).

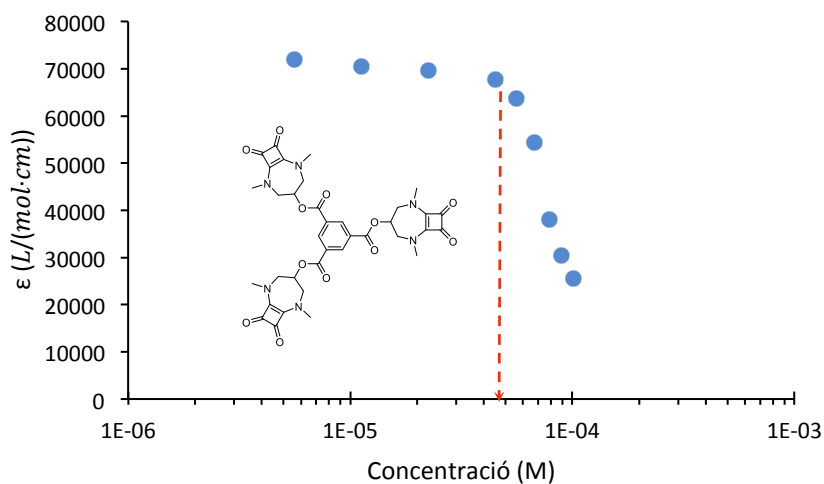


Figura 14: Representació del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis de l'ester de l'àcid trimèsic (8) en una mescla 1:9 respectivament acetonitril-aigua.

3.6. Mecanisme d'agregació

El mecanismes d'agregació que es poden donar dintre del nostre sistema són els mecanismes intermoleculars homogenis isodèsmic, cooperatiu positiu o cooperatiu negatiu. El tipus de mecanisme ens descriurà les propietats de les interaccions que es donen dintre de l'agregat.

Per definir el mecanisme d'agregació farem ús de la següent equació:¹⁷

$$Kc_T = (1 - \sigma)Kc_{mon} + \frac{\sigma Kc_{mon}}{(1 - Kc_{mon})^2} \quad (1)$$

$$\alpha_{agg} = 1 - \frac{Kc_{mon}}{Kc_T} \quad (2)$$

$$\sigma = \frac{K_I}{K_E} \quad (3)$$

La K_I és la constant de iniciació, que defineix la formació del nucli a partir del qual comença la cooperativitat i K_E és la constant d'elongació, que defineix l'unió de noves molècules al nucli prèviament format. K_I i K_E són iguals per un mecanisme isodèsmic.

En una primera aproximació utilitzarem la $\sigma = 1$ per a definir si els valors del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis de l'ester de l'àcid trimèsic (8) en una mescla 1:9 respectivament acetonitril-aigua s'ajustaven a un mecanisme isodèsmic. En aquest cas la corba no s'ajustava a la recta isodèmica ideal donant peu a pensar en un procés cooperatiu.

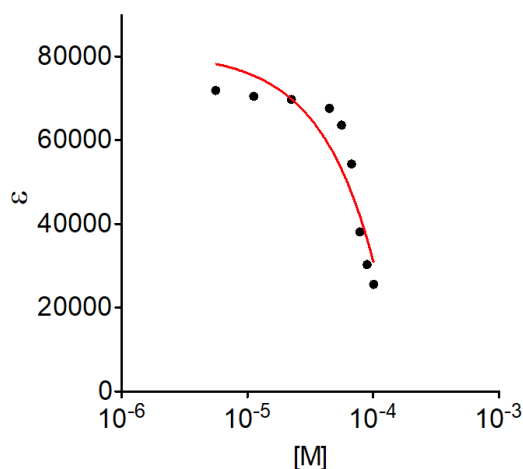


Figura 15: Ajust dels valors experimentals a un mecanisme isodèsmic.

L'ajust dels valors del coeficient d'extinció molar (ϵ) en funció de la concentració determinat per UV-vis de l'èster de l'àcid trimèsic (8) en una mescla 1:9 respectivament acetonitril-aigua al sistema cooperatiu s'ha dut a terme mitjançant l'iteració entre els factors σ i el valor de la constant d'elongació. L'ajust va ser millor que amb el sistema isodèsmic però no es pot concloure que sigui un mecanisme cooperatiu sense estudis addicionals.

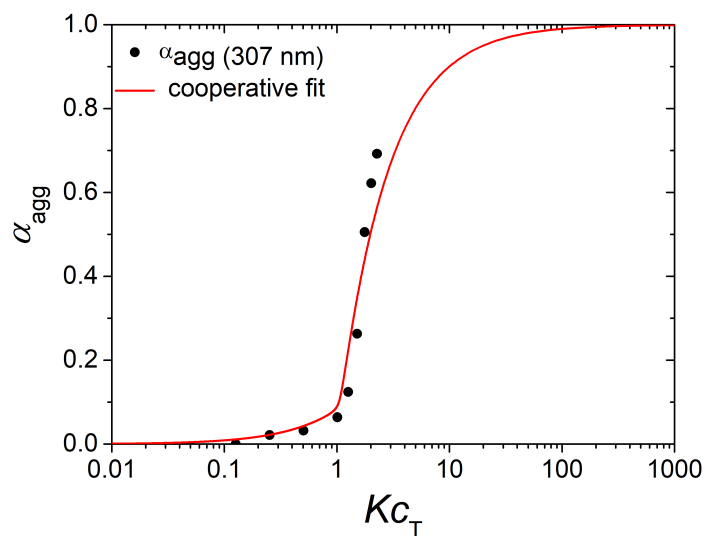


Figura 16: Ajust dels valors experimentals a un sistema cooperatiu positiu.

S'ha obtingut una constant de elongació ($K_E = 22500 M^{-1}$) una constant d'iniciació ($K_i = 1012 M^{-1}$) amb una sigma de cooperativitat de ($\sigma_c = 0.045$). Aquests valors no es poden considerar com a definitius perquè l'ajust no és totalment representatiu del sistema. Per poder-lo definir completament es necessita que l'experiment sigui reproducible així com obtenir tota la corba i comparar amb sistemes no lineals d'agregació per elegir l'ajust més representatiu.

4. Conclusió

1) S'ha sintetitzat una sèrie d'esters derivats d'una cicloesquaramida cíclica a partir d'àcids carboxílics de cadena alifàtica de longitud variable (sèrie alifàtica). Atesa la manca d'antecedents bibliogràfics, tots els nous composts s'han caracteritzat química i espectroscòpicament per ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, HRMS i IR.

2) S'ha sintetitzat una sèrie d'esters derivats d'una cicloesquaramida cíclica a partir d'àcids carboxílics aromàtics (sèrie aromàtica). Atesa la manca d'antecedents bibliogràfics, tots els nous composts s'han caracteritzat química i espectroscòpicament per ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, HRMS i IR.

3) En la majoria dels casos, s'ha constatat la necessitat de utilitzar metodologies de síntesis no convencionals com l'ús d'agents d'acoblament com el HBTU i el COMU, així com l'ús de catalitzadors nucleòfils com ara el DMAP.

4) S'ha determinat que els composts de la sèrie alifàtica en aigua no produeixen efectes hipocròmics sobre l'espectre UV-vis en un interval ampli de concentracions (10^{-6} - 10^{-2} M). Assumint la validesa de la tècnica UV-vis per estudiar l'agregació supramolecular, la manca d'hipocromisme s'ha interpretat com una indicació de manca d'agregació.

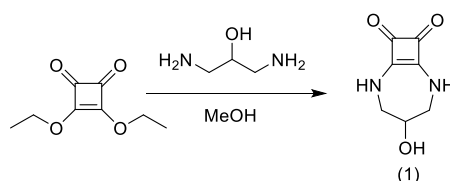
5) A la sèrie aromàtica l'ester derivat de l'àcid trimèsic mostra un efecte hipocròmic clar que resulta evident a partir de concentracions $\approx 10^{-5}$ M en aigua. De l'estudi del sistema en una mescla acetonitril-aigua s'ha pogut determinar que es segueix un mecanisme d'agregació cooperatiu positiu.

5.Part experimental

5.1. Informació general

Tots els reactius s'han adquirit comercialment i s'han utilitzat sense purificació prèvia. Els espectres d'absorció UV-vis s'han enregistrat en un espectrofotòmetre Varian Cary 300Bio. Els espectres de RMN (^1H , ^{13}C) s'han enregistrat en un instrument Bruker AVANCE-300. Els desplaçaments químics (δ) estan expressats en ppm i estan referenciats a la senyal residual del dissolvent. Les columnes de cromatografia flash es varen dur a terme en un instrument CombiFlashNextgen 300+ marca Teledyne ISCO.

5.2. Preparació de les cicloesquaramides i dels seus derivats

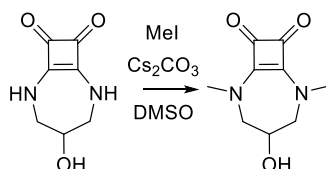


Esquema 12: Obtenció de l'esquaramida (1).

4-hydroxy-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-ene-8,9-dione (1).

Una dissolució d'esquarat de dietil (3.0 g, 17.6 mmol) en metanol (10 mL) i una altra de 1,3-diaminopropan-2-ol (1.6 g, 17.7 mmol) en metanol (10 mL) s'addicionen simultàniament durant una hora mitjançant una bomba Harvard, dins un matràs que conté metanol (120 mL) sota agitació i en atmosfera d'argó. Finalitzada l'addició, la mescla es deixa agitant 16 h més a temperatura ambient. El sòlid resultant es filtra i es renta amb metanol (2 x 25 mL). L'esquaramida (**1**) s'obté com un sòlid amorf de color groc verdós (2.53 g, 87%).

^1H RMN (300 MHz, D_2O , ppm) δ 4,34 (t, $J=4,3$ Hz, 1H); 3,76 (d, $J=6,2$ Hz, 1H); 3,72 (d, $J=6,2$ Hz, 1H); 3,64 (s, 1H); 3,59 (s, 1H). HRMS ESI (-), $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_3\text{N}_2$ [M] teòric: 167,0451; experimental: 167,0457.

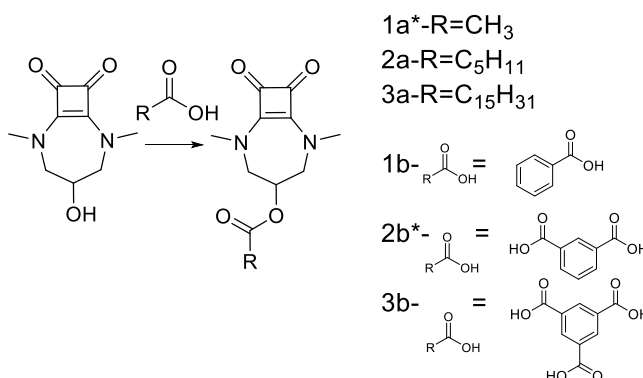


Esquema 13: Obtenció de l'esquaramida (2).

4-hydroxy-2,6-dimethyl-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-ene-8,9-dione (2).

Carbonat de cesi en pols (3.4 g, 10.4 mmol) s'afegeix a una dissolució de l'esquaramida (1) (800 mg, 4.7 mmol) en dimetilformamida (DMF) (10 ml). La suspensió s'agita durant 15 min i s'afegeix iodur de metil (1.2 mL, 19.0 mmol). La suspensió s'agita 2 h i s'afegeix iodur de metil (1.2 ml, 19.0 mmol). Després de l'addició ho deixem 16 h a temperatura ambient. La mescla es filtra i el sòlid resultant es renta amb hexà (3 × 20mL). Finalment l'esquaramida dimetilada (2) es cristal·litza en aigua. El producte s'obté com un sòlid cristal·lí de color groc pàl·lid (0.45 g, 48%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, D_2O , ppm) δ 4,29 (td, $J=1,0$; 3,1 Hz, 1H); 3,73 (s, 1H); 3,69 (s, 1H); 3,54 (d, $J=6,2$ Hz, 1H); 3,49 (d, $J=6,15$ Hz, 1H); 3,38 (s, 6H). **HRMS ESI (-)**, $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2$ [M] teòric: 195,0764; experimental: 195,0772.



*Reaccions que no es varen dur a terme amb agents d'acoblament.

Esquema 14: Resum de les reaccions d'esterificació sobre l'esquaramida (2).

Procediment general per la síntesis d'esters amb HBTU: A un matràs de 5 mL sec, s'introdueixen l'esquaramida (2) (100 mg, 0.5 mmol), l'àcid corresponent (1 eq) i HBTU (2 eq). A continuació i, en atmosfera inert, s'afegeix dimetilformamida (DMF) (1.5 mL) i

trietilamina (3 eq). La mescla s'agita a temperatura ambient durant 16 h. Després d'aquest període, la mescla es tracta amb àcid clorhídric 1N (10 mL) i s'extreu amb diclorometà (3 × 5ml). Els extractes orgànics reunits es renten amb una dissolució saturada de carbonat sòdic (3 × 5mL) i amb una dissolució saturada de clorur sòdic (3 × 5mL). Finalment, el diclorometà s'elimina a pressió reduïda.

4-methoxy-2,6-dimethyl-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-ene-8,9-dione (1a)(3).

A un matràs de 10 mL sec, s'introdueixen l'esquaramida (2) (0.2 g, 1.0 mmol), 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) (0.1 eq). La mescla es manté a 50°C durant 1 h. Després d'aquest període el sòlid resultant es filtra. L'ester (3) s'obté com a sòlid amorf de color blanc (175 mg, 72%).

¹H RMN (300 MHz, CCl₃D, ppm) δ 5,04 (tt, J=2,0; 2,9 Hz, 1H); 3,56 (d, J=5,9 Hz, 1H); 3,51 (d, J=6,0 Hz, 1H); 3,49 (d, J=2,0 Hz, 1H); 3,45 (d, J=2,0 Hz, 1H); 3,41 (s, 6H); 2,11 (s, 3H). HRMS ESI (+), C₁₁H₁₄O₄N₂²³Na [M] teòric: 261,0845; experimental: 261,0842.

2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl hexanoate (2a)(4).

Es segueix el procediment general per la síntesi d'esters amb HBTU. L'ester (3) s'obté com a sòlid amorf blanc (108 mg, 63%).

¹H RMN (300 MHz, D₂O, ppm) δ 5,30 (t, J=5,0 Hz, 0,5H); 5,15 (t, J=4,9 Hz, 0,5H); 3,81 (s, 1H); 3,74 (s, 1H); 3,70 (d, J=5,2 Hz, 1H); 3,64 (d, J=5,6 Hz, 1H); 3,33 (s, 6H); 2,40 (t, J=6,6 Hz, 2H); 1,55 (t, J=6,9 Hz, 2H); 1,22 (s, 3H); 0,82 (t, 2H). HRMS ESI (+), C₁₅H₂₂N₂O₄²³Na [M] teòric: 217,1472; experimental: 217,1470.

2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl hexanoate (2a)(4).

A un matràs de 5 mL sec, s'introdueixen l'esquaramida (2) (100 mg, 0.5 mmol). A continuació i, en atmosfera inert, s'afegeix dimetilformamida (DMF) (1.5 mL), trietilamina (2 eq) i clorur d'hexanoil (0.1 ml, 0.7 mmol). La mescla s'agita a temperatura ambient durant 2 h. Després d'aquest període, la mescla es refreda en un bany d'aigua-gel, es tracta amb àcid clorhídric 1N (10 mL) i s'extreu amb diclorometà (3 × 5ml). Els extractes orgànics reunits es renten amb una dissolució saturada de clorur sòdic (3 × 5mL). Finalment, el diclorometà s'elimina a pressió reduïda. El sòlid

resultant es renta amb hexà (3 × 20mL). L'ester (4) s'obté com un sòlid amorf de color vermell (34 mg, 23%).

¹H RMN (300 MHz, D₂O, ppm) δ 5,30 (t, J=5,0 Hz, 0,5H); 5,15 (t, J=4,9 Hz, 0,5H); 3,80 (s, 1H); 3,75 (s, 1H); 3,69 (d, J=5,3 Hz, 1H); 3,64 (d, J=5,7 Hz, 1H); 3,33 (s, 6H); 2,40 (t, J=6,6 Hz, 2H); 1,55 (t, J=6,9 Hz, 2H); 1,22 (s, 3H); 0,82 (t, 2H).

2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl palmitate (3a)(5).

Es segueix el procediment general per la síntesi d'esters amb HBTU. L'ester (5) s'obté com a sòlid amorf grisenc (192 mg, 87%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, ppm) δ 5,04 (tt, J=1,9; 2,9 Hz, 1H); 3,52 (s, 1H); 3,50 (s, 1H); 3,48 (d, 1H); 3,46 (d, 1H); 3,40 (s, 6H); 2,34 (t, 2H); 1,25 (t, 26H); 0,88 (t, 3H).

2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl benzoate (1b)(6).

Es segueix el procediment general per la síntesi d'esters amb HBTU. El sòlid amorf resultant presenta un color vermell. L'ester (6) es purifica mitjançant columna cromatogràfica flash (SiO₂, CH₂Cl₂-MeOH 10%-15% v/v). L'ester (6) és un sòlid amorf blanc (125 mg, 82%).

¹H RMN (300 MHz, DMSO, ppm) δ 7,89 (dd, J=1.4; 8.5 Hz, 2H); 7,62(d, J=7.4 Hz, 1H); 7,47 (t, J=7,6 Hz, 2H); 5,34 (t, J=6.0, 1H); 3,70 (d, J=6.0 Hz, 1H); 3,65 (d, J=6.0 Hz, 1H); 3,62 (d, J=1.7 Hz, 1H); 3,58 (d, J=1.7 Hz, 1H); 3,43 (s, 6H). HRMS ESI (+), C₁₆H₁₆O₄N₂²³Na [M] teòric: 323,1002; experimental: 323,1003.

bis(2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl) isophthalate (2b)(7).

A un matràs de 5 mL sec, s'introdueixen l'esquaramida (**2**) (100 mg, 0.5 mmol). A continuació i, en atmosfera inert, s'afegeix dimetilformamida (DMF) (0.5 mL), trietilamina (2 eq) i clorur d'isofthaloil (2 eq). La mescla s'agita a temperatura ambient durant 2 h. Després d'aquest període, la mescla es refreda en un bany d'aigua-gel, es tracta amb àcid clorhídric 1N (10 mL) i s'extreu amb diclorometà (3 × 5ml). Els extractes orgànics units es renten amb una dissolució saturada de clorur sòdic (3 × 5mL). Finalment, el diclorometà s'elimina a pressió reduïda. El sòlid resultant es renta

amb hexà (3 × 20mL) i amb diclorometà (2 × 10ml). L'ester (4) s'obté com un sòlid amorf de color blanc (28 mg, 11%).

¹H RMN (300 MHz, DMSO, ppm) δ 8,39 (s, 1H); 8,15 (d, J=7,7 Hz, 2H); 7,76 (t, J=7,7 Hz, 1H); 5,38 (t, J=6,04 Hz, 2H); 3,72 (s, 2H); 3,68 (s, 2H); 3,64 (d, J=6,1 Hz, 2H); 3,60 (d, J=6,1 Hz, 2H); 3,56 (s, 12H). HRMS ESI (+), C₂₆H₂₆O₈N₄²³Na [M] teòric: 545,1642; experimental: 545,1646.

tris(2,6-dimethyl-8,9-dioxo-2,6-diazabicyclo[5.2.0]non-1(7)-en-4-yl) benzene-1,3,5-tricarboxylate (3b)(8).

A un matràs de 5 mL sec, s'introdueixen l'esquaramida (2) (100 mg, 0.5 mmol), l'àcid corresponent (1/3 eq) i HBTU (2 eq). A continuació i, en atmosfera inert, s'afegeix dimetilformamida (DMF) (1.5 mL) i trietilamina (3 eq). La mescla s'agita a temperatura ambient durant 16 h. Després d'aquest període, la mescla es tracta amb àcid clorhídric 1N (10 mL) i s'extreu amb diclorometà (3 × 5ml). Els extractes orgànics reunits es renten amb una dissolució saturada de carbonat sòdic (3 × 5mL) i amb una dissolució saturada de clorur sòdic (3 × 5mL). Finalment, el diclorometà s'elimina a pressió reduïda. L'ester (8) es purifica mitjançant columna cromatogràfica (SiO₂, CH₂Cl₂-EtOH 10%). L'ester (8) s'obté com a sòlid amorf de color groc pàl·lid(40 mg, 10%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, ppm) δ 8,69 (s, 3H); 5,34 (t, J=6,2 Hz, 3H); 3,78 (d, J=7,3 Hz, 3H); 3,73 (d, J=7,41 Hz, 3H); 3,62 (s, 3H); 3,57 (s, 3H); 3,46 (s, 18H). HRMS ESI (+), C₃₆H₃₆O₁₂N₆²³Na [M] teòric: 767,2286; experimental: 767,2280.

5.3 Estudis d'agregació en aigua de les dues sèries sintetitzades per UV-vis

L'estudi d'agregació per UV-vis s'ha dut a terme a diferents concentracions. En primer lloc, es preparà per a cada un dels productes una dissolució concentrada en aigua. A continuació es preparen una bateria de dissolucions de concentració augmentant fins a la concentració de la dissolució mare. Les dissolucions preparades es deixen reposar un mínim de 24h perquè es pugui donar l'agregació. S'enregistra l'espectre de UV-vis entre (450-200nm) de totes les dissolucions preparades. Les representacions del coeficient d'extinció molar enfront a la concentració s'han obtingut calculant el coeficient d'extinció molar mitjançant la llei de Lambert-Beer a la longitud d'ona que presenta coeficient major.

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (4)$$

5.4 Estudis d'agregació del ester de l'àcid trimèsic en una mescla de dissolvents

L'estudi de l'efecte de la proporció dissolvent/aigua s'ha dut a terme a una concentració de ($1 \cdot 10^{-4}M$). En primer lloc es prepara una dissolució ($1 \cdot 10^{-3}M$) en acetonitril. La dissolució preparada es dilueix en acetonitril i aigua amb les proporcions que sa indiquen a continuació:

Taula 1: Volums d'acetonitril i de aigua per a fer els percentatges donats a un volum de 3ml.

Aigua	Acetonitril	Dio. Acetonitril	Percentatge
2.7	0	0.3	10%
2.4	0.3	0.3	20%
2.1	0.6	0.3	30%
1.8	0.9	0.3	40%
1.5	1.2	0.3	50%
1.2	1.5	0.3	60%
0.9	1.8	0.3	70%
0.6	2.1	0.3	80%
0.3	2.4	0.3	90%

Els espectres UV-vis s'han otingut representant el coeficient d'absorció molar ($\frac{L}{mol \cdot cm}$) enfront a la longitud d'ona (nm). El coeficient d'absorció molar s'ha calculat segons la llei de Lambert-Beer.

L'estudi d'agregació per UV-vis s'ha dut a terme a diferents concentracions. En primer lloc, es preparà una dissolució de l'ester (**8**) ($1 \cdot 10^{-3} M$) en acetonitril. A continuació es preparen una bateria de dissolucions de concentració augmentant fins a la concentració ($1 \cdot 10^{-4} M$). Les dissolucions preparades es deixen reposar un mínim de 24h perquè es pugui donar l'agregació. S'enregistra l'espectre de UV-vis entre (450-200nm) de totes les dissolucions preparades. Les representacions del coeficient d'extinció molar enfront a la concentració s'han obtingut calculant el coeficient d'extinció molar mitjançant la llei de Lambert-Beer a la longitud d'ona que presenta coeficient major.

6. Bibliografia

- (1) Liu, H.; Zhang, Z.; Zhao, Y.; Zhou, Y.; Xue, B.; Han, Y.; Wang, Y.; Mu, X.; Zang, S.; Zhou, X.; Li, Z. A Water-Soluble Two-Dimensional Supramolecular Organic Framework with Aggregation-Induced Emission for DNA Affinity and Live-Cell Imaging. *Journal of Materials Chemistry B* **2019**, 7(9), 1435–1441.
- (2) Morris, A. M.; Watzky, M. A.; Finke, R. G. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **2009**, 1794.
- (3) Wuerthner, F.; Kaiser, T. E.; Saha-Moeller, C. R. J-Aggregates: From Serendipitous Discovery to Supramolecular Engineering of Functional Dye Materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 3376 – 3410.
- (4), 375–397. 3) Krbek, L. K. S. V.; Schalley, C. A.; Thordarson, P. Assessing Cooperativity in Supramolecular Systems. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46(9), 2622–2637.
- (5) Laos, A. J.; Dean, J. C.; Toa, Z. S. D.; Wilk, K. E.; Scholes, G. D.; Curmi, P. M. G.; Thordarson, P. Cooperative Subunit Refolding of a Light-Harvesting Protein through a Self-Chaperone Mechanism. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56(29), 8384–8388.
- (6) Chithra, P.; Varghese, R.; Divya, K. P.; Ajayaghosh, A. Solvent-Induced Aggregation and Cation-Controlled Self-Assembly of Tripodal Squaraine Dyes: Optical, Chiroptical and Morphological Properties. *Chem. Asian J.* **2008**, 3(8-9), 1365–1373.

- (7) Devoe, H. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1969**, *158*(1 Electronic As), 298–307.
- (8) Vekshin, N. L. *Photonics of Biopolymers* **2002**, 18–35.
- (9) *Optics and spectroscopy* **1987**, *60*, 517-19
- (10) Estarellas, C.; Rotger, M. C.; Capó Magdalena; Quiñonero David; Frontera, A.; Costa, A.; Deyà Pere M. Anion- π Interactions in Four-Membered Rings. *Org. Lett.* **2009**, *11*(9), 1987–1990.
- (11) Ian Storer, R.; Aciro, C.; H. Jones, L.; Squaramides: physical properties, synthesis and applications. *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 2330-2346.
- (12) Larock, R. C. *Comprehensive Organic Transformations*, 2nd ed., John Wiley, New York, 1999.
- (13) Shelkov, R.; Nahmany, M.; Melman, A. Acylation through Ketene Intermediates. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*(25), 8975–8982.
- (14) Twibanire, J.-D. A. K.; Grindley, T. B. Efficient and Controllably Selective Preparation of Esters Using Uronium-Based Coupling Agents. *Organic Letters* **2011**, *13*(12), 2988–2991.
- (15) Improta, R. The Excited States of π -Stacked 9-Methyladenine Oligomers: a TD-DFT Study in Aqueous Solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*(19), 2656.
- (16) Höfle, G.; Steglich, W.; Vorbrüggen, H. 4-Dialkylaminopyridines as Highly Active Acylation Catalysts. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*(8), 569–583.
- (17) Kaiser, T. E.; Stepanenko, V.; Würthner Frank. Fluorescent J-Aggregates of Core-Substituted Perylene Bisimides: Studies on Structure–Property Relationship, Nucleation–Elongation Mechanism, and Sergeants-and-Soldiers Principle. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*(19), 6719-6732.